

Lara Maria Alencar Ramos



**Carcinoma de ducto salivar:
Comportamento biológico e expressão de
metalotioneína em 33 casos do
Instituto Nacional de Câncer**

Uberlândia, 2010

Lara Maria Alencar Ramos



**Carcinoma de ducto salivar:
Comportamento biológico e expressão de
metalotioneína em 33 casos do
Instituto Nacional de Câncer**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Odontologia: Área de Concentração em Clínica Odontológica Integrada.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Vitorino Cardoso

Co-Orientador: Prof. Dr. Adriano Mota Loyola

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Sérgio Vitorino Cardoso

Prof^a. Dr^a. Maria Cássia Ferreira de Aguiar

Prof. Dr. Adriano Mota Loyola

Uberlândia, 2010

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

- R175c Ramos, Lara Maria Alencar, 1985-
Carcinoma de ducto salivar [manuscrito] : comportamento biológico e expressão de metalotioneína em 33 casos do Instituto Nacional do Câncer / Lara Maria Alencar Ramos. 2010.
95 f. : il.
- Orientador: Sérgio Vitorino Cardoso.
Co-orientador: Adriano Mota Loyola.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Odontologia.
Inclui bibliografia.
1. Glândulas salivares - Câncer - Teses. I. Cardoso, Sérgio Vitorino. II. Loyola, Adriano Mota. III. Universidade Federal de Uberlândia Programa de Pós-Graduação em Odontologia. IV. Título.

CDU: 616.316 - 006.6

 **UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

RELATÓRIO DA COMISSÃO JULGADORA DA DEFESA DE MESTRADO DE LARA MARIA ALENCAR RAMOS DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA.

Às quatorze horas do dia vinte e seis de fevereiro do ano de dois mil e dez, reuniu-se a Comissão Julgadora indicada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia/UFU, para o julgamento da Dissertação de Mestrado apresentada pela candidata Lara Maria Alencar Ramos com o título: *Carcinomas de ducto salivar: experiência recente do Instituto Nacional do Câncer com 33 casos*. O julgamento do trabalho foi realizado em sessão pública compreendendo a exposição, seguida de arguição pelos examinadores. Encerrada a arguição cada examinador, em sessão secreta, exarou o seu parecer. A Comissão Julgadora, após análise do Trabalho, verificou que o mesmo encontra-se em condições de ser incorporado ao banco de Dissertações e Teses da Biblioteca desta Universidade. Acompanham este relatório os pareceres individuais dos membros da Comissão Julgadora.

Uberlândia 26 de fevereiro de 2010



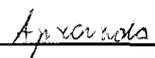
Prof. Dr. Sérgio Vitorino Cardoso
Universidade Federal de Uberlândia – UFU



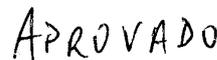
Prof. Dr. Adriano Mota Loyola
Universidade Federal de Uberlândia – UFU



Prof. Dra. Maria Cássia Ferreira de Aguiar
Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG



Aprovado/Reprovado



Aprovado/Reprovado



Aprovado/Reprovado

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Sérgio Vitorino Cardoso, que soube guiar as diretrizes desse trabalho com grande seriedade, conhecimento e competência que lhe são característicos. Mas acima de tudo agradeço pela amizade, pelos conselhos, pelo grande apoio em todos os momentos, e principalmente pela paciência.

Ao Prof. Dr. Adriano Mota Loyola, pela oportunidade de aprender algo de diferencial, dentro das competências do profissional em Odontologia nos dias atuais. Agradeço também, pelos conselhos pessoais, profissionais e pela disposição em sempre ajudar no desenvolvimento deste trabalho.

À Dra. Ana Lúcia A. Eisenberg e Dra. Marilena, médicas patologistas da Divisão de Patologia do Instituto Nacional do Câncer, e ao médico Dr. Fernando Luiz Dias, cirurgião de cabeça e pescoço, pela disponibilidade de ajudar em etapas cruciais desse trabalho, e pelo incentivo na execução do mesmo.

Aos professores Dr. Alceu Luiz Camargo Villela Berbert, Profa. Dra. Tânia Machado de Alcântara e Profa. Dra. Karen Renata Nakamura Hiraki, pelas considerações importantes na finalização do trabalho.

Às instituições financiadoras desta pesquisa, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Universidade Federal de Uberlândia (UFU).

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Primeiramente a Deus pela oportunidade do aprendizado, pela saúde, e pela felicidade proporcionada mediante o relacionamento com pessoas excepcionais colocadas em minha vida.

À minha família, representada por meus pais, Ana e Adelson, que contribuíram em tudo que sou hoje, agradeço todos os dias por todo apoio que sempre me deram, e por serem os pais mais amáveis e dedicados. Ao meu irmão Eduardo, meu maninho carinhoso e saudoso.

Ao meu namorado Rafael por todo carinho, incentivo, dedicação e apoio nesse período. Agradeço pela paciência nos momentos de angústia, estando sempre ao meu lado, e por me fazer sentir segurança e confiança no sucesso dos próximos passos a serem tomados. Mas acima de tudo obrigada pelo amor com que faz tudo isso.

Ao pessoal do laboratório, Adalci, sempre tão gentil e disposto, à Ângela, por seu sorriso aberto em todos os momentos, por seu maravilhoso trabalho com a confecção do nosso material de pesquisa.

A Débora, quem me ensinou princípios básicos laboratoriais da minha pesquisa, e que hoje considero minha amiga, obrigada pelo carinho, pelos momentos de descontração e pelas dicas pertinentes.

À minha companheira de todo esse curso, Marília, que sofreu junto comigo em momentos complicados, e com todo carinho me apoiou e ajudou a superar. Agradeço, pelo aprendizado com você, pelo seu companheirismo, e pela sua compreensão.

Aos meus amigos de trabalho, Ana Cristina, Marcelo Roter, Taís, Sérgio Sargenti, Talita e Cizelene pelo trabalho, pelo companheirismo, enfim pela amizade grandiosa.

A minha amiga Ana Sório, pelo respeito, pela consideração em sempre que possível ajudar, e por todo o companheirismo.

À Mirna, amiga de horas de aflição, obrigada pela disponibilidade em ajudar, pelos empurrõezinhos e por toda atenção.

Ao meu amigo Marco Túlio, pela boa vontade de ajudar, despendendo de tempo em atividades conjuntas desse trabalho, obrigada pela amizade e dedicação.

Aos amigos especiais: Polliane, Bárbara, Germana, Flaviana, Jonas, Eduardo e Andréa pelo companheirismo e por todos os momentos irreverentes.

“Há homens que lutam um dia e são bons, há outros que lutam um ano e são melhores, há também aqueles que lutam por muitos anos e são muito bons, porém há aqueles que lutam por toda uma vida, esses são os imprescindíveis”.

Bertold Brecht

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	13
LISTA DE QUADROS	14
LISTA DE TABELAS	15
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	17
RESUMO	20
ABSTRACT	21
1. INTRODUÇÃO	22
2. REVISÃO DE LITERATURA	24
2.1 - CARCINOMAS DE DUCTO SALIVAR	24
2.1.1 - Conceito e denominação	24
2.1.2 – Histopatologia	25
- Achados essenciais e eventuais	25
- Variantes	26
- Diagnóstico diferencial histopatológico	28
2.1.3 – Patogênese	29
2.1.4 – Epidemiologia	31
2.1.5 - Apresentação clínica	34
2.1.6 - Exames complementares	37

2.1.7 – Tratamento	39
2.1.8 – Prognóstico	40
2.2 – METALOTIONEÍNA	42
2.2.1 - Definição, caracterização e função	43
2.2.2 - Expressão em tumores	43
2.2.3 - Expressão em tecidos normais e tumorais de glândula salivar	45
3. PROPOSIÇÃO	47
4. PACIENTES E MÉTODO	48
4.1 Identificação e seleção dos casos de interesse	48
4.2 Reavaliação histológica para confirmação de diagnóstico	49
4.3 Dados de interesse e fontes de informação	50
4.4 Reavaliação histológica descritiva	51
4.5 Imunoistoquímica	52
4.6 Análise estatística	53
5. RESULTADOS	54
6. DISCUSSÃO	65
7. CONCLUSÃO	70
REFERÊNCIAS	71

ANEXO 1 91

ANEXO 2 92

LISTA DE FIGURAS

	Pg.
Figura 1. Distribuição de 33 casos de carcinoma de ducto salivar, avaliados no Instituto Nacional de Câncer de 1996 a 2006, segundo faixa etária do paciente no momento da consulta inicial na instituição.	54
Figura 2. Distribuição de 33 casos de carcinoma de ducto salivar, avaliados no Instituto Nacional de Câncer de 1996 a 2006, segundo sítio anatômico da lesão	55
Figura 3 – Avaliação de parâmetros clínicos e histopatológicos em relação à sobrevida de pacientes com carcinomas de ducto salivar (A – sobrevida global; B – metástases cervicais; C – metástases à distância; D– margens cirúrgicas; E – comedonecrose; F– nucléolos).	62
Figura 4. Marcação imunoistoquímica da metalotioneína em carcinomas de ducto salivar caracterizada por positividade focal e de moderada intensidade (A), em padrão citoplasmático (B). Estreptoavidina-biotina-peroxidase, aumento original de 10X (A) ou 40X(B)	63
Figura 5. Índice de marcação da metalotioneína em carcinomas de ducto salivar, segundo perfil metastático (A – metástases regionais, $p = 0,08$, teste U de Mann-Whitney; B – metástases distantes, $p = 0,05$, teste U de Mann-Whitney)	64

LISTA DE QUADROS

	Pg.
Quadro 1 – Frequência de carcinomas de ducto salivar em levantamentos gerais sobre tumores de glândula salivar, em relação ao número total de casos, casos malignos e em parótida	32
Quadro 2 – Demografia de pacientes com carcinomas de ducto salivar	33
Quadro 3 – Topografia anatômica de carcinomas de ducto salivar.....	35
Quadro 4 – Evolução prévia à primeira consulta e principais sintomas relacionados a carcinomas de ducto salivar.....	36
Quadro 5 – Tamanho e acometimento linfonodal por carcinomas de ducto salivar.....	37
Quadro 6 – Achados histopatológicos descritos na literatura para carcinoma de ducto salivar (Ellis & Auclair, 2008; Brandwein-Gensler et al., 2005a), definidos como principais, eventuais e variantes no presente estudo.....	51

LISTA DE TABELAS

	Pg.
Tabela 1. Comparação entre o tempo de evolução e variáveis demográficas e clínicas de 33 casos de carcinoma de ductos salivares, avaliados no INCA de 1996 a 2006.....	56
Tabela 2. Tipos de tratamento empregado para 33 casos de carcinoma de ductos salivares, avaliados no INCA de 1996 a 2006.....	57
Tabela 3. Comparação entre fatores terapêuticos e evento de recorrência locorregional após tratamento de 29 casos de carcinoma de ductos salivares, avaliados no INCA de 1996 a 2006.....	58
Tabela 4. Comparação entre a frequência de metástases regionais (N) e distantes (M), relativos a 33 casos de carcinoma de ductos salivares, avaliados no INCA de 1996 a 2006.....	59
Tabela 5. Comparação entre a ocorrência de metástases e fatores clínicos de 33 casos de carcinoma de ductos salivares, avaliados no INCA de 1996 a 2006.....	59
Tabela 6. Frequência de achados histopatológicos eventuais e variantes em 27 casos de carcinoma de ductos salivares, avaliados no INCA de 1996 a 2006.....	60
Tabela 7. Frequência de comprometimento neural e embolização neoplásica em carcinomas de ductos salivares, avaliados no INCA de	

1996 a 2006, segundo metodologia de análise (HE = hematoxilina e eosina, $n = 27$; IQ = imunoistoquímica, $n = 20$)..... 61

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AE1/AE3 - Citoqueratina AE1 e AE3

CA – Califórnia, EUA

CAC - Carcinoma adenóide cístico

CDS - Carcinoma de ducto salivar

CD31 - Antígeno marcador de células endoteliais (do Inglês, *Cluster of differentiation 31*)

CK - Citoqueratinas (do Inglês, *cytokeratin*)

CK7 - Citoqueratinas 7

CK8 - Citoqueratinas 8

CK13 - Citoqueratinas 13

CK14 - Citoqueratina 14

COX-2 – Ciclo oxigenase-2

cm – centímetro

DAB - Diaminobenzidina (do Inglês, *Diaminobenzidine*)

DNA - Ácido desoxirribonucléico (do Inglês, *Desoxirribonucleic acid*)

DIPAT – Divisão de Patologia

EDTA - Ácido etileno diamino tetracético sal dissódico (do Inglês, *ethylenediaminetetracetic acid sodium*)

EGFR - Receptor do fator de crescimento epidérmico (do Inglês, *Epidermal growth factor receptor*)

EUA – Estados Unidos da América

HE - Hematoxilina-eosina (do Inglês, *Hematoxylin-eosin*)

HER-2, HER-2/neu, c-erbB-2 – Proteína responsável por proliferação e diferenciação celular/ proto-oncogene

INCA – Instituto Nacional do Câncer

IQ – Imunoistoquímica

Ki67 - Marcador de proliferação celular

LSAB®+System HRP - Sistema de detecção imunoistoquímica (do Inglês, *Labelled streptavidin biotin + streptavidin*)

mM – Milimolar

µm – Micrômetro

n - número

OMS - Organização Mundial de Saúde

p53 – Proteína de 53Kd, com funções de supressão tumoral

p63 – Proteína de 63Kd, com funções de supressão tumoral

PAAF - Punção aspiratória por agulha fina

PPAR γ - Receptor de proliferação de peroxissomo ativado γ (do Inglês, *peroxisome proliferator-activated receptor gamma*)

PCNA - Antígeno nuclear de proliferação celular (do Inglês, *Proliferating cell nuclear antigen*)

PSA - Antígeno prostático específico (do Inglês, Prostatic specific antigen)

RA - receptor de andrógeno

RE - receptor de estrógeno

RP - receptor de progesterona

S-100 - Proteína S-100

TGF- α - Fator de crescimento tumoral alfa (do Inglês, *growth factor-alpha*)

TNM - Sistema de estadiamento (tamanho da lesão, envolvimento linfonodal, metástase)

TRAK-A - Receptor de tirosina quinase ativado A (do Inglês, Tyrosin kinase receptor activated A)

TRIS-HCL - Hidroximetil amino metano - ácido clorídrico

UFU - Universidade Federal de Uberlândia

VEGF - Fator de crescimento endotelial vascular (do Inglês, *Vascular endothelial growth factor*)

RESUMO

O carcinoma de ducto salivar (CDS) é uma neoplasia de alto grau de malignidade, e apresenta notáveis semelhanças com o carcinoma ductal de mama. O objetivo do presente estudo foi avaliar a recente experiência com o esse carcinoma de glândulas salivares no Instituto Nacional do Câncer, comparando informações demográficas, histológicas, prognósticas e terapêuticas com a literatura internacional. Mediante revisão dos dados de 33 pacientes, foi observada predominância de pacientes do sexo masculino, acima de 50 anos, com tumores em parótida, apresentando sintomas frequentemente. Um achado interessante foi a observação de dois pacientes com tumores bilaterais. Histologicamente, comprometimento neural e êmbolos neoplásicos foram identificados em número importante de casos, mas não se associaram com a ocorrência de metástases ou sintomas. Mais da metade dos pacientes evoluiu para óbito, grande parte em decorrência de metástases à distância. Fatores prognósticos significativos foram a ocorrência de metástases regionais identificadas em esvaziamento cervical, metástases à distância, margens cirúrgicas comprometidas e ausência de comedonecrose. Os pacientes foram tratados por cirurgia locorregional isolada ou complementada por radioterapia, mas a opção terapêutica aparentemente não modificou a frequência de aparecimento de recorrências ou com a sobrevida dos pacientes. A expressão da metalotioneína foi de forma geral pouco frequente, mas houve diferença significativa na comparação do índice de expressão dessa molécula entre tumores metastatizantes e não metastatizantes. Em conclusão, os presentes achados confirmam diversas características do CDS, em particular sua notável agressividade, e chamam atenção para a necessidade de novas abordagens terapêuticas, especialmente para prevenir ou tratar doença metastática.

ABSTRACT

Salivary duct carcinoma (SDC) is a high grade malignancy which resembles ductal carcinoma of the breast. The aim of this present study was to review the recent experience with SDC at the Brazilian National Cancer Institute, comparing demographic, histological, prognosis and therapeutic with the international literature. Medical files of 33 cases identified from 1996 to 2006 were assessed to gather data of interest. It was observed that most patients were man, aged over 50 years-old, with tumors in parotid, usually showing symptoms. Two patients presented with bilateral SDC. Histologically, neural and vessels invasion were commonly observed, but it was not associated with symptoms or metastasis. More than half patients died, mostly because distant metastasis. Regional or distant metastasis, involvement of surgical margins, and absence of comedonecrosis were associated to worse prognosis. Patients were treated with by surgery, associated or not with postoperative radiotherapy, but the therapeutic alternative was not associated with better outcome. Expression of metallothionein was low but metastasizing tumors presented significantly higher indexes of staining. In conclusion, this study confirmed the distinct features of SDC, in particular its remarkable aggressiveness, and call attention for the need for new therapeutic approaches, especially to prevent and treat metastatic disease.

1. INTRODUÇÃO

O carcinoma de ducto salivar (CDS) é uma neoplasia maligna pouco comum, mas muito agressiva, das glândulas salivares, apresentando notável semelhança histopatológica com o carcinoma ductal de mama. Apresenta características morfológicas microscópicas peculiares em relação a outros tumores de glândula salivar, em particular a formação de estruturas que lembram proliferação intraductal, mas também áreas invasivas evidentes, sendo ainda descritas diversas variantes. Pode surgir *de novo* ou evoluir a partir de adenoma pleomórfico prévio, havendo também diversos relatos de sua participação nos chamados tumores híbridos das glândulas salivares.

Caracteristicamente, o CDS é mais freqüente na glândula parótida, em homens de meia idade e idosos, sendo diagnosticado usualmente como tumefação de crescimento rápido. Embora não sejam geralmente tumores excessivamente grandes no momento do diagnóstico, é bastante comum que já apresentem metástases regionais.

O tratamento consiste em excisão cirúrgica, acompanhada ou não por esvaziamento cervical, seguindo-se por radioterapia pós-operatória. Todavia, esse protocolo parece não ser eficaz em melhorar a sobrevida dos pacientes dada a elevada mortalidade em decorrência da doença, com vários pacientes apresentando metástases distantes que se associam com evolução letal.

Diversas moléculas têm sido estudadas no CDS, buscando-se compreender sua origem, desenvolvimento e progressão. São questões importantes a definição do estado *in situ* da doença, a utilização de marcadores que possam eventualmente identificar tumores sensíveis a protocolos

quimioterápicos atualmente utilizados no tratamento do câncer de mama, e a determinação do prognóstico para os pacientes.

Nesse sentido, a metalotioneína é uma molécula que tem sido estudada tanto em neoplasias de mama quanto de glândulas salivares. Parece se associar à diferenciação das células tumorais, à resistência das mesmas frente a tratamentos radio e quimioterápicos, e ao prognóstico, mas sua expressão não foi ainda avaliada no CDS.

A busca pelo aprimoramento das observações epidemiológicas, morfológicas e moleculares das doenças pode ser útil para o estabelecimento e avaliação de condutas diagnósticas e terapêuticas, em benefício dos pacientes. Em especial, o estudo do comportamento do CDS pode vir a favorecer abordagens terapêuticas diferenciadas para essa lesão agressiva.

Em função disso, realizamos o presente estudo, uma avaliação retrospectiva de 33 casos de CDS diagnosticados e tratados no Instituto Nacional do Câncer, constituindo-se assim na maior casuística de pacientes brasileiros com a doença, buscando informações epidemiológicas, clínicas, diagnósticas, terapêuticas e de prognóstico que possam enriquecer a literatura, em especial sobre populações latinoamericanas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 – CARCINOMAS DE DUCTO SALIVAR

2.1.1 – Conceito e denominação

O carcinoma de ducto salivar (CDS) é uma neoplasia maligna de alto grau das glândulas salivares. Foi especificamente descrito em 1968, e a atual designação é proveniente de sua notável similaridade histológica com o carcinoma ductal de mama (Kleinsasser et al., 1968). Anteriormente a esse momento, lesões com características desse tumor deveriam ser classificadas como adenocarcinomas, sem outra especificação (Thackray & Sobin, 1972). Foi reconhecido formalmente como entidade separada em 1991 (Seifert & Sobin, 1991). Finalmente, um tipo específico de tumores foi separado recentemente do grupo original de carcinomas de ducto salivar, tendo sido denominados de cistoadenocarcinomas cribriformes de baixo grau (anteriormente carcinomas de ducto salivar de baixo grau), em função de características histológicas e de comportamento clínico distintos do CDS (Delgado et al., 1996; Brandwein-Gensler et al., 2005a; Brandwein-Gensler et al., 2005b).

Termos mais condizentes com características morfológicas desse tumor, tais como “carcinoma de ductos salivares infiltrativo” e “carcinoma salivar cribriforme de ductos excretorios” foram propostos, mas não alcançaram maior repercussão na literatura internacional (Chen & Hafez, 1981; Brandwein et al., 1990).

2.1.2 – Histopatologia

Achados essenciais e eventuais

A característica que distingue o CDS de outros tumores de glândulas salivares consiste no achado concomitante de dois componentes histológicos, cada um deles remetendo a alterações proliferativas mamárias distintas: o primeiro consiste em nódulos de tamanho variado e que lembram hiperplasia ductal atípica ou, mais propriamente, carcinoma ductal *in situ* da mama; e o outro consistindo em crescimento claramente infiltrativo. Comedonecrose e pleomorfismo celular no mínimo moderado são também achados característicos (Brandwein-Gensler, 2004; Ellis & Auclair, 2008).

O componente intraductal mostra nódulos circunscritos, de tamanho heterogêneo, vagamente semelhante a ductos, com aspecto interno cribriforme (com múltiplos lumens secundários), sólido ou papilar, eventualmente com projeções em arco (similares a “pontes romanas”) voltadas para o lúmen principal, e ainda comedonecrose. O componente invasivo é usualmente formado por cordões, ilhotas com poucas células ou mesmo invasão por células tumorais isoladas (Barnes et al., 1994a).

As células se mostram cuboidais ou poligonais, com pleomorfismo moderado a intenso, citoplasma moderadamente abundante, eosinofílico e de limites indistintos, enquanto o núcleo é centralizado, ovóide, hiper cromático, e por vezes vacuolado, podendo apresentar pequenos grânulos e nucléolos proeminentes, havendo usualmente numerosas figuras mitóticas (Brandwein et al., 1990; Barnes et al., 1994a; Lewis et al., 1996; Guzzo et al., 1997; Hosai et al., 2003).

O estroma é caracteristicamente formado por tecido conjuntivo denso desorganizado (fibroso), podendo haver áreas hialinizadas de permeio em ambos os componentes epiteliais, geralmente acompanhada por infiltrado inflamatório linfoplasmocitário (Barnes et al., 1994a; Ellis & Auclair, 2008). A

formação de êmbolos neoplásicos (48%) e comprometimento de fibras neurais (71,4%) é um achado freqüente (Roh et al., 2008; Preis et al., 2009).

Variantes

Diversas variantes têm sido propostas para o CDS, e em todas se deve encontrar áreas com características clássicas dessa lesão (Cheuk & Chan, 2007).

Talvez a mais importante distinção, posto que mais freqüente e definidora de curso clínico, seja referente a um grupo de lesões caracterizado por amplo predomínio (maior que 90%) do padrão de crescimento “intraductal”, com características citológicas mais brandas do que o padrão arquetípico do CDS, e circunscrição dos nódulos tumorais por células mioepiteliais (Cheuk et al., 2004; Brandwein-Gensler, 2005b). Lesões com tais características mostram evolução bem menos agressiva do que o usual, inclusive não tendo sido relatadas metástases até o presente momento, sendo por isso especificadas com o termo “baixo grau” (Anderson et al., 1992; Tatemoto et al., 1996; Delgado et al., 1996; Brandwein-Gensler et al., 2004; Cheuk et al., 2004). Essa variante também tm sido denominada por alguns autores como “CDS *in situ*”; porém, infiltração focal pode ser observada (Delgado et al., 1996). Outros termos também têm sido empregados, tais como “carcinoma intraductal”, “CDS circunscrito”, ou “cistoadenocarcinoma cribriforme de baixo grau” (Anderson et al., 1992; Ide et al., 2004; Brandwein-Gensler, 2005b). Áreas citologicamente mais atípicas e invasão evidente têm sido relatadas eventualmente em algumas dessas lesões, e, no mesmo sentido, células mioepiteliais remanescentes podem ser evidenciadas circunscrevendo nódulos tumorais em algumas lesões com aspecto histopatológico convencional, evidências que suportam possível progressão para alto grau de lesões “*in situ*” (Araújo et al., 2002; Brandwein-Gensler et al., 2004; Cheuk & Chan, 2007). Todavia, o achado de lesões de baixo grau com tempo de evolução muito prolongado e

histologicamente circunscritas foi utilizado para questionar essa possibilidade (Ide et al., 2004).

As demais variantes dependem de achados completamente diferentes dos componentes convencionais para serem classificadas como tal. A presença em expressiva quantidade de material colóide, inclusive formando grandes lagos ao redor de agregados epiteliais neoplásicos define a variante rica em mucina (Simpson et al., 2003). A variante invasiva micropapilar é caracterizada por aglomerados de células tumorais semelhante a mórulas sem núcleos fibrovasculares, envolvidos por um espaço claro, morfológicamente similar à variante micropapilar do carcinoma de mama ou urotelial. (Nagao et al., 2004a; Yamamoto et al., 2008). Na variante sarcomatóide, há um componente de células fusiformes anaplásicas, células gigantes bizarras multinucleadas, células rabdóides e, raramente, células osteossarcomatóides, todas apresentando características imunofenotípicas e ultraestruturais sugestivas de diferenciação epitelial (Nagao et al., 2004b; Ide et al., 2004; Henley et al., 2000; Padberg et al., 2005). Finalmente, a variante de células gigantes semelhantes a osteoclastos se parece com a lesão de células gigantes dos maxilares, porém suas células também mostram perfil molecular epitelial (Tsé et al., 2004). O prognóstico é essencialmente similar ao CDS clássico para as variantes rica em mucina (Simpson et al., 2003) e sarcomatóide (Nagao et al., 2004b), mas pior para as variantes micropapilar invasiva e com células osteoclásticas (Nagao et al., 2004a), embora a casuística acumulada sobre as mesmas seja ainda muito restrita.

O CDS também pode se apresentar como tumor híbrido composto em conjunto com carcinoma de células ácinares (Seifert et al., 1991) ou carcinoma adenóide cístico (Kamio, 1997).

Diagnóstico diferencial histopatológico

Metástases para glândulas salivares de carcinoma ductal de mama, bem como o carcinoma mucoepidermóide de alto grau, adenocarcinoma sem outra especificação, carcinoma oncocítico, carcinoma de células acinares e adenocarcinoma polimorfo de baixo grau podem apresentar notável similaridade histopatológica com o CDS (Goode et al, 1998; Li J et al, 2004).

A ausência de história clínica de tumor mamário prévio ou concomitante, e a expressão de receptor de andrógeno e de antígeno carcinoembriogênico com negatividade para receptor de progesterona são características peculiares do CDS em relação ao carcinoma mamário (Wick et al., 1998; Fan et al., 2001; Fan et al., 2000; Kapadia & Barnes, 1998). Células mucosas em grande quantidade, bem como mucina luminal corrobora diagnóstico de carcinoma mucoepidermóide, que por outro lado não apresenta as formações cribriformes características de CDS (Murrah et al., 1994). A presença de áreas características de CDS impede o diagnóstico de adenocarcinoma sem outra especificação. O carcinoma oncocítico é composto por células com um citoplasma mais abundante e eosinofílico que o do CDS. O carcinoma de células acinares, apresenta células com pleomorfismo apenas discreto e eosinofilia mais intensa, com maior variedade de tipos celulares e sem componentes intraductais. O adenocarcinoma polimorfo de baixo grau usualmente ocorre em glândulas salivares menores, e mostra células com citoplasma claro e uniforme, não apresentando comedonecrose (Evans et al., 1984).

A adenose policística esclerosante possui características histomorfológicas semelhante a alterações fibrocísticas de mama, como transformação carcinomatosa *in situ*, o que lembra também alterações ductais e acinares hiperplásicas das glândulas salivares. O diagnóstico diferencial com o CDS pode ser realizado através da observação da ausência de pleomorfismo

celular, comedonecrose, padrão cribriforme e componente invasivo (Skálova et al., 2002).

2.1.3 - Patogênese

O CDS pode surgir *de novo* ou a partir de um adenoma pleomórfico ou adenoma de células basais (Brandwein-Gensler et al., 2005a; Nagao et al., 1997). O primeiro evento parece ser mais comum, embora seja relatada uma proporção importante (cerca de 20%) de transformação maligna a partir de lesão benigna (Delgado et al., 1993; Lewis et al., 1996). Além disso, 14% a 35% dos carcinomas ex-adenomas pleomórficos têm o CDS como componente maligno (Tortoledo et al., 1984; Lewis et al., 2001; Nasser et al., 2003).

Expressão de antígenos mioepiteliais é observada somente na periferia de algumas formações “intraductais” do CDS, fato que tem sido utilizado para corroborar uma possível fase *in situ* no desenvolvimento dessa lesão, conforme já mencionado (Araújo et al., 1987).

Quanto à origem do CDS, análises imunoistoquímicas mostraram positividade para marcadores epiteliais, incluindo citoqueratinas (CK), antígeno carcinoembrionário, e antígeno epitelial de membrana (Lewis et al., 1996; Delgado et al., 1993). O perfil de expressão de citoqueratinas nesse tumor, em especial a positividade para CK7 e CK8, com nenhuma expressão para CK13 e CK14, mimetiza o imunofenótipo observado nas células luminiais de ductos excretórios (Araújo et al., 2002). Da mesma forma, a expressão aumentada de ciclooxigenase-2 (COX-2) e a ausência de células mioepiteliais são também características encontradas tanto no CDS quanto em ductos excretórios, tais fatos têm sido interpretados como sugestivos de que células de reserva dos ductos excretórios sejam as precursoras das células neoplásicas desse tumor (Akrish et al., 2009).

Metade ou mais dos CDS são aneuplóides, e tumores com tais características apresentam também maior grau de pleomorfismo nuclear,

sugerindo relação do evento (aneuploidia) com a progressão tumoral (Barnes et al., 1994b; Martinez-Barba et al., 1997; Van Heerden et al., 2003).

Tendo em vista a importância de receptores hormonais e de fatores de crescimento para o carcinoma ductal de mama, bem como a notável similaridade morfológica entre essa lesão e o CDS, tais moléculas também têm sido intensamente avaliadas nesse último tumor, com implicações diagnósticas e terapêuticas. Em primeiro lugar, a frequência de casos positivos para receptor de andrógeno (RA) é alta em CDS e muito baixa em carcinoma ductal de mama, ocorrendo o contrário com receptor de estrógeno (Wick et al. 1998; Sygut et al., 2008), facilitando a distinção de possíveis tumores mamários metastáticos para a cabeça e pescoço. De forma semelhante, a expressão freqüente de RA também pode ser útil para a diferenciação desse tumor para outras neoplasias malignas de glândulas salivares, com expressão menos comum desse receptor (Fan et al., 2001; Fan et al., 2000; Kapadia & Barnes, 1998).

Por outro lado, a expressão de antígeno prostático específico (PSA) é elevada tanto em CDS quanto no adenocarcinoma prostático, fato que torna a análise desse marcador nada importante na diferenciação entre esses dois tumores (Fan et al., 2000; van Krieken, 1993). A expressão da fosfatase ácida prostático específica também pode auxiliar nessa distinção (Fan et al., 2000). Mecanismos mitogênicos também parecem ser similares entre eles, mediados pelo fator de crescimento tumoral α (TGF- α) e pela expressão aberrante do receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR), indicando mecanismos estimuladores autócrinos (Culig et al., 1996; Steiner, 1995).

A mudança de compartimento nuclear para citoplasmático do receptor de proliferação de peroxissomo ativado γ (PPAR γ) também parece ser importante na patogênese do CDS, tendo em vista que a presença intranuclear dessa molécula inibe a proliferação celular (Mukunyadzi et al., 2003).

O gene HER-2/neu (HER-2, c-erbB-2) é considerado importante na proliferação e diferenciação de células normais, e uma ativação aberrante de suas atividades poderia estar envolvida no desenvolvimento de determinadas neoplasias (Peles et al., 1993). Esta ativação aberrante é originada a partir de amplificação gênica (Etges et al., 2003). Pode-se observar que tumores de glândulas salivares apresentam diversidade na imunexpressão da proteína HER-2/neu, sendo observados índices variando de 0% em CAC a 100% em carcinoma do ducto salivar (Locati et al., 2005; Martinez-Barba et al., 1997).

2.1.4 – Epidemiologia

O CDS é uma lesão rara, constituindo 0,1 a 7,6% de todas as neoplasias de glândula salivar, até 1,2% dos tumores malignos nessas estruturas, ou até 8,7% dos tumores malignos em parótida, conforme apresentado no **Quadro 1**, que mostra ainda vários estudos que nem mesmo mencionam essa lesão em sua casuística.

Quadro 1 – Frequência de carcinomas de ducto salivar em levantamentos gerais sobre tumores de glândula salivar, em relação ao número total de casos, casos malignos e em parótida.

Autores	País	Geral			Malignos			Parótida		
		N	CDS		n	CDS		n	CDS	
			N	%		n	%		n	%
Ochicha et al., 2009	Nigéria	78	0	-	34	0	-	38	0	-
Tian et al., 2009	China	6982	6	0,1%	2239	6	0,3%	4264	3	0,1%
Tilakaratne et al., 2009	Sri Lanka	713	4	1,1%	357	4	0,6%	162	3	1,8%
Subhashraj, 2008	Índia	684	3	0,4%	262	3	1,1%	414	1	0,2%
Al-Khateeb e Ababneh, 2007	Jordânia	93	1	1,0%	30	1	3,3%	46	-	-
Ansari, 2007	Irã	130	0	-	41	0	-	82	-	-
Drivas et al., 2007	Grécia	131	1	0,8%	30	1	0,8%	131	1	0,8%
Jones et al., 2007	Inglaterra	741	3	0,4%	260	3	1,2%	231	ND	-
Long-jiang et al., 2007	China	3461	5	0,4%	1392	5	0,4%	675	2	0,3%
Ito et al., 2005	Brasil (Paraná)	496	1	0,2%	161	1	0,6%	336	ND	ND
Lima et al., 2005a	Brasil (Rio de Janeiro)	-	-	-	126	11	8,7%	126	11	8,7%
Lima et al., 2005b	Brasil (Sergipe)	245	1	0,4%	58	1	1,7%	28	1	3,6%
Otoh et al., 2005	Nigéria	79	3	3,8%	32	3	9,3%	36	1	2,7%
Przewozny et al., 2004	Polônia	417	0	-	63	0	-	417	0	-
Vuhahula et al., 2004	Uganda	268	0	-	125	0	-	91	0	-
Nasser et al., 2003	Estados Unidos	78	6	7,6%	52	6	11,5%	72	5	7,0%
Vargas et al., 2002	Brasil	124	0	-	25	0	-	88	0	-
Ojedaa et al., 2000	Equador	308	0	-	58	0	-	ND	0	-
Maaita et al., 1999	Jordânia	221	0	-	39	0	-	155	0	-
Satko et al., 1999	Eslováquia	1021	0	-	226	0	-	847	0	-

Os principais dados sobre a demografia do CDS, obtidos dos estudos disponíveis com as maiores casuísticas sobre essa doença, são apresentados no **Quadro 2**.

Quadro 2 – Demografia de pacientes com carcinomas de ducto salivar.

Estudo	País	N	Sexo			Idade	
			M	F	M:F	Média (variação), em anos	Década prevalente
Jaehne et al., 2005	Alemanha	50	33	17	1,9	63 (34 – 83)	Sétima
Lewis et al., 1996	Rochester, EUA	26	22	4	5,5	66 (49 – 90)	ND
Guzzo et al., 1997	Itália	26	22	4	5,5	62 (22 – 82)	ND
Roh et al., 2008	Coréia do Sul	21	18	3	6,0	64 (40 – 79)	ND
Hosal et al., 2003	Pittsburgh, EUA	15	9	6	1,5	65 (36 – 86)	ND
Cornolti et al., 2007	Itália	13	10	3	3,3	66 (40 – 80)	Oitava
Brandwein et al., 1990	Nova Iorque, EUA	12	10	2	5,0	61 (54 – 80)	Sétima
Skalova et al., 2003	Rep. Checa	11	7	4	1,8	65 (43 – 81)	Sétima
GERAL	-	174	131	43	3,1	- (22 – 90)	-

M – Masculino; F – Feminino; ND – não disponível.

Como se pode observar, esse é um tumor prevalente no sexo masculino, em proporção geral em torno de 3:1 para o sexo feminino, embora proporções bem menores tenham sido relatadas. Quanto à idade, a maioria dos CDS é diagnosticada em pacientes com mais de 50 anos de idade, variando entre 22 e 90 anos, com idade média acima de 60 anos.

Até o presente momento, não obstante a influência de fatores tais como radiação, tabaco, álcool, inflamação crônica e herança genética já terem sido analisados quanto a efeito carcinogênico em glândulas salivares, com algumas associações significativas encontradas para alguns tumores (Spitz et al., 1984; Schneider et al., 1998; Coleman et al., 1999), nenhuma associação foi consistentemente associada ao surgimento de CDS. Apenas relatos de caso sobre surgimento de CDS em sialoadenites crônicas obstrutiva ou auto-imune têm sugerido alguma associação (Hogg et al., 1999; Gill et al., 2009).

2.1.5 - Apresentação clínica

Conforme demonstrado no **Quadro 3**, novamente referente a dados obtidos das maiores casuísticas relatadas sobre CDS, há um claro e amplo predomínio de lesões em parótida, seguindo-se por poucos casos na glândula submandibular e menos ainda em sítios intraorais relacionados a glândulas salivares menores. Nessa última situação, a localização mais comum é o palato (63%, se considerados 35 casos relatados na literatura) seguindo-se pela mucosa de bochecha (11%), lábio superior (11%), língua (9%) e gengiva (6%) (Chen, 1983; Pesce et al., 1986; Zohar et al., 1988; Watatani et al., 1991; Kumar et al., 1993; Delgado et al., 1993; Yoshimura et al., 1995; Epivatianos et al., 1995; Tatemoto et al., 1996; Suzuki e Hashimoto, 1999; Huh et al., 2003; Van Heerden et al., 2003; Cheuk et al., 2004; Ide et al., 2004; Ponniah et al., 2005; Otoh et al., 2005; Suzuki et al., 2006; Al-Khateeb & Ababneh, 2007; Long-jiang et al., 2007; Dhanuthai et al., 2009).

Quadro 3 – Topografia anatômica de carcinomas de ducto salivar.

Estudo	<i>n</i>	Parótida		Submandibular		Glândulas maiores		Glândulas menores	
		<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>N</i>	%	<i>n</i>	%
Jaehne et al., 2005	50	39	78%	6	12%	45	90%	5	10%
Lewis et al., 1996	26	23	88%	3	6%	26	100%	0	-
Guzzo et al., 1997	26	23	88%	2	4%	25	96%	1	4%
Roh et al., 2008	21	13	62%	8	38%	21	100%	0	-
Hosal et al., 2003	15	12	80%	2	13%	14	93%	1	7%
Cornolti et al., 2007	13	13	100%	0	-	13	100%	0	-
Brandwein et al., 1990	12	11	92%	1	8%	12	100%	0	-
Skalova et al., 2003	11	11	100%	0	-	11	100%	0	-
TOTAL	174	145	83%	22	13%	167	96%	7	4%

O CDS parece ser invariavelmente identificado em função do aumento de volume que provoca. Dor e alterações neurais sensoriais e motoras são encontradas em pouco menos de um terço dos casos, nas maiores séries relatadas, como pode ser verificado no **Quadro 4**. São comuns relatos de crescimento rápido, e a lesão está presente, em média, já há aproximadamente um ano prévio à primeira avaliação médica. Alguns casos mostram evolução arrastada por várias décadas, em particular quando associados a transformação maligna a partir de adenoma pleomórfico (Spitz et al., 1985; Delgado et al., 1993; Lewis et al., 1996).

Quadro 4 – Evolução prévia à primeira consulta e principais sintomas relacionados a carcinomas de ducto salivar.

Autores	Evolução prévia	
	(média, em meses)	Dor Paralisia
Jaehne et al., 2005	11,1	- -
Lewis et al., 1996	ND	23% 42%
Guzzo et al., 1997	34	- 27%
Roh et al., 2008	ND	- -
Hosal et al., 2003	ND	33% 33%
Cornolti et al., 2007	ND	- 31%
Brandwein et al., 1990	ND	8% 33%
Skalova et al., 2003	97	- 36%

ND – Não disponível.

Como apresentado no **Quadro 5**, as lesões se apresentam com cerca de 3cm, mas são comuns casos diagnosticados quando já invadem estruturas adjacentes (Hosal et al., 2003; Jaehne et al., 2005). De forma semelhante, acometimento linfonodal é bastante comum, com alguns poucos pacientes (cerca de 5%) eventualmente já mostrando metástases distantes no momento do primeiro diagnóstico (Garland et al.,1984; Haines et al.,1989; Guzzo et al., 1997).

Quadro 5 – Tamanho e acometimento linfonodal por carcinomas de ducto salivar.

Autores	Tamanho médio (cm)	T3 / T4	N+
Jaehne et al., 2005	ND	66%	56%
Lewis et al., 1996	3	-	35%
Guzzo et al., 1997	3,6	38%	58%
Roh et al., 2008	3	62%	67%
Hosal et al., 2003	ND	50%	33%
Cornolti et al., 2007	3.9	69%	77%
Brandwein et al., 1990	3.1	18%	89%
Skalova et al., 2003	5.1	82%	64%

ND – não disponível.

2.1.6 - Exames complementares

Dados analíticos específicos sobre a melhor conduta diagnóstica para o CDS não estão disponíveis. De forma geral para os tumores de glândula salivar maior, considera-se os exames de imagem, a punção aspiratória por agulha fina (PAAF), e a biópsia transoperatória por congelação como exames auxiliares na definição do melhor tratamento para o paciente (Brasil, 2002).

Embora bastante utilizado para tumores de parótida em geral, o diagnóstico de CDS através de punção aspirativa possui limitações importantes, pois suas características citológicas podem se apresentar muito semelhantes a diversos outros tumores, tais como adenocarcinoma sem outra especificação, carcinoma mucoepidermóide, carcinoma de células ácinares, oncocitoma e até mesmo com o adenoma pleomórfico, sendo difícil diferenciá-

las. Estudo imunoistoquímico pode ser utilizado para melhorar a capacidade do exame citológico de diferenciar tais lesões (Khurana et al., 1997; Klijanienko & Vielh et al., 1998; Kawahara, 2008).

A punção biópsia por agulha fina tem sido descrita como método diagnóstico confiável, rápido, simples, barato e, além disso, bem aceito e tolerável pelos pacientes (Florentine et al., 2006; Jan et al., 2008). Por isso, é recomendada como procedimento inicial para todas as tumefações localizadas em glândulas salivares maiores (Brasil, 2002; Ashraf et al., 2009). Embora lesões nodulares envolvendo a região de cabeça e pescoço sejam de fácil acesso para execução desse procedimento, muitos especialistas têm questionado seu valor, em decorrência de alguns fatores limitantes, tais como a habilidade do operador, quantidade e qualidade da amostra e experiência do patologista (Tan e Khoo, 2006). Não obstante, esse procedimento tem obtido notável acurácia, em torno de 80% para a distinção de tumores benignos e malignos de glândulas salivares (Zhang et al., 2009; Christensen et al., 2010). Finalmente, a biópsia guiada por ultrassom (*core biopsy*) tem sido descrita recentemente como método complementar de diagnóstico em tumores de glândulas salivares. Constitui-se de uma combinação de exames de imagem e punção aspirativa, apresentando potencial para aprimorar os resultados alcançados pela punção biópsia por agulha fina convencional (Howlett, 2006).

De forma geral, a PAAF é útil para evitar a necessidade de cirurgia, ao determinar que uma determinada lesão é inflamatória e não neoplásica. Porém, a definição de natureza benigna ou maligna é mais acurada em cortes de congelação, que se mostra ainda mais superior quanto à capacidade de definir o tipo ou grau histológico da lesão e, portanto, determinar a extensão do procedimento cirúrgico (Zbären et al., 2008; Gal et al., 1985; Dee et al., 1993; Zurrada et al., 1993; Elsheikh et al., 1994; Fyrat et al., 1997; Orell et al., 1995; Khurana et al., 1997).

O uso de exames pré-operatórios de imagem parece não ter influência significativa na determinação da melhor opção terapêutica para tumores no lobo superficial da parótida, de forma que sua requisição é desaconselhada, ao contrário de lesões no lobo profundo, valendo o mesmo raciocínio para lesões já sabidamente benignas ou malignas, respectivamente (Cheung & Russell, 2008). De qualquer forma, os achados imagiológicos observados em CDS não são suficientes para diferenciá-los de outros tumores de glândula salivar, nem mesmo para com tumores benignos, como o adenoma pleomórfico (Motoori et al., 2005; Hirschi et al., 2007; Kashiwagi et al., 2009).

2.1.7 - Tratamento

A principal terapêutica para o CDS é a excisão cirúrgica no caso de tumores primários pequenos de baixo grau, enquanto que nos de alto grau é feito também esvaziamento cervical, e a radioterapia pode ser considerada como tratamento coadjuvante (Jaehne et al., 2005; Hosal et al., 2003).

Contudo, o tratamento cirúrgico locorregional associado a radioterapia pós-operatória tem encontrado sucesso bastante limitado, primeiramente por que muitos tumores são diagnosticados em estágios avançados com micro metástases em sítios distantes, já no momento do diagnóstico, e a taxa de recidiva dessa lesão é alta. Observa-se que 66% dos pacientes com CDS morrem em até quatro anos após o diagnóstico, mesmo com a combinação do tratamento cirúrgico com radioterápico (Barnes, 1994; Hosal et al., 2003).

A observação de altos níveis de expressão de certas moléculas (por exemplo, receptor de andrógeno, HER2/neu, TRAK-A) tem sugerido que a utilização de medicamentos específicos possa representar alternativa terapêutica futura para o CDS. Todavia, para tumores primários pequenos a excisão cirúrgica ainda é o tratamento mais indicado (Negri, 2008; Fan et al., 2000; Kapadia & Barnes, 1998).

2.1.8 - Prognóstico

O CDS é considerado um tumor maligno de alto grau das glândulas salivares, apresentando uma das piores taxas de sobrevida dentre essas lesões (Jaehne et al., 2005; Lima et al., 2005a). Após o tratamento, cerca da metade dos pacientes (48%) desenvolvem metástase sistêmica (pulmão, ossos, cérebro, fígado, cavidade orbitária, rim e baço), com a maioria (cerca de 60%) apresentando evolução fatal devido à doença, normalmente até 4 anos depois do diagnóstico (Seifert et al., 1991; Jaehne et al., 2005). De acordo com estudos retrospectivos, foi observada taxa de sobrevida em 2 anos de 58% dos pacientes, e em 5 anos para 30% dos pacientes, progredindo a perto de 0% ao final de 10 anos (Lewis et al, 1996; Lima et al., 2005a).

A avaliação usual dos fatores prognósticos para tumores malignos de glândulas salivares inclui uma série de aspectos clínicos, demográficos, histológicos e moleculares, tais como, estágio clínico, linfonodos positivos, idade, sexo, disfunção do nervo facial, dor, gradação histológica, marcação de p53 e Ki67 (Spiro et al., 1989; Kane et al., 1991; Martinez-Barba et al., 1997; Calearo, et al. 1998; Zbären et al., 2002; Harbo et al, 2002).

Homens mostram melhor prognóstico do que mulheres com CDS (Lewis et al., 1996). De forma semelhante, melhor prognóstico é observado para lesões em glândula parótida do que em outros sítios anatômicos (Huh et al., 2003; Terhaard et al., 2004; Jaehne et al., 2005).

Superexpressão de p53, HER2/neu, Ki-67 ou PCNA são marcadores de prognóstico desfavorável para o CDS (Felix et al. 1996; Martinez- Barba et al., 1997; Lopes et al., 2001; Nashed & Casasola, 2009). Outros marcadores moleculares já foram avaliados quanto à sua associação com o prognóstico para CDS, tais como fator indutor de hipóxia alfa1 e alfa 2, anidrase carbônica, transportador de glucose, receptor de eritropoetina, antígeno epitelial de

membrana, pan-citoqueratina (AE1/AE3), e proteína S-100, mas não mostraram qualquer valor significativo (Lewis et al., 1996; Roh et al, 2008).

2.2 - METALOTIONEÍNA

2.2.1 - Definição, caracterização e função

A metalotioneína (MT) é uma molécula de baixo peso molecular, rica em cisteína, que parece ter função em processos de reparo genômico, crescimento e diferenciação celulares, assim como na proteção contra danos ao DNA por estresse oxidativo, neutralização intracelular de metais pesados, e inibição de apoptose (Ioachim et al., 1999; Klaassen et al., 1999; Miles et al., 2000; Coyle et al., 2002; Penkowa, 2006; Nielsen et al., 2007).

Localiza-se principalmente no citoplasma das células de tecidos adultos, havendo relato de sua detecção no núcleo de células fetais ou do período neonatal quando também parece estar relacionada à proliferação celular (Apostólova & Cherian, 2000).

Foi primeiramente descrita em 1957 como um ligante de cádmio (Margoshes & Valle, 1957). Atualmente, quatro isoformas da MT já foram identificadas (denominadas MT-I a MT-IV) (Sato & Kondoh, 2002; Nielsen et al., 2007). Em humanos, os genes que codificam essas isoformas estão localizados no cromossomo 16q13, havendo no mínimo 11 genes funcionais e não-funcionais para MT-I e um gene funcional para cada uma das outras isoformas (Miles et al., 2000; Cherian et al., 2003; Haq et al., 2003; Nielsen et al., 2007; Thirumoorthy et al., 2007).

As isoformas MT-I e MT-II são expressas ubiquamente em todos os eucariotas, enquanto a MT-III e a MT-IV foram detectadas apenas em mamíferos. A MT-III foi primeiramente identificadas em cérebro de pacientes com a doença de Alzheimer (Uchida et al., 1991), principalmente em neurônios glutaminérgicos (Palmiter et al., 1992), e apresenta capacidade de inibição do crescimento de neurônios em cultura (Imagawa et al., 1995). A MT-IV foi

encontrada em epitélio escamoso de pele, língua e revestimento intestinal, aparentemente associada à diferenciação celular (Quaife et al., 1994).

No desenvolvimento fetal, a MT parece atuar como reservatório de metais essenciais, visto que foram encontrados altos níveis intracelulares dessa molécula no fígado de mamíferos, ligada a zinco e cobre (Panemangalore, et al., 1983). Por outro lado, sua ligação a metais também varia em função do órgão avaliado e de sua exposição a esses íons (Kägi & Kojima, 1987).

2.2.2 - Expressão em tumores

A expressão de MT em células normais em proliferação ou em células neoplásicas encontra-se aumentada em relação a células normais quiescentes (Cherian et al., 2003; Theocharis et al., 2004; Nielsen et al., 2007; Thirumorthy et al., 2007).

Em células neoplásicas, assim como em tecidos normais, o pico de expressão de MT ocorre na fase G1 e na transição das fases G1 para S do ciclo celular (Nagel & Valle, 1995). Além disso, tem sido observada correlação inversa entre a ocorrência de apoptose e a expressão de MT para adenocarcinoma de cólon e carcinoma hepatocelular metastático. Tais condições contribuiriam para que tumores mais agressivos mostrassem expressão mais intensa ou frequente de MT. De fato, para alguns tumores (carcinoma renal e adenocarcinoma de cólon) há expressão mais intensa em lesões de alto grau histológico (Ofner et al., 1994; Izawa et al., 1998; Tuzel et al., 2001; Mitropoulos et al., 2001), enquanto ausência ou baixa marcação se associa a melhor prognóstico (Ofner et al., 1994; Deng et al., 1998; Tanimoto et al., 1998).

Porém, embora seja verificada expressão de MT em células normais da próstata, adenocarcinomas de alto grau desse órgão mostram expressão menos intensa do que lesões de baixo grau (Moussa et al., 1997; Cherian et al., 2003). Esse evento também se acompanha por um decréscimo na concentração de zinco, do tecido normal para adenocarcinomas (Costello & Franklin, 1998). Nesse sentido, tem sido considerada até mesmo a pertinência do uso desse metal no tratamento ou prevenção das lesões proliferativas da próstata, talvez resultando em aumento de apoptose mediada pela MT (Feng et al., 2000; Feng et al., 2002; Cousins et al., 2006; Wei et al., 2008).

Sabe-se ainda que ocorre variação na compartimentalização intracelular da MT, com a localização citoplasmática se associando à inibição de vias apoptóticas e aumento da proliferação celular, enquanto a presença no núcleo permitiria maior proteção contra radicais livres e agentes alquilantes (Bakka et al., 1981; Satoh et al., 1994). Nessa última condição, justificar-se-ia sua possível associação com pior prognóstico nos tumores invasivos de mama, e na quimio e radio-resistência de carcinomas de mama e de pequenas células de pulmão (Joseph et al., 2001; Yap et al., 2008).

No carcinoma ductal de mama, a investigação de MT por ensaios imunistoquímicos mostra superexpressão frequente, predominantemente citoplasmática (Jin et al., 2002; Yap et al., 2009). Essa superexpressão se associa a resistência contra quimioterapia, grau histológico elevado e pior prognóstico, e se correlaciona inversamente com a expressão de receptor de estrógeno (Yap et al., 2009; Tai et al., 2003; El-Sharkawy et al., 2008). De forma similar, foi observada expressão aumentada de MT em metástases linfonodais comparada àquela de carcinomas mamários primários, e ainda que a superexpressão se associe a maior chance de metástases regionais para esses tumores (Haerslev et al., 1994; Haerslev et al., 1995). Todavia, esses resultados não foram sendo corroborados por alguns autores (Fresno et al., 1993; Oyama et al., 1996).

2.2.3 - Expressão em tecidos normais e tumorais de glândula salivar

As primeiras informações sobre a expressão de MT em glândulas salivares normais sugeriram um possível papel na identificação de células mioepiteliais (van den Oord et al., 1993; Yamada et al., 2000). Mais recentemente, observou-se que sua expressão é aumentada na presença de laminina, e que esse fato provavelmente se associa a alguma função durante a diferenciação acinar nesse tecido (Hecht et al., 2002). Em outro aspecto, a MT-III, que usualmente é encontrada no cérebro, também é expressa em glândulas salivares, com ductos mostrando intensa imunoreatividade e células ácinares com fraca expressão, sendo então postulada possível função transportadora para essa isoforma (Irie et al., 2004).

A expressão de MT em tumores de glândulas salivares tem sido documentada (Gao et al., 1997; Sunardhi-Widyaputra et al., 1995). Intensa marcação imunoistoquímica foi observada no adenoma pleomórfico, carcinoma adenóide cístico, e adenocarcinoma polimorfo de baixo grau, especialmente nas células ductais e mioepiteliais (Chauvin et al., 1992). De forma similar a outros tumores, foi observada menor expressão em subtipo histológico menos agressivo (tubular) de carcinoma adenóide cístico, e ainda diferença na compartimentalização em relação ao subtipo, tendo em vista que áreas sólidas dessa lesão mostravam expressão citoplasmática, enquanto que áreas cribriformes e tubulares apresentavam marcação tanto citoplasmática quanto nuclear (Alves et al., 2007).

Investigada enquanto marcadora mioepitelial foi observado que alguns casos de adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade eram negativos para MT, enquanto todas as amostras de carcinoma adenóide cístico eram difusamente positivos, diferença que pode auxiliar no diagnóstico diferencial entre esses tumores, com acurácia similar a outros marcadores mioepiteliais (calponina, maspin, p63 e cadeia pesada de miosina de músculo liso), mas inferior àquela da actina de músculo liso (Prasad et al., 2008).

A despeito dos estudos que mostram a importância da metalotioneína em carcinomas de glândula salivar, bem como das similaridades entre o CDS e o carcinoma ductal de mama, a expressão dessa molécula ainda não foi avaliada nesse tumor das glândulas salivares.

3. PROPOSIÇÃO

O carcinoma de ducto salivar é uma doença rara, e a literatura a respeito de sua caracterização clínica é escassa. Em particular quanto à população brasileira, existem apenas poucos relatos de séries de casos, todas com número reduzido de pacientes ou pouco detalhadas quanto ao comportamento biológico desse tumor. A metalotioneína é uma molécula frequentemente associada a pior prognóstico em carcinoma ductal de mama, e com alta expressão em tumores de glândula salivar mais agressivos, mas ainda não foi investigada no CDS.

Assim, tendo em vista a oportunidade representada pela colaboração estabelecida entre a Universidade Federal de Uberlândia (UFU) e o Instituto Nacional de Câncer (INCA, situado na cidade do Rio de Janeiro), liderada pelo Prof. Dr. Adriano Mota Loyola (Área de Patologia, Faculdade de Odontologia, UFU) e pelos Dr. Fernando Luis Dias (Serviço de Cirurgia de Cabeça e Pescoço, INCA) e Dra. Ana Lúcia Amaral Eisenberg (Divisão de Patologia, INCA), o objetivo do presente estudo foi organizar e analisar dados referentes à experiência recente do INCA com o CDS, em particular buscando dados epidemiológicos e moleculares que auxiliem no aprimoramento do entendimento, diagnóstico e tratamento dessa doença.

4. PACIENTES E MÉTODO

4.1 Identificação e seleção dos casos de interesse

O banco de dados digital da Divisão de Patologia do INCA (DIPAT / INCA) constituiu-se na fonte primária para identificação dos casos de interesse. Para tanto, todos os casos registrados como carcinomas primários de glândula salivar nos anos de 1996 a 2006, foram recuperados mediante cruzamento de códigos da Classificação Internacional de Doenças para Oncologia, em sua terceira versão (Fritz et al., 2000), a saber:

- **Topografia:**
 - C000 a C069 (cavidade oral, incluindo lábio)
 - C079 a C089 (glândulas salivares maiores)
 - C090 a C109 (orofaringe)
 - C310 (seio maxilar)
- **Histologia:**
 - 80000 a 99999 (todos os tumores; exclusivo para glândulas maiores)
 - 81400 a 81473 (inclui adenocarcinoma sem outra especificação e adenocarcinoma de células basais)
 - 81900 a 82113 (inclui carcinoma adenóide cístico)
 - 82900 a 83103 (inclui carcinoma oncocítico, carcinoma de células claras sem outra especificação)
 - 84013 a 84503 (inclui carcinoma mucoepidermóide, cistoadenocarcinoma)
 - 85143 a 85623 (inclui carcinoma de ductos salivares, adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade, carcinoma de células acinares, carcinoma epitelial-mioepitelial)
 - 89400 a 89413 (inclui carcinoma ex-adenoma pleomórfico)

Após verificação manual de cada registro obtido, selecionando apenas tumores epiteliais malignos de histogênese glandular, foram identificados 442 casos, dos quais 24 (5,4%) tiveram diagnóstico original de CDS.

4.2 Reavaliação histológica para confirmação de diagnóstico

Todos os casos inicialmente diagnosticados como CDS, e cujo material histopatológico (blocos ou lâminas) estava disponível no arquivo da DIPAT / INCA ($n = 18$), tiveram essa definição reconfirmada no Laboratório de Patologia da Faculdade de Odontologia da UFU, de acordo com os critérios mais recentes da OMS (Brandwein-Gensler et al., 2005a). Para os casos em que não foi possível a reavaliação, a definição original foi mantida.

Com os mesmos critérios, nove casos adicionais foram identificados depois de revista a casuística dos tumores malignos, dos quais seis haviam sido originalmente definidos como adenocarcinomas sem outra especificação, dois como carcinomas adenóides císticos, e um adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade, resultando em uma série final de 33 casos reportados neste estudo.

4.3 Dados de interesse e fontes de informação

Para cada caso, foram pesquisados dados demográficos (sexo e idade), clínicos (hábitos nocivos, tempo de evolução, sítio anatômico, tamanho, sintomatologia, estadiamento clínico), diagnósticos (exames complementares, com ênfase nos aspectos cito e histopatológicos), terapêuticos (emprego ou não de cirurgia, radiação ou quimioterapia) e de acompanhamento (sobrevida específica por doença, recidivas, metástases).

Foi também investigada a história prévia de câncer para os casos de interesse, e nenhum deles possuía registro anterior de carcinoma de mama ou próstata, excluindo a possibilidade de disseminação metastática para cabeça e pescoço.

Como fontes de informação, foram explorados prontuários médicos e laudos de exames complementares, especificamente cito e histopatológicos, e os de imagem (radiografias convencionais, tomografia computadorizada, ressonância magnética, e cintilografia), quando disponíveis.

4.4 Reavaliação histológica descritiva

Considerando-se achados histopatológicos que são descritos como os mais característicos do CDS, ou ainda eventualmente identificados nessa lesão, ou finalmente característicos de variantes, conforme descrito no **Quadro 6**, as amostras disponíveis foram revistas especificamente para se descrever a presença ou não de cada um desses achados.

Quadro 6 – Achados histopatológicos descritos na literatura para carcinoma de ducto salivar (Ellis & Auclair, 2008; Brandwein-Gensler et al., 2005a), definidos como principais, eventuais e variantes no presente estudo.

Categoria	Achado histopatológico
Principal	Nódulos circunscritos
	Presença de cistos intranodulares
	Comedonecroses
	Atipia moderada a intensa
	Ilhotas menores com e sem lúmens
Eventual	Mitoses evidentes
	Nucléolos evidentes
	Hialinização focal
	Infiltrado linfoplasmocítico
	Calcificações
Variante	Áreas sarcomatóides
	Células gigantes bizarras
	Células rabdóides
	Áreas ricas em mucina
	Estroma mixóide
	Osteóide
	Células tipo osteoclastos

4.5 Imunoistoquímica

Ensaio imunoistoquímico foram executados para identificar a expressão das moléculas CD31 (objetivando ressaltar vasos sanguíneos em busca de

êmbolos neoplásicos), S-100 (para auxiliar na identificação de filetes neurais e com isso facilitar a definição de comprometimento dos mesmos pela neoplasia) e metalotioneína.

Nesse sentido, das amostras disponíveis (blocos histológicos, $n = 20$) foram obtidos cortes histológicos de 5 μ m de espessura. Esses foram então desparafinados em xilol e re-hidratados em soluções aquosas de concentração decrescente de etanol. Em seguida, foi feito bloqueio de peroxidase endógena com peróxido de hidrogênio a 3% em dois banhos de 15 minutos, e então os cortes foram submetidos a recuperação antigênica com solução de EDTA (1mM, pH 8.3) em três ciclos de 5 minutos cada em ambiente de microondas. Em seqüência, foi feita incubação a 4°C com anticorpos primários anti-CD31 (clone JC-70A, título de 1:150, Dako, EUA), anti-proteína S-100 (clone AB941, título de 1:600, Millipore, Temecula, EUA), e anti-metalotioneína (clone E9, título de 1:800, Dako, EUA), amplificando-se a reação com sistema de estreptavidina-biotina-peroxidase (kit LSAB⁺, Dako). Finalmente, a reação foi revelada com diaminobenzidina (DAB Chromogen System, SIGNET, New Jersey, EUA), contra-colorada com hematoxilina de Harris, desidratada em soluções aquosas de concentração crescente de etanol, diafanizadas e montadas com resina histológica.

Cada amostra foi então avaliada qualitativamente em busca dos eventos de interesse (embolização neoplásica e comprometimento neural, para CD31 e S-100, respectivamente), ou semi-quantitativamente para se avaliar a expressão da metalotioneína nas células tumorais.

Nesse último caso, para cada caso foram verificados dez campos histológicos em grande aumento, representativos da área de *hot spot*, ou seja de marcação mais freqüente e intensa da MT, determinando-se, para cada um deles, escores de marcação, relacionados ao padrão (0 – sem marcação, 1 – marcação citoplasmática, 2 – nuclear, 3 – citoplasmática e nuclear), intensidade (0 – sem marcação, 1 – marcação fraca, 2 – moderada, 3 – forte),

freqüência geral (0 – sem marcação, 1 – até 25% de células marcadas, 2 – entre 25 e 50% de células marcadas, 3 – entre 50 e 75% de positividade, 4 – acima de 75% de positividade), e freqüência de marcação nuclear (0 – sem marcação, 1 – até 25% de marcação, 2 – entre 25 e 75% de positividade, 3 – acima de 75% de positividade). Esses escores foram então somados para cada campo avaliado, e o escore total médio para os dez campos avaliados foram considerados como o índice de marcação de metalotioneína em cada tumor.

4.6 Análise estatística

Possíveis associações entre variáveis categóricas foram investigadas pela aplicação do teste exato de Fisher. Análises de correlação entre variáveis quantitativas foram avaliadas por teste de Spearman. Comparações entre médias de dois grupos foram executadas por teste *U* de Mann-Whitney. A capacidade de variáveis demográficas, clínicas, terapêuticas e moleculares em segregar grupos diferentes quanto à sobrevida global foi avaliada por gráficos obtidos pelo método de Kaplan-Meier e analisadas por teste de log-rank (Cox-Mantel). Para cada uma dessas análises, foram considerados como significativos valores de *p* menores que 5%. Os testes estatísticos foram executados com o programa Prism 5.0 (GraphPad Software, LaJolla, CA, EUA).

Finalmente, esse estudo foi previamente submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Nacional do Câncer, segundo o parecer 042/04, e conduzido de acordo com regulamentos éticos internacionais (**Anexo 1**).

5. RESULTADOS

A maioria dos pacientes eram homens, em proporção de 2,3:1 para mulheres. A idade na apresentação variou entre 31 e 77 anos (média de $56,1 \pm 13,0$ anos), com aproximadamente quatro em cada cinco pacientes apresentando-se com mais de 50 anos (**Figura 1**). Quinze pacientes eram tabagistas há mais de dez anos e oito eram ex-fumantes, totalizando frequência de 69,7% de história positiva para esse hábito. Nove eram etilistas crônicos.

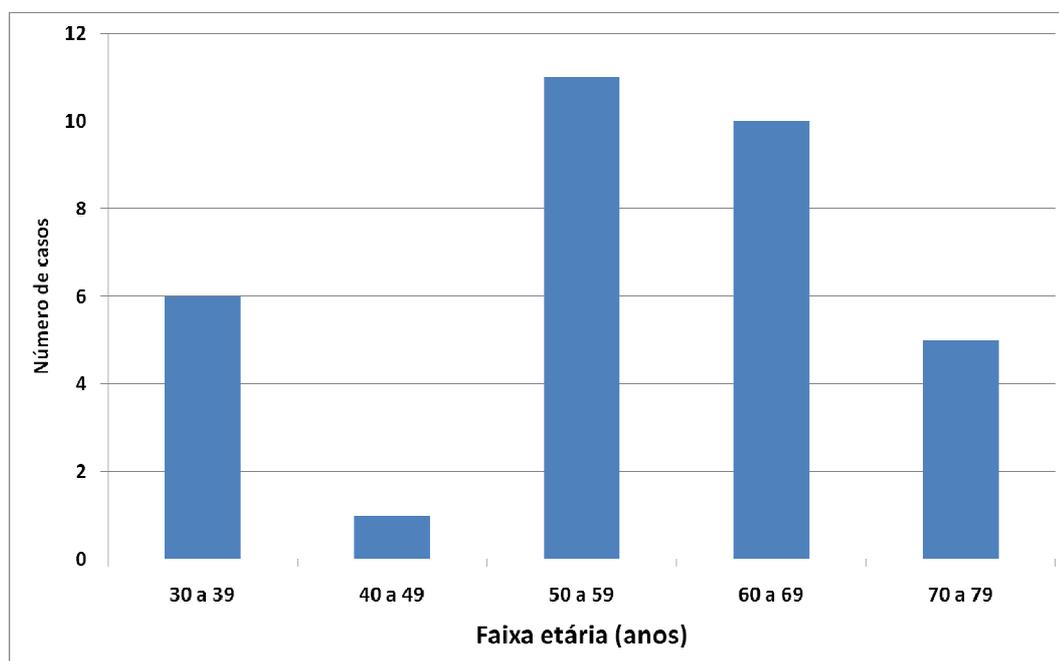


Figura 1. Distribuição de 33 casos de carcinoma de ducto salivar, avaliados no Instituto Nacional do Câncer de 1996 a 2006, segundo faixa etária do paciente no momento da consulta inicial na instituição.

Predominaram tumores em glândula parótida, seguidos por lesões intra-orais e então em glândula submandibular, como apresentado na **Figura 2**. Surpreendentemente, dois casos apresentaram tumores bilaterais sincrônicos em parótida, confirmados como CDS por exame histopatológico.

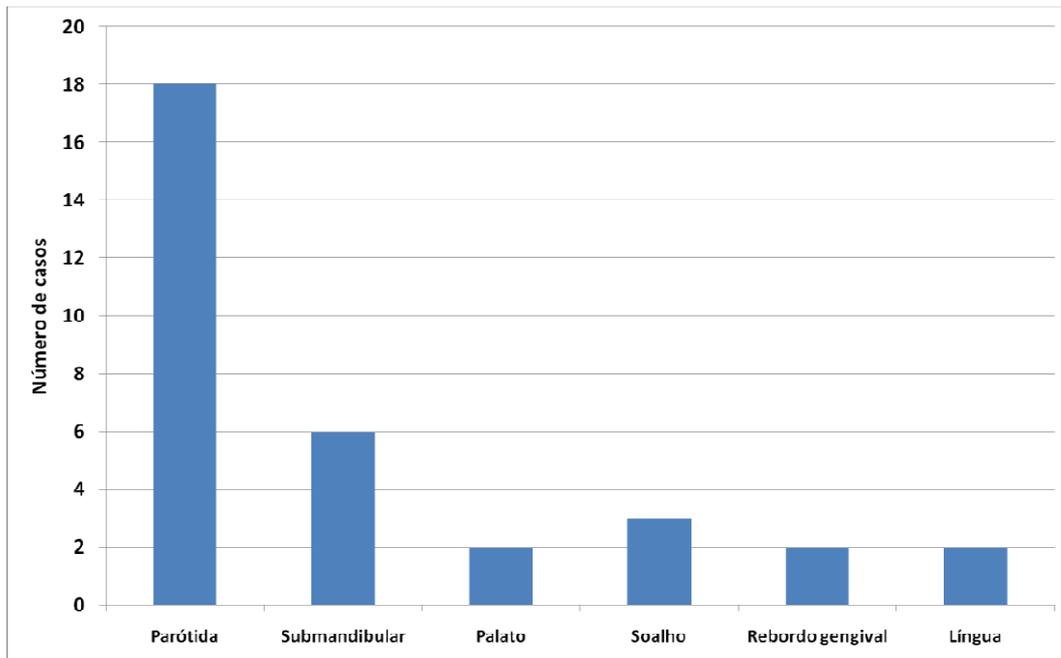


Figura 2. Distribuição de 33 casos de carcinoma de ducto salivar, avaliados no Instituto Nacional do Câncer de 1996 a 2006, segundo sítio anatômico da lesão (as lesões em rebordo gengival provavelmente são provenientes do trígono retromolar).

Os tumores eram assintomáticos em 25,8% dos pacientes, havendo dor em 61,3%, e paralisia ou parestesia na face em 22,6% dos casos. O tamanho das lesões variou de 1,0 a 25,0cm na maior dimensão (média de $5,5 \pm 4,5$ cm), com 45,5% dos casos apresentando-se com tamanho superior a 4 cm. Em média, as lesões estavam presentes por 19,8 ($\pm 57,9$) meses antes da consulta inicial, variando entre 1 e 264 meses. O tempo de evolução não se mostrou

associado significativamente ao sexo do paciente, sítio ou tamanho da lesão, ou ainda à presença de sintomas (**Tabela 1**). Nenhum caso teve registrada história prévia de adenoma pleomórfico.

Tabela 1. Comparação entre o tempo de evolução e variáveis demográficas e clínicas de 33 casos de carcinoma de ductos salivares, avaliados no INCA de 1996 a 2006.

		Evolução		<i>p</i> *
		Até 12 meses	> 12 meses	
Sexo	Feminino	5	5	0,10
	Masculino	18	4	
Glândula afetada	Maior	16	8	0,38
	Menor	8	1	
Sintomas	Ausentes	5	2	1
	Presentes	17	6	
Tamanho	Até 4cm	13	5	1,0
	Maior que 4cm	9	4	

* - Teste exato de Fisher.

O diagnóstico de CDS foi realizado basicamente após a ressecção do tumor, com apenas dois casos diagnosticados por biópsia (**Anexo 2**).

Quanto ao tratamento, quatro casos foram considerados diretamente fora de possibilidades terapêuticas, sendo encaminhados para cuidados paliativos. Dos demais, todos foram submetidos a tratamento cirúrgico local ou locorregional, com quase a metade tendo sido ainda tratada por irradiação adjuvante, conforme apresentado na **Tabela 2**.

Quanto aos critérios utilizados para a realização do esvaziamento cervical, dois casos tiveram a detecção do envolvimento linfonodal por exames clínicos e radiográficos, dois casos apenas por exames imaginológicos prévios revelando linfadenopatia e sem detecção no exame clínico, e outros cinco com a detecção de linfadenopatia apenas por exame clínico, os 12 casos restantes estavam sem dados específicos para essa manobra cirúrgica.

Tabela 2. Tipos de tratamento empregado para 33 casos de carcinoma de ductos salivares, avaliados no INCA de 1996 a 2006.

Tratamento	Número de casos
Ressecção do tumor primário (R1)	5 (15,2%)
R1 + esvaziamento cervical (EC)	4 (12,1%)
R1 + radioterapia (RxT)	6 (18,2%)
R1 + EC + RxT	14 (42,4%)
Fora de possibilidades terapêuticas (Não tratados)	4 (12,1%)

Dos 18 pacientes submetidos a esvaziamento cervical, 13 (72,2%) apresentaram metástases linfonodais confirmadas por exame histopatológico, resultando em frequência, em relação à casuística total, de 39,4% de disseminação regional. Por outro lado, nenhum paciente teve identificada metástase à distância antes do primeiro tratamento.

Durante o acompanhamento pós-terapêutico, recorrência foi observada em seis casos (20,7% dos 29 casos tratados), sendo quatro locais, uma

regional e uma sem registro de topografia, não se associando esse evento ao tipo de tratamento ou a margens cirúrgicas comprometidas (**Tabela 3**). Desses, três foram então considerados fora de possibilidades terapêuticas. Para os demais três pacientes com recidiva, um recebeu tratamento cirúrgico, outro radioterapia isolada e outro combinação de cirurgia e radioterapia, todos sobrevivendo por mais de cinco anos após o tratamento da recidiva.

Tabela 3. Comparação entre fatores terapêuticos e evento de recorrência locorregional após tratamento de 29 casos de carcinoma de ductos salivares, avaliados no INCA de 1996 a 2006.

		Recorrência		<i>p</i> *
		Não	Sim	
Tipo de tratamento	Cirurgia	7	2	1,0
	Cirurgia + RxT	16	4	
Margens cirúrgicas comprometidas	Não	18	5	1,0
	Sim	5	1	

* - Teste de Fisher.

Durante o acompanhamento, 14 (42,4%) pacientes apresentaram metástase à distância (pulmão, $n = 6$; ossos, $n = 5$; cérebro, $n = 2$ e região carotídea, $n = 1$), em média 21,1 meses após o tratamento inicial, variando entre 3 e 59 meses, com metade sendo identificada no primeiro ano. Houve coincidência de disseminação regional e distante em sete casos, sem, contudo existir associação significativa entre a esses eventos, conforme demonstrado na **Tabela 4**. Da mesma forma, o desenvolvimento de metástases (em

qualquer momento) não se associou à localização ou ao tamanho dos tumores, como mostrado na **Tabela 5**.

Tabela 4. Comparação entre a frequência de metástases regionais (N) e distantes (M), relativos a 33 casos de carcinoma de ductos salivares, avaliados no INCA de 1996 a 2006.

		M		<i>p</i> *
		Não	Sim	
N	Não	13	7	0,48
	Sim	6	7	

* - Teste de Fisher.

Tabela 5. Comparação entre a ocorrência de metástases e fatores clínicos de 33 casos de carcinoma de ductos salivares, avaliados no INCA de 1996 a 2006.

		Metástases		<i>p</i> *
		Não	Sim	
Sítio	Maior	11	13	0,70
	Menor	3	6	
Tamanho	Até 4cm	8	10	1,0
	Maior que 4cm	6	8	

* - Teste de Fisher.

A freqüência de características histopatológicas nos casos avaliados, correspondente à análise do material disponível após tratamento cirúrgico, é apresentada na **Tabela 6**. Achados que caracterizam variantes de CDS foram observados em raros casos, e sua expressividade não foi considerada suficiente para alterar (especificar) o diagnóstico de CDS convencional.

Comprometimento neural e êmbolos neoplásicos foram identificados em proporção importante dos tumores, havendo diferenças (não significativas) na freqüência de detecção quando comparadas as análises em coloração de HE e imunoistoquímica, como mostrado na **Tabela 7**. Nenhum dos casos apresentou área claramente compatível com adenoma pleomórfico.

Tabela 6. Freqüência de achados histopatológicos eventuais e variantes em 27 casos de carcinoma de ductos salivares, avaliados no INCA de 1996 a 2006.

Categoria	Achado histopatológico	Freqüência (%)
Eventual	Mitoses evidentes	86,4
	Nucléolos evidentes	86,4
	Hialinização focal	72,7
	Infiltrado linfoplasmocítico	100
	Calcificações	18,2
Variante	Áreas sarcomatóides	9,1
	Células gigantes bizarras	18,2
	Células rabdóides	4,6
	Áreas ricas em mucina	0
	Estroma mixóide	4,6
	Osteóide	9,1
	Células tipo osteoclastos	0

Tabela 7. Frequência de comprometimento neural e embolização neoplásica em carcinomas de ductos salivares, avaliados no INCA de 1996 a 2006, segundo metodologia de análise (HE = hematoxilina e eosina, $n = 27$; IQ = imunistoquímica, $n = 20$).

	HE	IQ
Comprometimento neural*	42,9%	50,0%*
Êmbolos neoplásicos**	71,4%	40,0%**

* Proteína S-100 utilizada para ressaltar filetes neurais.

**Antígeno CD31 utilizado para ressaltar vasos.

O tempo médio de seguimento dos pacientes foi de 45,6 ($\pm 47,8$) meses. Até a última revisão dos prontuários, 19 (57,6% de toda a casuística) pacientes vieram a óbito, em média 34,8 meses após a consulta inicial, dos quais 11 (57,9% dos pacientes que morreram) em decorrência de metástases à distância, quatro por evolução de doença primária (inicialmente considerados fora de possibilidade terapêutica), dois por recidiva locorregional, e dois por intercorrências durante o tratamento. Ao final, outros 11 pacientes (33,3%) estavam vivos sem doença e 3 (9%) estavam vivos com doença metastática.

Análise univariada de sobrevida mostrou associação de pior prognóstico com a ocorrência de metástases regionais, metástases à distância, margens cirúrgicas comprometidas e ausência de comedonecrose, com o parâmetro nucléolos evidentes se aproximando da significância estatística, como apresentado na **Figura 3**.

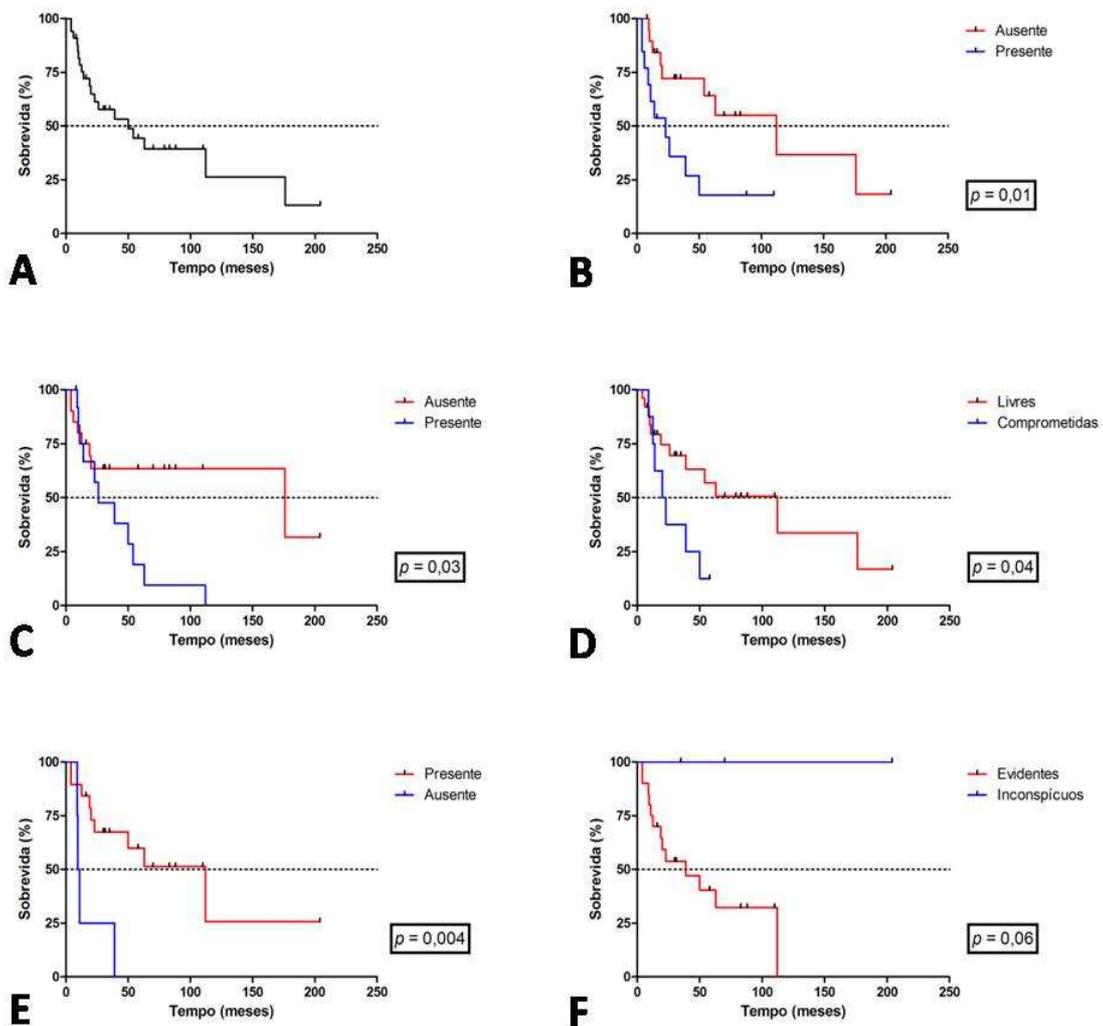


Figura 3 – Avaliação de parâmetros clínicos e histopatológicos em relação à sobrevida de pacientes com carcinomas de ducto salivar (A – sobrevida global; B – metástases cervicais; C – metástases à distância; D – margens cirúrgicas; E – comedonecrose; F – nucléolos).

A marcação imunoistoquímica da MT se mostrou predominantemente focal de moderada intensidade, em padrão predominantemente citoplasmático, conforme ilustrado na **Figura 4**. Não foi identificada clara marcação de células mioepiteliais na periferia dos nódulos tumorais. O índice médio de marcação foi

de 5,1 ($\pm 3,3$), e a segregação de grupos de pacientes segundo a média, mediana ou quartis desse índice não foi capaz de diferenciá-los significativamente quanto à sobrevida global. Por outro lado, tumores metastatizantes regionais ou à distância apresentaram índice maior do que os não metastatizantes, conforme apresentado na **Figura 5**.

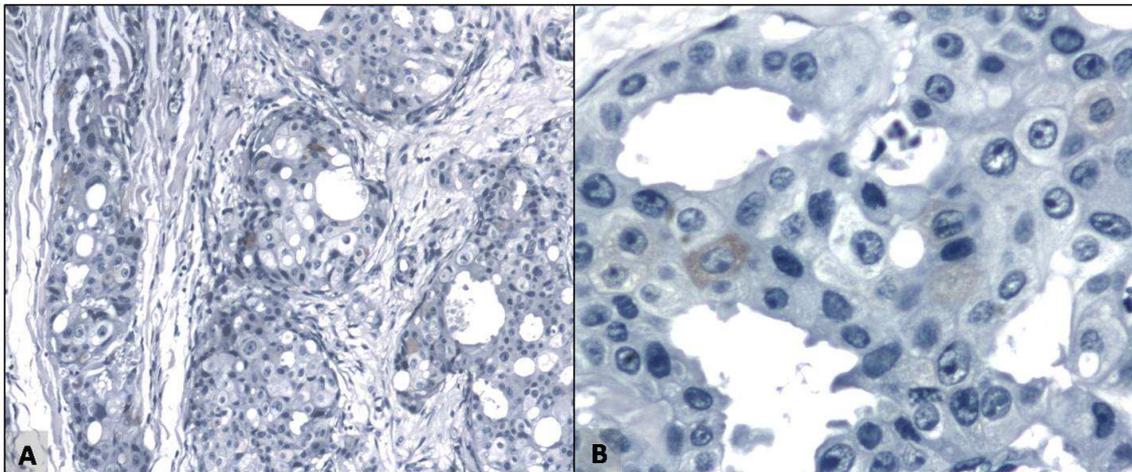


Figura 4. Marcação imunoistoquímica da metalotioneína em carcinomas de ducto salivar caracterizada por positividade focal e de moderada intensidade (A), em padrão citoplasmático (B). Estreptoavidina-biotina-peroxidase, aumento original de 10X (A) ou 40X(B).

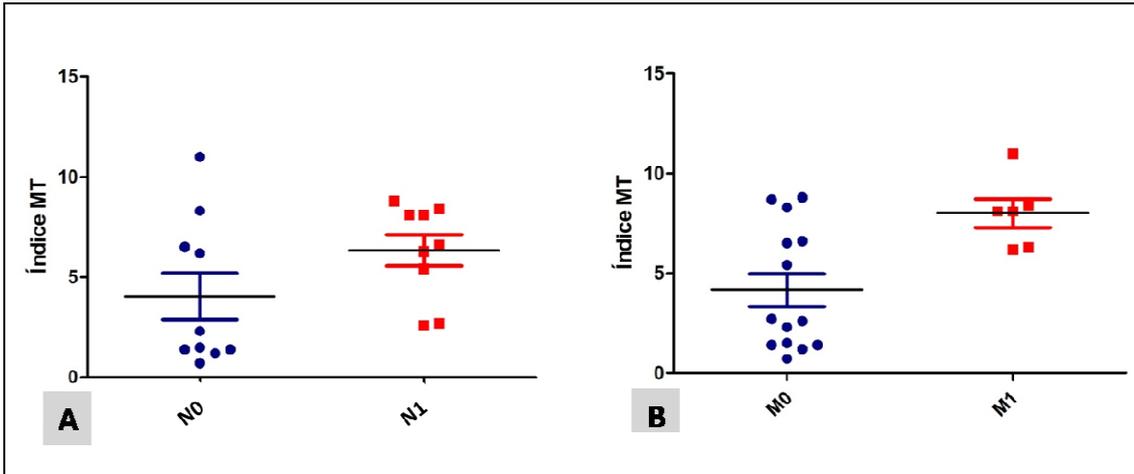


Figura 5. Índice de marcação da metalotioneína em carcinomas de ducto salivar, segundo perfil metastático (A – metástases regionais, $p = 0,08$, teste U de Mann-Whitney; B – metástases distantes, $p = 0,05$, teste U de Mann-Whitney).

6. DISCUSSÃO

O presente estudo apresenta dados demográficos, clínicos, histopatológicos, terapêuticos e prognósticos de 33 carcinomas de ducto salivar, e representa a maior casuística relatada sobre pacientes latino-americanos e uma das maiores de toda a literatura internacional sobre essa doença (Kashiwagi et al., 2009; Roh et al., 2008; Jaehne et al., 2005; Hosal et al., 2003; Etges et al., 2003; Guzzo et al., 1997; Martinez-Barba et al., 1997; Felix et al., 1996; Lewis et al., 1996; Barnes et al., 1994a; Delgado et al., 1993; Brandwein-Gensler et al., 2005a).

Os resultados aqui apresentados fortalecem a noção de que o CDS é um tumor que afeta predominantemente homens (69,7% nesse estudo) com mais de 50 anos de idade (78,8%). Todavia, não é possível traçar um perfil demográfico exclusivo para essa doença em relação a outros tumores de glândula salivar, tendo em vista notável sobreposição entre eles. Clinicamente, ocorre com maior frequência na glândula parótida (54,5% na presente casuística), podendo acometer a glândula submandibular e sítios intraorais. Na cavidade oral, são raros os relatos em língua (Watatani et al., 1991; Suzuki et al., 2006) ou rebordo gengival (Suzuki & Hashimoto, 1999), como o foram dois casos aqui descritos. Um achado ainda mais surpreendente da atual casuística foi o de dois pacientes com CDS bilaterais, sobre o qual não foi possível identificar relatos similares na literatura internacional. Por outro lado, ocorrência bilateral é um fenômeno bem conhecido para neoplasias epiteliais de glândulas salivares, tendo sido relatada mais usualmente para tumores de Warthin, oncocitomas, carcinomas de células acinares, adenomas de células basais e adenomas pleomórficos (Seifert & Donath, 1996; Silva et al., 2006; Cardoso et al., 2008).

A evolução das lesões previamente à avaliação inicial é extremamente variável (Guzzo et al., 1997), e aparentemente fatores tais como sexo do paciente, topografia, sintomas e tamanho da lesão não são determinantes para que o paciente procure atendimento, ao contrário de evidências anteriores para outros tumores de cabeça e pescoço (Scott et al., 2005). Dor e alterações sensoriais e motoras locais são usuais para o CDS, mas sua ocorrência não se associou ao tamanho dos tumores, mesmo considerando que cerca da metade dos casos se apresentaram com grandes dimensões (maior que 4 cm) já na primeira avaliação, em acordo com estudo prévio (Jaehne et al., 2005).

Histologicamente, o diagnóstico de CDS depende da associação de critérios específicos e acessórios que, entretanto, podem ser eventualmente observados em outros tumores (Ellis & Auclair, 2008). Provavelmente em decorrência disso, a revisão de lâminas, feita inicialmente para seleção de casos, identificou tumores com outros diagnósticos originais. Esse fato reforça a impressão de que existe claramente razoável dificuldade do diagnóstico de CDS, como de resto para os tumores de glândula salivar em geral (Anderson et al., 1992; Barnes et al., 1994a). Os achados histológicos mais característicos do CDS mostram ilhas tumorais sólidas com estruturas ductais (uniluminais ou multicísticas) e comedonecroses (Brandwein et al., 1990; Delgado et al., 1993). As células tumorais são tipicamente cuboidais, contendo núcleo ovóide e citoplasma eosinofílico. As características clinicopatológicas como notadas no presente estudo correspondem às descritas na literatura (Etges et al., 2003; Kashiwagi et al., 2009).

Parestesia ou paralisia facial são indicativos de comprometimento do nervo facial (Nabilli et al., 2007), cuja frequência de confirmação microscópica é usualmente alta, porém muito variável na literatura (Hoh et al., 2008; Hosal et al., 2003). Entretanto, a ocorrência de sintomas neurológicos periféricos e comprometimento neural confirmado histologicamente não mostraram associação significativa na presente amostra.

Metástases são freqüentes no CDS, e disseminação para linfonodos cervicais foi identificada em pouco menos da metade dos casos aqui relatados já no momento da primeira intervenção cirúrgica. Existem evidências de que êmbolos neoplásicos podem estar relacionados com o desenvolvimento de metástases (Hart, 2009), mas também não foi observada associação significativa entre esses dois fenômenos no presente estudo. Por outro lado, a freqüência de detecção de embolização tumoral foi menor quando utilizado marcador vascular em relação à análise em coloração de rotina, fato que pode estar relacionado ao fenômeno de mimetismo vascular por células tumorais (Hillen & Griffioen, 2007).

Protocolos terapêuticos não estão bem estabelecidos para o CDS, embora tratamentos locorregionais agressivos sejam mais recomendados (Guzzo et al., 1997; Jaehne et al., 2005). Concordando com essa observação, o emprego de tratamentos mais ou menos agressivos não modificou de forma significativa a ocorrência de recidivas ou mesmo a sobrevida dos pacientes avaliados no presente estudo. Assim, considerando que metástases à distância são eventos comuns e determinantes na história natural desse tumor (Bradley, 2001), é provável que a mais importante causa de falha do tratamento seja o fato de que os tratamentos usuais não têm efeito sobre microimplantes já instalados em outros órgãos. Dessa forma, torna-se imperativo a investigação sobre evidências prévias que sugeriram protocolos quimioterápicos hipoteticamente úteis para o tratamento do CDS, em particular relacionados a receptores hormonais (Prat et al. 2007; Nabilli et al., 2007; Cornolti et al., 2007; Fan et al., 2000). A raridade do tumor, contudo, pode dificultar tal avaliação em estudos clínicos.

A sobrevida de pacientes com CDS é relatada como significativamente menor que aquela de pacientes com outros carcinomas de glândula salivar, mostrando a agressividade dessa doença (Lima et al., 2005a). No presente estudo, óbito foi um evento freqüente (57,6% da casuística), três anos em média após o início do tratamento, em decorrência geralmente de metástases à

distância (57,9%). A presença de metástases, margens cirúrgicas comprometidas e ausência de comedonecrose se associaram a pior sobrevida. Quanto a ausência de comedonecrose se associar a um pior prognóstico, possivelmente ocorre, por que em tumores mais avançados o índice apoptótico mediado pela p53 diminui, em relação diretamente proporcional a comedonecrose (Hosaka et al., 2006). Outros fatores mencionados em trabalhos prévios, tais como sítio anatômico, tamanho da lesão (Delgado et al., 1993; Hosal et al., 2003; Van Heerden et al., 2003), não mostraram capacidade de diferenciar os casos quanto ao prognóstico.

A evolução de adenomas pleomórficos para CDS pode ocorrer, bem como é possível a disseminação metastática de carcinoma ductal de mama para a região maxilofacial, fatos que podem complicar a definição diagnóstica e tornar eventualmente necessário o uso de marcadores tais como o antígeno carcinoembriogênico e receptores de andrógeno e estrógeno (Wick et al., 1998; Grenko et al., 1995). Todavia, tais situações não foram identificadas na presente casuística.

Existe certa divergência na literatura quanto à nomenclatura do CDS. Alguns autores preferem denominar um subtipo desse tumor, aparentemente menos agressivo, como carcinoma *in situ* ou intraductal, de baixo grau, (Delgado et al., 1993; Khurana et al., 1997; Brandwein et al., 1990), o qual seria uma fase de transição para o carcinoma ductal convencional, de alto grau (Araújo et al., 2002; Simpson et al., 2008). Como uma evolução desse conceito, foi apresentada recentemente a denominação de cistoadenocarcinoma cribriforme de baixo grau para esse subtipo (Brandwein-Gensler et al., 2005b). Na presente amostra, nenhum caso com tal característica foi identificado.

Para o diagnóstico diferencial entre o carcinoma de ducto salivar e o carcinoma metastático de mama, foi analisada a história clínica pregressa de todos os pacientes. Na relação do diagnóstico diferencial dos casos relatados em nosso estudo, houve casos encaminhados de outra instituição com o

diagnóstico de carcinoma indiferenciado. Em estudo retrospectivo realizado no INCA de 1974 a 1998 o carcinoma indiferenciado da parótida apresentou uma baixa frequência de (1,6%) (Lima et al., 2005a), diferente de outras (Magnano et al.,1999; Brito et al., 2001; Renehan et al.,1999) que apresentaram um incidência mais alta, entre 12 e 18% .

A MT apresentou marcação focal de moderada intensidade das células neoplásicas, tanto nas áreas intraductais quanto nas invasivas do CDS, sempre em baixa frequência. Áreas com células mioepiteliais claramente positivas circundando ilhotas tumorais foram extremamente raras, corroborando os achados histopatológicos em carcinomas ductais invasivos de mama (Bier et al., 1994; Gurel et al., 2005; Goulding et al., 1995). Talvez mais importante, a marcação foi menos intensa e freqüente que o relatado para o carcinoma adenóide cístico (Brazão-Silva, comunicação pessoal; Alves et al., 2007). Outro tumor agressivo e com marcação escassa de MT é o adenocarcinoma de próstata, com o qual o CDS compartilha outras características, em particular a expressão do receptor de andrógeno (Moussa et al., 1997; Fan et al., 2000 Cherian et al., 2003). No presente estudo, a opção pela complementação terapêutica com uso da radioterapia não modificou o prognóstico. Todavia, esse problema não parece se relacionar com radiorresistência específica, já que os óbitos ocorreram em maior parte em decorrência de metástases à distância. Assim, a expressão pouco significativa da MT também não parece ter interferido com a resposta dos tumores primários (e metástases regionais) à irradiação.

Na análise de sobrevida global, o índice de expressão da MT não se mostrou significativamente associado com o prognóstico dos pacientes, de forma similar ao já descrito para carcinoma ductal de mama (Oyama et al., 1996). Por outro lado, a maior expressão em tumores metastatizantes sugere que essa molécula tenha alguma influência ou seja necessária para a progressão tumoral do CDS, também de forma similar ao relatado para o

carcinoma ductal invasivo de mama (Schimid et al., 1993; Haerslev et al., 1994; Haerslev et al., 1995).

7. CONCLUSÃO

Em conclusão, o CDS é um tumor de alto grau de malignidade, caracterizado por frequente envolvimento de linfonodos cervicais e metástases à distância, além de dor e paralisia facial. A metalotioneína como uma molécula expressa em carcinoma ductal de mama invasivo, apesar de sua baixa expressão do CDS, apresentou uma maior expressão em tumores metastáticos. Mais importante, os protocolos terapêuticos atuais parecem não ser capazes de interferir no curso clínico da doença, usualmente de prognóstico ruim, de forma que novas alternativas devem ser buscadas para o manejo dos pacientes, buscando um melhor prognóstico.

REFERÊNCIAS

1. Al-Khateeb TH, Ababneh KT. Salivary tumors in north Jordanians: a descriptive study. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 2007;103(5):53-59.
2. Alves SM, Cardoso SV, Bernardes VF, Machado VC, Mesquita RA, Carmo MAV, et al. Metallothionein immunostaining in adenoid cystic carcinomas of the salivary glands. **Oral Oncol.** 2007;43:252-256.
3. Ansari MH. Salivary gland tumors in an Iranian population: a retrospective study of 130 cases. **J Oral Maxillofac Surg.** 2007;65(11):2187-2194.
4. Araújo VC, Souza SOM, Sesso A, Sotto MN, Araújo NS. Salivary duct carcinoma: ultrastructural and histogenetic considerations. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.** 1987; 63; 592–596.
5. Araújo VC, Loducca SVL, Sobral APV, Kowalski LP, Soares F, Araújo NS. Salivary duct carcinoma: cytokeratin 14 as a marker of in-situ intraductal growth. **Histopathol.** 2002; 41: 244–249.
6. Ashraf A, Shaikh AS, Kamal F, Sarfraz R, Bukhari MH. Ashraf A, *et al.* **Diagn Cytopathol.** 2009 Nov 30. [no prelo]
7. Akrish S, Peled M, Ben-Izhak O, Nagler RM. Malignance salivary gland tumors and cyclo-oxygenase-2: A histopathological and immunohistochemical analysis with implications on histogenesis. **Oral Oncol** 2009; doi: 10.1016/j.oraloncology.2009.07.016.
8. Anderson C, Muller R, Piorkowaki R, Knibbs DR, Vignoti P. Intraductal carcinoma of minor salivary gland. **Cancer.** 1992; 69:609–614.
9. Apostolova MD, Cherian MG. Nuclear localization of metallothionein during cell proliferation and differentiation. **Cell. Mol. Biol (Noisy-le-grand).** 2000;46:347–356.
10. Barnes L., Rao U., Contis L., Krause J, Schwartz A, Scalamogna P, et al. Salivary duct carcinoma. Part II: Immunohistochemical evaluation of 13

- cases for estrogen and progesterone receptors, cathepsin D, and c-erbB-2 protein. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol.** 1994;78:74–80.
11. Barnes L, Rao U, Krause L, Lydia Contis, Schwartz A, Scalamogna P, et al. Salivary duct carcinoma. Part I: a clinicopathologic evaluation and DNA image analysis of 13 cases with review of the literature. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol.** 1994;78:64–73.
 12. Bakka A, Endresen L, Johnson ABS, Edminson PD, Rugstad HE. Resistance against cisplatin in cultured cells with high content of metallothionein. **Toxicol. Appl. Pharmacol.** 1981;61:215–226.
 13. Bier B, Douglas-Jones A, Totsch M, Dockhorn-Dworniczak B, Bocker W, Jasani B, et al. Immunohistochemical demonstration of metallothionein in normal breast tissue and benign and malignant breast lesions. **Breast Cancer Res Treat.** 1994;30(3):213–221.
 14. Brandwein MS, Jagirdar J, Patil J, Biller H, Kaneko M. Salivary duct carcinoma (cribriform salivary carcinoma of excretory ducts). **Cancer.** 1990;65:2307–2314.
 15. Brandwein-Gensler M, Hille J, Wang BY, Urken M, Gordon R, Wang BY, et al. Low-grade salivary duct carcinoma: description of 16 cases. **Am J Surg Pathol.** 2004;28:1040–1044.
 16. Brandwein-Gensler, Skálová A, Nagao T. Salivary duct carcinoma. **Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours.** Kleihues P, Sobin LH, series eds. World Health organization Classification of Tumours. Lyon, France: IARC Press; 2005. p.236-237.
 17. Brandwein-Gensler, Gnepp DR. Low-grade cribriform Cystadenocarcinoma. In: Barnes L. **Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours.** Kleihues P, Sobin LH, series eds. World Health organization Classification of Tumours. Lyon, France: IARC Press; 2005. p.233-234.
 18. Brito Santos IR, Kowalski LP, de Araújo VC, Logullo A, Magrin J. Multivariate analysis of risk factors for neck metastases in surgically treated parotid carcinomas. **Arch Otolaryngol Head Neck Surg.** 2001;127(1):56-60.

19. Calero C, Pastore A, Storchi OF, et al. Parotid gland carcinoma: analysis of prognostic factors. **Ann Otol Rhinol Laryngol.** 1998;107: 969–73.
20. Cardoso SV, Souza KCN, Faria PR, et al. Warthin's Tumor at the Brazilian National Cancer Institute: Additional Evidence of Homogeneous Sex Prevalence and Association with Other Neoplasms. **ORL** 2008;70:339–343.
21. Chauvin P.J., Cherian M.G., Wysocki G.P., Pringle G.A. A comparison of metallothionein expression in human normal and neoplastic salivary gland tissue using immunohistochemistry, **Toxicologist.** 1992;12: 379.
22. Chen KT, Hafez GR: Infiltrating salivary duct carcinoma. A clinicopathologic study of five cases. **Arch Otolaryngol.** 1981; 107:37.
23. Chen KT. Intraductal carcinoma of the minor salivary gland. **J Laryngol Otol.** 1983;97(2):189-191.
24. Chen AM, Garcia J, Lee NY, Bucci MK, Eisele DW. Patterns of nodal relapse after surgery and postoperative radiation therapy for carcinomas of the major and minor salivary glands: what is the role of elective neck irradiation? **Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.** 2007; 67(4):988–994.
25. Cheuk W., Miliauskas J, Chan J.K.C. Intraductal carcinoma of the oral cavity: A case report and a reappraisal of the concept of pure ductal carcinoma in situ in salivary duct carcinoma. **Am J Surg Pathol.** 2004;28:266–270.
26. Cheuk W, Chan JK. Advances in salivary glands pathology. **Histopathology.** 2007;51(1):1-20. Epub 2007 May 31. Review.
27. Cheung RL, Russell AC, Freeman J. Does routine preoperative imaging of parotid tumours affect surgical management decision making? **J Otolaryngol Head Neck Surg.** 2008 Jun;37(3):430-434.
28. Cherian MG, Jayasurya A, Bay BH. Metallothioneins in human tumors and potential roles in carcinogenesis. **Mutat Res.** 2003;533:201–209.
29. Cornolti G, Ungari M, Morassi ML, et al. Amplification and Overexpression of HER2/neu Gene and HER2/neu Protein in Salivary Duct Carcinoma of the Parotid Gland. **Arch Otolaryngol Head Neck Surg.** 2007;133(10):1031-1036.

30. Costello LC, Franklin RB: Novel role of zinc in the regulation of prostate citrate metabolism and its implications in prostate cancer. **Prostate**. 1998; 35:285-296.
31. Coleman MP, Babb P, Daniecki P, et al. Cancer survival trends in England and Wales, 1971–1995: deprivation and NHS region. **Studies in medical and population subjects no. 61**. London: The Stationary Office. 1999.
32. Cousins RJ, Liuzzi JP, Lichten LA: Mammalian zinc transport, trafficking, and signals. **J Biol Chem**. 2006; 281: 24085-24089.
33. Coyle P, Philcox JC, Carey LC, Rofe AM. Metallothionein: the multipurpose protein. **Cell Mol Life Sci**. 2002;59:627–47.
34. Culig Z, Hobisch A, Cronauer MV, et al. Regulation of prostatic growth and function by peptide growth factors. **Prostate**. 1996;28:392-405.
35. Dhanuthai K, Boonadulyarat M, Jaengjongdee T, Jiruedee K. A clinicopathologic study of 311 intra-oral salivary gland tumors in Thais. **J Oral Pathol Med**. 2009;38:495–500.
36. Dee S, Massod S, Issacs JH, Hardy NM. Cytomorphologic features of salivary duct carcinoma on fine needle aspiration biopsy. A case report. **Acta Cytol**. 1993;37:539-542.
37. Delgado R, Vuitch F, Albores-Saavedra J. Salivary duct carcinoma. **Cancer**. 1993;72(5):1503-1512.
38. Delgado R, Klimstra D, Albores-Saavedra J. Low-grade salivary duct carcinoma: a distinctive variant with a low-grade histology and a predominant intraductal growth pattern. **Cancer**. 1996; 78; 958–967.
39. Deng DX, Chakrabarti S, Waalkes MP, Cherian MG. Metallothionein and apoptosis in primary human hepatocellular carcinoma and metastatic adenocarcinoma. **Histopathology**. 1998; 32;340–347.
40. Drivas EI, Skoulakis CE, Symvoulakism EK, Bizaki AG, Lachanas VA, Bizakis JG. Pattern of parotid gland tumors on Crete, Greece: a retrospective study of 131 cases. **Med Sci Monit**. 2007;13(3):136-140.
41. Ellis GL, Auclair PL. **Atlas of Tumor Pathology: Tumors of the Salivary Glands**, in Ellis GL, Auclair PI(eds): Atlas of Tumor Pathology (5rd Series,

- Fascicle 19) Armed Forces. Institute of Pathology, Washington, DC: AFIP;2008, p. 322-332.
42. Elsheikh TM, Bernacki EG, Pisharodi L. Fine-needle aspiration cytology of salivary duct carcinoma. **Diagn Cytopathol**. 1994;11:47-51.
 43. El Sharkawy SL, Farrag ARH. Mean Nuclear Area and Metallothionein Expression in Ductal Breast Tumors: Correlation With Estrogen Receptor Status. **Appl Immunohistochem Mol Morphol**, 2008;16:108–112.
 44. Evans HL, Batsakis GR. Polymorphous low grade adenocarcinoma of minor salivary glands. **Cancer**. 1984; 53: 935-942.
 45. Epivatianos A, Dimitrakopoulos J, Trigonidis G. Intraoral salivary duct carcinoma: a clinicopathological study of four cases and review of the literature. **Ann Dent**. 1995.;54(1-2):36-40.
 46. Etges A, Pinto DS, Kowalski LP, et al. Salivary duct carcinoma: immunohistochemical profile of an aggressive salivary gland tumour. **J Clin Pathol**. 2003;56:914–918.
 47. Fan C-Y, Wang J, Barnes EL. Expression of androgen receptor and prostatic specific markers in salivary gland duct carcinoma. An immunohistochemical analysis of 13 cases and review of the literature. **Am J Surg Pathol**. 2000;24:579–586.
 48. Fan CY, Melhem MF, Hosal AS, Grandis JR, Barnes EL. Expression of androgen receptor, epidermal growth factor receptor, and transforming growth factor alpha in salivary duct carcinoma. **Arch Otolaryngol Head Neck Surg**. 2001;127(9):1075-9.
 49. Feng P, Liang JY, Li TL, Guan ZX, Zou J, Franklin R *et al.*: Zinc induces mitochondria apoptogenesis in prostate cells. **Mol Urol**. 2000; 4: 31-36.
 50. Feng P, Li TL, Guan ZX, Franklin RB, Costello LC: Direct effect of zinc on mitochondrial apoptogenesis in prostate cells. **Prostate**. 2002;52: 311-318.
 51. Felix A., El-Naggar A.K., Press M.F., Ordonez N.G., Fonseca I., Tucker S.L., et al. Prognostic significance of biomarkers (c-erbB-2, p53, proliferating cell nuclear antigen, and DNA content) in salivary duct carcinoma **Human Pathology**. 1996;27 (6):561-566.

52. Florentine BD, Staymates B, Rabadi M, Barstis J, Black A; Cancer Committee of the Henry Mayo Newhall Memorial Hospital. The reliability of fine-needle aspiration biopsy as the initial diagnostic procedure for palpable masses: a 4-year experience of 730 patients from a community hospital-based outpatient aspiration biopsy clinic. **Cancer**. 2006;107(2):406-416.
53. Fresno M, Wu W, Rodriguez JM, Nadji M. Localization of metallothionein in breast carcinomas. An immunohistochemical study. **Virchows Arch. A Pathol. Anat. Histopathol**. 1993;423; 215–219.
54. Fritz A, Percy C, Jack A, Shanmugaratnam K, Sobin LH, Parkin DM, Whelan S. **International Classification of Diseases for Oncology**. 3rd ed. World Health Organization: Geneva, 2000.
55. Fyrat P, Cramer H, Feczko JD, Kratzer S, Layfield LJ, Eisenhut CC, Glant MD. Fine needle aspiration biopsy of salivary duct carcinoma: report of five cases. **Diagn Cytolpathol** 1997;16:526-530.
56. Gal R, Strauss M, Zohar Y, Kessler E. Salivary duct carcinoma of the parotid gland: cytologic and histopathologic study. **Acta Cytol**. 1985;29:454-488.
57. Gao Y, Han Z, Liu X. Metallothionein expression and its significance in salivary gland tumors. **Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi**. 1997;32(5):282–284.
58. Garland TA, Innes DJ, Fechner RE. Salivary duct carcinoma: an analysis of four cases with review of literature. growth pattern. **Am J Clin Pathol**. 1984;81:436–441.
59. Gill J, Angelo N, Yeong ML, McIvor N. Salivary duct carcinoma arising in IgG4-related autoimmune disease of the parotid gland. **Hum Pathol**. 2009;40(6):881-886. Epub 2009 Feb 5.
60. Goode RK, Auclair PL, Ellis GL: Mucoepidermoid carcinoma of the major salivary glands: Clinical and histopathological analysis of 234 cases with evaluation of grading criteria. **Cancer**. 1998;82:1217-1224.

61. Goulding H, Jasani B, Pereira H, Reid A, Galea M, Bell JA, et al. Metallothionein expression in human breast cancer. **Br J Cancer.** 1995;72(4):968–972.
62. Grenko RT, Gemryd P, Tylor M, et al. Salivary duct carcinoma. **Histopathol.** 1995;26(3):261-6.
63. Gurel V, Sens DA, Somji S, Garret SH, Weiland T, Sens MA. Posttranscriptional regulation of metallothionein isoform 1 and 2 expression in the human breast and the MCF-10A cell line. **Toxicol Sci.** 2005;85(2):906–15.
64. Guzzo M, Di Palma S, Grandi C *et al.*, Salivary duct carcinoma: clinical characteristics and treatment strategies. **Head Neck.** 1997;19:126–133.
65. Haerslev T, Jacobsen K, Nedergaard L, Zedeler K. Immunohistochemical detection of metallothionein in primary breast carcinomas and their axillary lymph node metastases. **Pathol Res Pract.** 1994;190(7):675-81.
66. Haerslev T, Jacobsen GK, Zedeler K. The prognostic significance of immunohistochemically detectable metallothionein in primary breast carcinomas. **APMIS.** 1995; 103(4); 279–285.
67. Haines K, Murad T. Infiltrating salivary duct carcinoma of the parotid [Abstract 214]. **Lab Invest.** 1989;60:36A.
68. Harbo G, Bundgaard T, Pedersen D, Søggaard H, Overgaard J. Prognostic indicators for malignant tumours of the parotid gland. **Clin Otolaryngol.** 2002;27: 512–516.
69. Haq F, Mahoney M, Koropatnick J. Signaling events for metallothionein induction. **Mutat Res.** 2003;533:211–26.
70. Hart IR. New evidence for tumour embolism as a mode of metastasis. **J Pathol.** 2009;219(3):275-6.
71. Hecht D, Jung D, Prabhu VV, Munson PJ, Hoffman MP, Kleinman HK. Metallothionein promotes laminin-1-induced acinar differentiation in vitro and reduces tumor growth in vivo. **Cancer research.** 2002;62, 5370–5374.
72. Henley JD, Seo IS, Dayan D, et al. Sarcomatoid salivary duct carcinoma of the parotid gland. **Hum Pathol** 2000;31:208- 213.

73. Hillen F, Griffioen AW. Tumor vascularization: sprouting angiogenesis and beyond. **Cancer Metastasis Rev.** 2007;26:489-502.
74. Hirschi SD, Templer JW, Miick R, Frazier SR. Pathology Quiz Case 2. **Arch Otolaryngol Head Neck Surg.** 2009;133(9):1.
75. Hogg RP, Ayshford C, Watkinson JC. Parotid duct carcinoma arising in bilateral chronic sialadenitis. **J Laryngol Otol.** 1999; 113: 686-688.
76. Hosal AS, Fan C, Barnes L, Myers EN Salivary duct carcinoma. **Otolaryngol Head Neck Surg.** 2003; 129(6):720-725.
77. Hosaka N, Ryu T, Cui W, Li Q, Nishida A, Miyake T. Relationship of p53, Bcl-2, Ki-67 index and E-cadherin expression in early invasive breast cancers with comedonecroses as an accelerated apoptosis. **J Clin Pathol.** 2006;59:692-698.
78. Howlett DC. Diagnosing a parotid lump: fine needle aspiration cytology or core biopsy? **Br J Radiol.** 2006;79(940):295-297.
79. Huh KH, Heo MS, Lee SS, Choi SC. Three new cases of salivary duct carcinoma in the palate: A radiologic investigation and review of the literature. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 2003;95: 752-760.
80. Irie Y, Mori F, Keung WM, Mizushima Y, Wakabayashi K. Expression of neuronal growth inhibitory factor (metallothionein-III) in the salivary gland. **Physiol Res.** 2004;53(6):719-23.
81. Ioachim E, Kamina S, Kontostolis M, Lolis D, Agnantis NJ. Immunohistochemical localization of metallothionein in human breast cancer in comparison with cathepsin D, stromelysin-1, CD44, extracellular matrix components, p53, Rb, C-erbB-2, EGFR, steroid receptor content and proliferation. **Anticancer Res.** 1999; 19(3A):2133-2139.
82. Ide F, Mishima K, Saito I. Circumscribed salivary duct carcinoma of the palate: a non-threatening variant. **Histopathology.** 2004;45(1):89-91.
83. Ito FA, Ito K, Vargas PA, de Almeida OP, Lopes MA. Salivary gland tumors in a Brazilian population: a retrospective study of 496 cases. **Int J Oral Maxillofac Surg.** 2005;34(5):533-536.

84. Izawa JI, Moussa M, Cherian MG, Doig G, Chin JL. Metallothionein expression in renal cancer. **Urology**. 1998; 52; 767–772.
85. Instituto Nacional do Câncer – Ministério da Saúde. Tumores das Glândulas Salivares. **R Bras. Cancerol**. 2002; 48(1): 9-12.
86. Imagawa M, Ishikawa Y, Shimano H, Osada S, Nishihara T. CTG triplet repeat in mouse growth inhibitory factor / metallothionein III gene promoter represses the transcriptional activity of the heterologous promoters. **J. Biol. Chem**. 1995; 270;20898–20900.
87. Jaehne M, Roeser K, Jaekel T, et al. Clinical and immunohistologic typing of salivary duct carcinoma: A report of 50 cases. **Cancer**. 2005;103:2526–2533.
88. Jan IS, Chung PF, Weng MH, Huang MS, Lee YT, Cheng TY, *et al.* Analysis of fine-needle aspiration cytology of the salivary gland. **J Formos Med Assoc**. 2008;107(5):364-370.
89. Jones AV, Craig GT, Speight PM, Franklin CD. Epub 2007 Sep 6. The range and demographics of salivary gland tumours diagnosed in a UK population. **Oral Oncol**. 2008;44(4):407-417.
90. Jin R, Chow VT, Tan PH, Dheen ST, Duan W, Bay BH. Metallothionein 2A expression is associated with cell proliferation in breast cancer. **Carcinogenesis**. 2002;23;81–86.
91. Joseph MG, Banerjee D, Kocha W, Feld R, Stitt LW, Cherian MG. Metallothionein expression in patients with small cell carcinoma of the lung: correlation with other molecular markers and clinical outcome. **Cancer**. 2001;92;836–842.
92. Kägi, J.H. and Kojima, Y., Chemistry and biochemistry of metallothionein, **Experientia**. 1987; 52:25-61.
93. Kamio N, Tanaka Y, Mukai M, et al. A hybrid carcinoma: adenoid cystic carcinoma and salivary duct carcinoma of the salivary gland. An immunohistochemical study. **Virchows Arch**. 1997;430:495- 500.

94. Kane WJ, McCaffrey TV, Olsen KD, Lewis JE. Primary parotid malignancies. A clinical and pathologic review. **Arch Otolaryngol Head Neck Surg.** 1991; 117(3):307-315.
95. Kapadia SB, Barnes L. Expression of androgen receptor, gross cystic disease fluid protein, and CD44 in salivary duct carcinoma. **Mod Pathol.** 1998;11:1033–1038.
96. Kashiwagi N, Takashima S, Tomita Y, et al. Salivary duct carcinoma of the parotid gland: clinical and MR features in six patients. **Brit J Radiol.** 2009; 82:800–804.
97. Kawahara A, Harada H, Akiba J, Kage M. Salivary Duct Carcinoma Cytologically Diagnosed Distinctly From Salivary Gland Carcinomas With Squamous Differentiation. **Diagn. Cytopathol.** 2008;36:485–493.
98. Kleinsasser O., Klein H.J. and Hubner G. Salivary duct carcinoma: a group of salivary gland tumors analogous to mammary duct carcinoma. **Arch Klin Exp Ohren Nasen Kehlkopfheilkd .** 1968;192(1):100–105.
99. Klijanienko J, Vielh P. Cytologic characteristics and histomorphologic correlation of 21 salivary duct carcinomas. **Diagn Cytopathol.** 1998;19:333–337.
100. Klaassen CD, Choudhuri S, McKim JM, Lehman-McKeeman LD, Kershaw WC. **Degradation of metallothionein, in Metallothionein III: Biological roles and medical implications.** Suzuki KT, Imura N, Kimura M, Eds., Basel, Birkhäuser Verlag. 1993: 207-224.
101. Khurana KK, Pitman MB, Powers CN, Korourian S, Bardales RH, Stanley MW. Diagnostic pitfalls of aspiration cytology of salivary duct carcinoma. **Cancer (Cancer Cytopathol).** 1997;81:373-378.
102. Kumar RV, Kini L, Bhargava AK, Mukherjee G, Hazarika D, Shenoy AM, Anantha N. Salivary duct carcinoma. **J Surg Oncol.** 1993;54(3):193-198.
103. Lewis JE, McKinney BC, Weiland JH, Ferreiro JA, Olsen KD. Salivary Duct Carcinoma Clinicopathologic and Immunohistochemical Review of 26 Cases. **Cancer.** 1996;77:223-230.

104. Lewis JE, Olsen KD, Sebo TJ. Carcinoma ex pleomorphic adenoma: pathologic analysis of 73 cases. **Hum Pathol**. 2001 Jun;32(6):596-604.
105. Li J, Wang BY, Nelson M, et al. Salivary adenocarcinoma, not otherwise specified: A collection of orphans. **Arch Pathol Lab Med**. 2004; 128:1385–1394.
106. Lima RA, Tavares MR, Dias FL, Kligerman J, Nascimento MF, Barbosa MM, et al. Clinical prognostic factors in malignant parotid gland tumors. Clinical prognostic factors in malignant parotid gland tumors. **Otolaryngol Head and Neck Surg**. 2005;133:702-708.
107. Lima SS, Soares AF, Amorim RFB, Freitas RA. Epidemiologic profile of salivary gland neoplasms: analysis of 245 cases. **Rev Bras Otorrinolaringol**. 2005;71(3): 335-340.
108. Locati LD, Rinaldi G, Bossi P, Dagrada GP, Quattrone P, Cantú G, et al. Herceptin plus chemotherapy in relapsed and/or metastatic salivary gland cancer. **Oral Oncol**. 2005;41(1):97-8.
109. Long-jiang L, Yi L, Yu-ming W, Hua L, Hong-wei Z. Clinical analysis of salivary gland tumor cases in West China in past 50 years. **Oral Oncology** 2008; 44(2);187–192.
110. Lopes MA, de Abreu Alves F, Levy BA, de Almeida OP, Kowalski LP. Intraoral salivary duct carcinoma: case report with immunohistochemical observations. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral. Radiol Endod**. 2001;91(6):689-692.
111. Maaita JK, Al-Kaisi N, Al-Tamimi S, Wraikat A. Croat Med J. Salivary gland tumors in Jordan: a retrospective study of 221 patients. **Croat Med J**. 1999;40(4):539-542.
112. Magnano M, Gervasio CF, Cravero L, Machetta G, Lerda W, Beltramo G, Orecchia R, Ragona R, Bussi M. Treatment of malignant neoplasms of the parotid gland. **Otolaryngol Head Neck Surg**. 1999;121(5):627-632.
113. Margoshes M, Vallee BL. A cadmium protein from equine kidney cortex. **J. Am. Chem. Soc**. 1957;79:4813–4814.

114. Martinez-Barba E., Cortes-Guardiola J.A., Minguela-Puras A., Torroba-Caron A., Mendez-Trujillo S., Bermejo-Lopez J. Salivary duct carcinoma: Clinicopathological and immunohistochemical studies. **Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery**. 1997;25(6):328-334.
115. Miles AT, Hawksworth GM, Beattie JH, Rodilla V. Induction, regulation, degradation, and biological significance of mammalian metallothioneins. **Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.** 2000;35:35–70.
116. Mitropoulos D, Kiroudi A, Theocharis S et al. Prognostic significance of metallothionein expression in renal cell carcinoma. **Eur. Urol.** 2001; 39; 187.
117. Motoori K, Iida Y, Nagai Y, Yamamoto S, Ueda T, Funatu H, et al. MR imaging of salivary duct carcinoma. **Am J Neuroradiol.** 2005;26:1201–6.
118. Moussa M, Kloth D, Peers G, Cherian MG, Frei JV, Chin JL, Metallothionein expression in prostatic carcinoma: correlation with Gleason grade, pathologic stage, DNA content and serum levels of prostate specific antigen. **Clin. Invest. Med.** 1997; 20:371–380.
119. Murrah VA, Batsakis JG. Salivary duct carcinoma. **J Craniomaxillofac Surg.** 1994;103:244-247.
120. Nabilli V., Tan J.W., Bhuta S., et al. Salivary duct carcinoma: A clinical and histologic review with implications for trastuzumab therapy. **Inc. Head Neck.** 2007; 29: 907–912.
121. Nagao T, Sugano I, Ishida Y, Matsuzaki O, Konno A, Kondo Y, Nagao K. Carcinoma in basal cell adenoma of the parotid gland. **Pathol Res Pract.** 1997;193(3):171-178.
122. Nagao T, Gaffey TA, Visscher DW, Kay PA, Minato H, Serizawa H, et al. Invasive micropapillary salivary duct carcinoma: a distinct histologic variant with biologic significance. **Am J Clin Pathol.** 2004;28:319-326.
123. Nagao T, Gaffey TA, Serizawa H, Iwaya K, Watanabe A, Yoshida T, et al. Sarcomatoid variant of salivary duct carcinoma. Clinicopathologic and

- immunohistochemical study of eight cases with review of the literature. **Am J Clin Pathol.** 2004;122:222-231.
124. Nagel WW, Vallee BL: Cell cycle regulation of metallothionein in human colonic cancer cells. **Proc Natl Acad Sci USA.** 1995;92:579-583.
 125. Nasser SM, Faquin WC, Dayal Y. Expression of androgen, estrogen, and progesterone receptors in salivary gland tumors. Frequent expression of androgen receptor in a subset of malignant salivary gland tumors. **Am J Clin Pathol.** 2003;119:801-806.
 126. Nashed M, Casasola RJ. Biological therapy of salivary duct carcinoma. **J Laryngol Otol.** 2009;123(2):250-252.
 127. Negri T, Tamborini E, Dagrada GP, Dagrada GP, Greco A, Staurengo S, et al. TRK-A, HER-2/neu, and KIT expression/activation profiles in salivary gland carcinoma. **Transl Oncol.** 2008;1(3):121-128.
 128. Nielsen AE, Bohr A, Penkowa M. The balance between life and death of cells: roles of metallothioneins. **Biomarker Insights.** 2007;2:99–111.
 129. Ochicha O, Sani M, Aminu M., Akinfenwa A.A histopathologic study of salivary gland tumors in Kano, northern Nigeria. **Indian J Pathol and Microbiol.** 2009;52(4):473-6.
 130. Ojedaa LP, Domeisena H, Narvaeza M, Tixib R, Vivarc N. Malignant Salivary Gland Tumors in Quito, Ecuador. **ORL** 2000;62:296–302.
 131. Orell SR. Diagnostic difficulties in the interpretation of fine needle aspirates of salivary gland lesions: the problem revisited. **Cytopathology.** 1995;6:285-300.
 132. Otoh EC, Johnson NW, Olasoji H, Danfillo IS, Adeleke OA. Salivary gland neoplasms in Maiduguri, north-eastern Nigeria. **Oral Dis.** 2005;11(6):386-91.
 133. Ofner D, Maier H, Riedmann B et al. Immunohistochemical metallothionein expression in colorectal adenocarcinoma: correlation with tumor stage and patients survival. **Virchows Arch.** 1994;425:491–497.
 134. Oyama T, Take H, Hikino T, Iino Y, Nakajima T.

- Immunohistochemical expression of metallothionein in invasive breast cancer in relation to proliferative activity, histology and prognosis. **Oncology**. 1996;53;12–17.
135. Padberg BC, Sasse B, Huber A, Pfaltz M. Sarcomatoid salivary duct carcinoma. **A Diag Pathol**. 2005;9:86–92
136. Panemangalore M, Banerjee D, Onosaka S, Cherian MG. Changes in intracellular accumulation and distribution of metallothionein in rat liver and kidney during postnatal development. **Dev Biol**. 1983;97:95–102.
137. Prat A, Parera M, Reyes V, et al. Successful treatment of pulmonary metastatic salivary ductal carcinoma with trastuzumab-based therapy. **Head Neck**. 2007; 30:680-683.
138. Mukunyadzi P, Ai L, Portilla D, Barnes L, Fan CY. Expression of Peroxisome Proliferator–Activated Receptor Gamma in Salivary Duct Carcinoma: Immunohistochemical Analysis of 15 Cases. **Mod Pathol**. 2003;16(12):1218–1223.
139. Palmiter RD, Findley SD, Whitmore TE, Durnam DM. MT-III, a brain-specific member of the metallothionein gene family. **Proc. Natl Acad. Sci. USA**. 1992; 89: 6333–6337.
140. Penkowa M. Metallothioneins are multipurpose neuroprotectants during brain pathology. **FEBS J**. 2006a;273:1857–70.
141. Peles E, Ben-Levy R, Tzahar E, Liu N, Wen D, Yarden Y. Cell-type specific interaction of Neu differentiation factor (NDF/heregulin) with Neu/HER-2 suggests complex ligand-receptor relationships. **EMBO J**. 1993 Mar;12(3):961-71.
142. Pesce C, Colacino R, Buffa P. Duct carcinoma of the minor salivary glands: a case report. **J Laryngol Otol**. 1986;100(5):611-613.
143. Ponniah I, Murali GM, SureshKumar P, Kumaran MG, Shaheen A. Salivary duct carcinoma of the palate. **Indian J Dent Res**. 2005;16(4):167-70.
144. Preis M, Soudry E, Bachar G, Shufel H, Feinmesser R, Shpitzer T. Predicting facial nerve invasion by parotid gland carcinoma and outcome of

- facial reanimation. **Eur Arch Otorhinolaryngol.** 2009 Apr 7. [Epub ahead of print].
145. Prasad ML, Barbacioru CC, Rawal YB, Husein O, Wen P. Hierarchical cluster analysis of myoepithelial/basal cell markers in adenoid cystic carcinoma and polymorphous low-grade adenocarcinoma. **Modern Pathology.** 2008; 21;105–114.
 146. Przewoźny T, Stankiewicz C. Neoplasms of the parotid gland in northern Poland, 1991-2000: an epidemiologic study. **Eur Arch Otorhinolaryngol.** 2004;261(7):369-375.
 147. Quaife CJ, Findley SD, Erickson JC et al. Induction of a new metallothionein isoform (MT-IV) occurs during differentiation of stratified squamous epithelia. **Biochemistry.** 1994; 33; 7250–7259.
 148. Roh JL, Cho KJ, Kwon GY, Choi SH, Nam SY, Kim SY. Prognostic values of pathologic findings and hypoxia markers in 21 patients with salivary duct carcinoma. **J. Surg Oncol.** 2008;97:596–600.
 149. Renehan AG, Gleave EN, Slevin N J, McGurk M. Clinicopathological and treatment-related factors influencing survival in parotid cancer. **Br J Cancer.** 1999;80(8):1296-1300.
 150. Satoh M, Cherian MG, Imura N, Shimizu H. Modulation of resistance to anticancer drugs by inhibition of metallothionein synthesis. **Cancer Res.** 1994; 54:5255–5257.
 151. Satko I, Stanko P, Longauerová I. Salivary gland tumours treated in the stomatological clinics in Bratislava. **J Craniomaxillofac Surg.** 2000;28(1):56-61.
 152. Sato M, Kondoh M. Recent studies on metallothionein: protection against toxicity of heavy metals and oxygen free radicals. **Tohoku J Exp Med.** 2002;196:9–22.
 153. Schmid KW, Ellis IO, Gee JM et al. Presence and possible significance of immunohistochemically demonstrable metallothionein over-expression in primary invasive ductal carcinoma of the breast. **Virchows Arch. A Pathol. Anat. Histopathol.** 1993; 422; 153–159.

154. Schneider AB, Lubin J, Ron E, et al. Salivary gland tumors after childhood radiation treatment for benign conditions of the head and neck: dose–response relationships. **Radiat Res**. 1998;149:625–30.
155. Seifert G, Batsakis JG, Brocheriou C, et al. **World Health Organization**. International Histological Classification of Tumours. In: Histological typing of salivary gland tumours. 2nd ed. Berlin: Springer-Verlag; 1991.
156. Seifert G, Sobin LH. **World Health Organization**. International histological classification of tumours: histological typing of salivary gland tumours, 2nd edn. Springer-Verlag, Berlin; 1991.
157. Seifert G, Donath K. Hybrid tumours of salivary glands. Definition and classification of five rare cases. **Eur J Cancer B Oral Oncol**. 1996;32:251–259.
158. Silva SJ, Costa Junior GT, Brant Filho AC, et al. Metachronous bilateral pleomorphic adenoma of the parotid gland. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**. 2006;101(3):333-8.
159. Skálová A, Michal M, Simpson RH, Stárek I, Prádná J, Pfaltz M. Sclerosing polycystic adenosis of parotid gland with dysplasia and ductal carcinoma in situ. Report of three cases with immunohistochemical and ultrastructural examination. **Virchows Arch**. 2002;440(1):29-35.
160. Simpson RH, Prasad AR, Lewis JE, Skalova A, David L. Mucin-rich variant of salivary duct carcinoma: A clinicopathologic and immunohistochemical study of four cases. **Am J Surg Pathol**. 2003;27(8):1070-1079.
161. Simpson RH, Desai S, Di Palma S. Salivary duct carcinoma in situ of the parotid gland. **Histopathology**. 2008;53(4):416-425.
162. Speight PM, Barret AW. Salivary gland tumours. **Oral Diseases**. 2002;8:229-40.
163. Spiro RH. Salivary neoplasms: overview of a 35-year experience with 2,807 patients. **Head Neck Surg**. 1986;8(3):177-184.

164. Steiner MS. Review of peptide growth factors in benign prostatic hyperplasia and urological malignancy. **J Urol.** 1995;153:1085-1096.
165. Spitz MR, Tilley BC, Batsakis JG, Gibeau JM, Newell GR. Risk factors for major salivary gland carcinoma. A case-comparison study. **Cancer.** 1984;54:1854-9.
166. Subhashraj K. Salivary gland tumors: a single institution experience in India. **Br J Oral Maxillofac Surg.** 2008;46(8):635-638.
167. Sunardhi-Widyaputra S, Van den Oord JJ, Van Houdt K, De Ley B, Van Damme B. Identification of metallothionein- and parathyroid hormone-related peptide (PTHrP)-positive cells in salivary gland tumours. **Pathol Res Pract.** 1995;191(11):1092-1098.
168. Skalova A, Starek I, Vanecek T, Kucerová V, Plank L, Szépe P, et al. Expression of HER-2/neu gene and protein in salivary duct carcinomas of parotid gland as revealed by fluorescence in-situ hybridization and immunohistochemistry. **Histopathology.** 2003;42:348-56.
169. Suzuki H, Hashimoto K. Salivary duct carcinoma in the mandible: report of a case with immunohistochemical studies. **Br J Oral Maxillofac Surg.** 1999;37(1):67-9.
170. Suzuki M, Suzukawa K, Ogawa M, et al. Salivary duct carcinoma with comedonecrosis in the mobile portion of the tongue. **J Laryngol Otol.** 2006;120(2):e13.
171. Sygut D, Bień S, Ziółkowska M, Sporny S. Immunohistochemical expression of androgen receptor in salivary gland cancers. [abstract]. **Pol J Pathol.** 2008;59(4):205-210.
172. Tai SK, Tan OJ, Chow VT, Jin R, Jones JL, Tan PH, et al. Differential expression of metallothionein 1 and 2 isoforms in breast cancer lines with different invasive potential: identification of a novel nonsilent metallothionein-1H mutant variant. **Am J Pathol.** 2003;163(5):2009-2019.
173. Tanimoto K, Akbar SM, Yamauchi Y, Michitaka K, Horiike N, Onji M. Immunohistochemical localization of metallothionein in hepatocellular

- carcinoma: preferential expression in non-cancerous cirrhotic nodules. **Oncol. Rep.** 1998;5(4):805–809.
174. Tan LG, Khoo ML. Accuracy of fine needle aspiration cytology and frozen section histopathology for lesions of the major salivary glands. **Ann Acad Med Singapore.** 2006;35(4):242-248.
175. Tatemoto Y, Ohno A, Osaki T. Low malignant intraductal carcinoma on the hard palate: a variant of salivary duct carcinoma? **Eur J Cancer B Oral Oncol.** 1996;32B(4):275-277.
176. Terhaard CHJ, Lubsen H, Van der Tweel I, et al: Salivary gland carcinoma: Independent prognostic factors for locoregional control, distant metastases and overall survival—**Results of the Dutch Head and Neck Oncology Cooperative Group.** **Head Neck.** 2004 26:681-693.
177. Thackray AC, Sobin LH. **World Health Organization:** international histological classification of tumours: histological typing of salivary gland tumours. Springer-Verlag, Berlin; 1972.
178. Thirumoorthy N, Manisenthil Kumar KT, Shyam Sundar A, Panayappan L, Chatterjee M. Metallothionein: an overview. **World J Gastroenterol.** 2007;13(7):993–6.
179. Tian Z., Li L., Wang L., et al. Salivary gland neoplasms in oral and maxillofacial regions: a 23-year retrospective study of 6982 cases in an eastern Chinese population. **Int. J. Oral Maxillofac. Surg.** 2009; Nov 29.
180. Tilakaratne WM, Jayasooriya PR, Tennakoon TM, Saku T. Epithelial salivary tumors in Sri Lanka: a retrospective study of 713 cases. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 2009;108(1):90-8.
181. Theocharis S, Karkantaris C, Philipides T et al. Expression of metallothionein in lung carcinoma: correlation with histological type and grade. **Histopathology.** 2002;40:143–151.
182. Theocharis SE, Margeli AP, Klijanienko JT, Kouraklis GP. Metallothionein expression in human neoplasia. **Histopathology.** 2004;45:103–18.

183. Tuzel E, Kirkali Z, Yorukoglu K, Mungan MU, Sade M. Metallothionein expression in renal cell carcinoma: subcellular localization and prognostic significance. **J. Urol.** 2001; 165; 1710–1713.
184. Tortoledo ME, Luna MA, Batsakis JG. Carcinomas ex pleomorphic adenoma and malignant mixed tumors: histomorphologic indexes. **Arch Otolaryngol.** 1984;110:172-176.
185. Tsé LLY, Finkelstein SD, Siegler RW, Barnes L. Osteoclast-type Giant Cell Neoplasm of Salivary Gland. A Microdissection-based Comparative Genotyping Assay and Literature Review Extraskelatal “Giant Cell Tumor of Bone” or Osteoclast-type Giant Cell “Carcinoma”? **Am J Surg Pathol.** 2004;28:953–961.
186. Tumores das glândulas salivares. Conduas do INCA/MS – Procedures. **Rev Bras de Cancerologia.** 2002;48(1):9-12.
187. Uchida Y, Takio K, Titani K, Ihara Y, Tomonaga M. The growth inhibitory factor that is deficient in the Alzheimer’s disease brain is a 68 aminoacid metallothionein-like protein. **Neuron.**1991; 7(2): 337–347.
188. Yamada K, Shinohara H, Takai Y, Mori M. Monoclonal antibody-detected vimentin distribution in pleomorphic adenomas of salivary glands. **J Oral Pathol.** 1988;17:348-353.
189. Yamamoto H, Uryu H, Segawa Y, Tsuneyoshi M. Aggressive invasive micropapillary salivary duct carcinoma of the parotid gland. **Pathology International.** 2008;58:322–326.
190. van den Oord JJ, Sunardhi-Widyaputra S, Van Damme B. Monoclonal antibody to liver metallothionein: a novel marker for myoepithelial cells. **Path Res Pract.** 1993;189(10):1187–1190.
191. Van Heerden WF, Raubenheimer EJ, Swart TJ, Boy SC. Intraoral salivary duct carcinoma: a report of 5 cases. **J Oral Maxillofac Surg.** 2003;61(1):126-131.
192. Van Krieken JHJM. Prostate marker immunoreactivity in salivary gland neoplasms. A rare pitfall in immunohistochemistry. **Am J Surg Pathol.** 1993;17:410–114.

193. Vargas PA, Gerhard R, Araújo Filho VJ, de Castro IV. Salivary gland tumors in a Brazilian population: a retrospective study of 124 cases. **Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo**. 2002;57(6):271-276.
194. Vuhahula EA. Salivary gland tumors in Uganda: clinical pathological study. **Afr Health Sci**. 2004;4(1):15-23.
195. Yap X, Tan HY, Huang J, Lai Y, Yip GW, Tan PH, Bay BH. Over-expression of metallothionein predicts chemoresistance in breast cancer. **J Pathol**. 2009;217(4):563-570.
196. Yoshimura Y, Tawara K, Yoshigi J, Nagaoka S. Concomitant salivary duct carcinoma of a minor buccal salivary gland and papillary cystadenoma lymphomatosum of a cervical lymph node: report of a case and review of the literature. **J Oral Maxillofac Surg**. 1995;53(4):448-453.
197. Watatani K, Shirasuna K, Aikawa T, Matsuya T. Intraductal carcinoma of the tongue. Report of a case. **Int J Oral Maxillofac Surg**. 1991;20(3):175-176.
198. Wick MR, Ockner DM, Millis SE, Ritter JH, Swanson PE. Homologous carcinomas of the breasts, skin, and salivary glands. A histologic and immunohistochemical comparison of ductal mammary carcinoma, ductal sweat gland carcinoma, and salivary duct carcinoma. [abstract lb110]. **Am J Clin Pathol**. 1998;109(1):75-84.
199. Wei H, Desouki MM, Lin S, Xiao D, Franklin RB, Feng P. Differential expression of metallothioneins (MTs) 1, 2, and 3 in response to zinc treatment in human prostate normal and malignant cells and tissues. **Mol Cancer**. 2008;7(7):1476-4598.
200. Zhang S, Bao R, Bagby J, Abreo F. Fine needle aspiration of salivary glands: 5-year experience from a single academic center. **Acta Cytol**. 2009;53(4):375-382.
201. Zbaren P, Schupbach J, Nuyens M, et al. Carcinoma of the parotid gland. **Am J Surg**. 2003;186:57– 62.

- 202.** Zohar Y, Shem-Tov Y, Gal R. Salivary duct carcinoma in major and minor salivary glands. A clinicopathological analysis of four cases. **J Craniomaxillofac Surg.** 1988;16(7):320-323.
- 203.** Zurrada S, Alasio L, Tradati N, Bartoli C, Chiesa F, Pilotti S. Fine-needle aspiration of parotid masses. **Cancer.** 1993;72(8):2306-2311.

ANEXOS

Anexo 1– Documentação de análise por Comitê de Ética institucional.

INCA
INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER

MINISTÉRIO DA SAÚDE

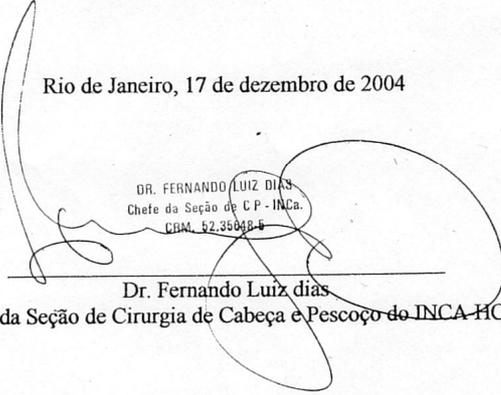

MINISTÉRIO DA SAÚDE
INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER
HOSPITAL DO CÂNCER

DECLARAÇÃO

Declaro para os devidos fins, que a Coordenação de Pesquisa do Instituto Nacional de Câncer-INCA/MS, aprovou os projetos de pesquisa abaixo relacionados, sob a coordenação dos Professores Drs. Fernando Luiz Dias (Chefe da Seção de Cirurgia de Cabeça e Pescoço do INCA-HCI) e Adriano Mota Loyola (Laboratório de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia), assim identificados:

- 1) Avaliação do Potencial Metastático e da Vascularização nas Neoplasias Epiteliais de Glândulas Salivares (Reg. CPQ 42/04)
- 2) Estudo Clínico-Patológico das Neoplasias de Glândulas Salivares em Crianças e Adolescentes (Reg. CPQ 050/03).

Rio de Janeiro, 17 de dezembro de 2004


DR. FERNANDO LUIZ DIAS
Chefe da Seção de CP - INCA.
CRM. 52.35848-6

Dr. Fernando Luiz dias
Chefe da Seção de Cirurgia de Cabeça e Pescoço do INCA-HCI

nº 010

Anexo 2 – Dados demográficos e clínicos dos pacientes avaliados.

Caso	Sexo ¹	Idade (anos)	Evolução (meses)	Sítio	Tamanho (cm)	PBA ²	Diagnóstico	Tratamento ³	
1	0364	M	64	3	PARÓTIDA	6,0	1	CIRURGIA	3
2	6662	M	31	4	PALATO DURO	1,0	0	CIRURGIA	3
3	2432	M	63	5	SUBMANDIBULAR	7,0	0	CIRURGIA	4
4	1282	M	38	3	SUBMANDIBULAR	7,5	1	CIRURGIA	2
5	3969	M	55	3	PARÓTIDA	8,0	1	BIÓPSIA	4
6	8137	F	65	2	PALATO DURO	5,0	0	CIRURGIA	2
7	3940	M	55	48	PARÓTIDA	10,0	1	CIRURGIA	3
8	3275	F	66	8	SUBMANDIBULAR	-	0	CIRURGIA	1
9	2320	F	72	24	PARÓTIDA	4,0	0	CIRURGIA	3
10	5698	F	36	60	SUBMANDIBULAR	1,1	0	CIRURGIA	2
11	6496	M	57	8	PARÓTIDA	7,0	1	CIRURGIA	1
12	2931	M	60	12	PARÓTIDA	1,0	1	CIRURGIA	2
13	6855	M	54	6	ASSOALHO	3,0	0	CIRURGIA	3
14	2338	M	40	3	LÍNGUA	4,0	0	CIRURGIA	2
15	4171	M	33	3	PARÓTIDA	5,0	1	CIRURGIA	2
16	5411	M	50	12	LÍNGUA	10,0	1	BIÓPSIA	4
17	8373	M	64	24	PARÓTIDA	8,0	0	CIRURGIA	2
18	1355	M	65	12	SUBMANDIBULAR	3,0	1	CIRURGIA	2
19	2056	M	69	48	PARÓTIDA	4,0	1	CIRURGIA	1
20	1010	M	77	12	SUBMANDIBULAR	4,5	1	CIRURGIA	1
21	7163	M	61	12	ASSOALHO	3,5	0	CIRURGIA	2
22	0495	F	50	1	REBORDO	4,0	0	CIRURGIA	2
23	1323	M	55	36	ASSOALHO	4,0	0	CIRURGIA	3
24	2641	M	54	3	PARÓTIDA	6,0	1	CIRURGIA	2
25	3239	F	57	3	PARÓTIDA	4,0	1	CIRURGIA	2
26	8048	F	70	6	PARÓTIDA	1,5	1	CIRURGIA	1
27	7848	M	73	6	PARÓTIDA	4,0	0	CIRURGIA	2
28	0393	M	38	12	RETROMOLAR	4,0	2	CIRURGIA	2
29	5995	F	53	24	PARÓTIDA	13,0	0	CIRURGIA	2
30	4755	M	52	5	PARÓTIDA	2,5	0	CIRURGIA	1
31	6709	F	74	300	PARÓTIDA	25,0	3	CIRURGIA	2
32	4975	M	68	6	PARÓTIDA	2,0	0	CIRURGIA	2
33	4071	F	33	216	PARÓTIDA	2,5	2	CIRURGIA	2

¹ M: masculino; F: feminino.

² 0: não realizada; 1: lesão maligna; 2: lesão benigna; 3: dado não registrado.

³ 1: Ressecção do tumor primário (C1) + Radioterapia (Rtx); 2: C1+EC+RTX;
3: C1; 4: Fora de possibilidades terapêuticas.