



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
E SAÚDE**

EDVAL REGINALDO TENÓRIO JÚNIOR

**TUMOR DE WARTHIN: UM ESTUDO DE CASOS E DE
EXPRESSÃO IMUNOISTOQUÍMICA DE MASTÓCITOS**

Salvador
2021

EDVAL REGINALDO TENÓRIO JÚNIOR

TUMOR DE WARTHIN: UM ESTUDO DE CASOS E DE EXPRESSÃO IMUNOISTOQUÍMICA DE MASTÓCITOS

Dissertação apresentada como requisito para a obtenção do grau de Mestre em Odontologia e Saúde, pela Faculdade de Odontologia, da Universidade Federal da Bahia.

Orientador: Prof. Dr. Jean Nunes dos Santos

Salvador
2021

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Universitário de Bibliotecas (SIBI/UFBA),
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

TENORIO JÚNIOR, EDVAL REGINALDO
TUMOR DE WARTHIN: UM ESTUDO DE CASOS E DE
EXPRESSÃO IMUNOISTOQUÍMICA DE MASTÓCITOS / EDVAL
REGINALDO TENORIO JÚNIOR. -- SALVADOR - BA, 2021.
41 f. : il

Orientador: JEAN NUNES DOS SANTOS.
Dissertação (Mestrado - ODONTOLOGIA) --
Universidade Federal da Bahia, FACULDADE DE
ODONTOLOGIA - UFBA, 2021.

1. CISTADENOMA PAPILAR LINFOMATOSO. 2. NEOPLASIAS
DE GLÂNDULAS SALIVARES. 3. MASTÓCITOS. I. DOS SANTOS,
JEAN NUNES. II. Título.



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
ODONTOLOGIA E SAÚDE**

TERMO DE APROVAÇÃO

C.D. EDVAL REGINALDO TENÓRIO JUNIOR

**“TUMOR DE WHARTIN: UM ESTUDO DE CASOS E DE
EXPRESSÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA DE MASTÓCITOS”**

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Jean Nunes dos Santos (Orientador)

Professor da Universidade Federal da Bahia – Faculdade de Odontologia

Prof. Dra. Aguida Cristina Gomes Henriques Leitão (Examinador Interno)

Professora da Universidade Federal da Bahia – Faculdade de Odontologia

Prof. Dr. Márcio Campos Oliveira (Examinador Externo)

Professor da Universidade Estadual de Feira de Santana.

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, pela vida e por sempre iluminar minha trajetória, mostrando-me o caminho do bem e por manter com saúde minha família.

Aos **meus pais**, maiores responsáveis pela força e incentivo para minha educação e dos meus irmãos, além modelarem nosso caráter, são os mais belos exemplos de amor e carinho.

Aos **meus irmãos**, pela amizade e por sempre estarem presentes, a cada ano, os laços são cada vez mais fortes.

Ao meu orientador, **Professor Jean Nunes**, por toda a sabedoria, paciência e disponibilidade. Sua cobrança, conselhos e experiência aumentaram ainda mais a admiração que tenho por vossa pessoa. Serei sempre grato por todos os ensinamentos.

À **Faculdade de Odontologia – UFBA** por ter me acolhido desde a graduação, passando pela residência em Cirurgia Bucomaxilofacial e agora o mestrado, lá se foram 10 anos de casa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia e Saúde, na pessoa da professora **Águida Henriques Leitão**, pelo carinho e disponibilidade, pelas inúmeras ações e preocupações com cada discente, fazendo com que as coisas funcionassem da melhor forma, sempre buscando o melhor para o programa.

À amiga **Viviane Palmeira**, no qual foi meu braço direito na confecção das reações imunoistoquímicas. Além de longas conversas e conselhos no laboratório. Sinto-me honrado em fazer parte do seu círculo social.

À **Viviane Sarmiento**, minha professora, chefe e conselheira. Uma das pessoas mais inteligentes e compreensivas que tenho a honra de conviver. Um poço de conhecimento e alto astral. Sua alegria e sapiência como coordena o serviço de odontologia HUPES – UFBA é um exemplo para todos.

Aos amigos da **turma do mestrado**, em especial a Bruno Matos, Mayara Simões, Naiadja Cerqueira, Yann Bastos e Willian Carvalho, pela contribuição que cada um teve no meu crescimento pessoal e profissional. Além dos muitos momentos de leveza e conselhos.

A **Suely e Oswaldo**, secretários do mestrado, por sempre mostrarem solicitude, quando precisei.

Ao **CAPES**, pelo apoio financeiro que permitiu a realização deste trabalho.

**“Não há saber mais ou saber menos; há saberes diferentes”
(Paulo Freire)**

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo estudar por meio da imunohistoquímica, a participação de mastócitos em uma série de tumor de Warthin, bem como descrever suas características demográficas. A amostra foi composta por 11 casos de tumores de Warthin. Para a avaliação dos mastócitos foram quantificadas as células imunorreativas aos marcadores *mast cell triptase*, em 10 campos (400x). Foram utilizados o teste T e a Correlação de Pearson para análise estatística. Foi observado na população, predominância pelo sexo masculino (72,7%), localização 100% em glândula parótida, o tratamento foi a parotidectomia (100%). A análise da expressão de mastócitos pela estatística ($p < 0,05$), não revelou diferença significativa entre mastócitos x idade ($p 0,69$) e mastócitos x gênero ($p 0,46$). Os resultados demográficos do presente estudo corroboram com dados encontrados na literatura e apontam para uma possível participação dos mastócitos no desenvolvimento tumoral.

Palavras-chave: Cistadenoma papilar linfomatoso; neoplasias de glândulas salivares; mastócitos

ABSTRACT

The present study aimed to study, through immunohistochemistry, the participation of mast cells in a Warthin tumor series, as well as to describe their demographic characteristics. The sample consisted of 11 cases of Warthin's tumors. For the evaluation of mast cells, the immunoreactive cells were quantified to the mast cell tryptase markers, in 10 fields (400x). The T test and Pearson's correlation were used for statistical analysis. It was observed in the population, predominance by the male sex (72.7%), 100% location in the parotid gland, the treatment was parotidectomy (100%). The analysis of mast cell expression by statistics ($p < 0.05$), did not reveal a significant difference between mast cells x age ($p 0.69$) and mast cells x gender ($p 0.46$). The demographic results of the present study corroborate data found in the literature and point to a possible participation of mast cells in tumor development.

Keywords: Papillary lymphomatous cystadenoma; salivary glands neoplasm; mast cells

Sumário

1. INTRODUÇÃO	10
2. REVISÃO DA LITERATURA	12
2.1 Histórico e definição.....	12
2.2 Patogênese	12
2.3 Aspectos Clínicos.....	13
2.4 Diagnóstico Diferencial	15
2.5 Exames Complementares.....	15
2.5.1 Punção Aspirativa por Agulha Fina.....	15
2.5.2 Core biopsy.....	16
2.5.3 Ultrassonografia	16
2.5.4 Tomografia Computadorizada	17
2.6 Características Histopatológicas	17
2.6.1. Característica Imunoistoquímica.....	18
2.6.2 Mastócitos.....	19
2.7 Tratamento.....	21
3. PROPOSIÇÃO	23
3.1 Objetivo Geral	23
3.2 Objetivo Específico	23
4. MATERIAIS E MÉTODOS	24
4.1 Aspectos éticos.....	24
4.2 Seleção dos casos	24
4.3 Estudo Imunoistoquímico	24
4.4 Análise Imunoistoquímica	25
4.5 Análise Estatística.....	26
5. RESULTADOS	27
8. REFERÊNCIAS.....	40

1. INTRODUÇÃO

Os tumores das glândulas salivares são raros e compõem cerca de 2% a 6% de todas as neoplasias da cabeça e do pescoço (LIAO *et al.*, 2020; SUCIC *et al.*, 2020). A parótida, a glândula submandibular e as glândulas salivares menores do palato são as mais acometidas, e a glândula sublingual raramente é afetada (SUBHASHRAJ, 2008; LUERS *et al.*, 2016; LIAO *et al.*, 2020). Dentre as três, a glândula parótida, além de ser a maior glândula salivar, é o local de maior incidência dos tumores salivares (LIAO *et al.*, 2020). Dentre os tumores originários na parótida, destacam-se o adenoma pleomórfico e o cistadenoma papilar linfomatoso, também conhecido como tumor de Warthin, por serem tumores benignos comuns (KUZENZO *et al.*, 2016; MATSUDA *et al.*, 2017; CHEN *et al.*, 2019). O tumor de Warthin, ocupa o segundo lugar no índice dos tumores parotídeos, seguido pelo adenoma pleomórfico (DĂGUCI *et al.*, 2011; LIANG *et al.*, 2014; KOYBASIOGLU *et al.*, 2020).

A Organização mundial de Saúde (OMS), em 2017, define o Tumor de Warthin, como uma patologia de glândula salivar, bem encapsulada que geralmente ocorre no polo caudal e superficial da parótida. Há controversa dentre os tumores benignos, tendo em vista a sua aparência histopatológica e origem desconhecida (FAUR *et al.*, 2009; LIANG *et al.*, 2014). Consiste de componente de células epiteliais oncocíticas dispostas em camada dupla exibindo projeções papilares. Possui estroma com quantidade variável de tecido linfóide. (SEETHALA *et al.*, 2017; SUCIC *et al.*, 2020). Multicentricidade e bilateralidade são especialmente encontrados em fumantes inveterados (SEETHALA *et al.*, 2017; TUNÇ *et al.*, 2020). As características clínicas e epidemiológicas do tumor de Warthin manifestam-se comumente em pacientes com idade mais avançada, histórico de tabagismo, predominantemente do sexo masculino e possui aspectos de multicentricidade (DĂGUCI *et al.*, 2011; FRANZEN *et al.*, 2018).

Histologicamente, a lesão de Warthin é composta por epitélio oncocítico e componentes de estroma linfóide distribuídos em áreas tanto císticas como sólidas (DIAZ-SEGARRA *et al.*, 2018; KOYBASIOGLU *et al.*, 2020; Sucic *et al.*, 2020), o componente linfóide possui células epiteliais, oncócitos, no entanto, entre os componentes celulares que esse tumor pode apresentar, também encontra-se os mastócitos (KATOPODI *et al.*, 2004; ASHKAVANDI *et al.*, 2014,)

Os mastócitos originam-se a partir de células progenitoras específicas pertencentes à linhagem hematopoiética derivadas da medula óssea (PIO CONTI *et al.*, 2007; MALTBY *et al.*, 2009; KOMI *et al.*, 2019). São células inflamatórias, provenientes da medula óssea, cujas características são grânulos citoplasmáticos presentes em todos os tecidos do corpo humano, com exceção do osso e da cartilagem (PIO CONTI *et al.*, 2007; ASHKAVANDI, *et al.*, 2014; KOMI *et al.*, 2019). Essas células, dentre vários mediadores químicos, geram e secretam IL-8, que pode atuar como fator angiogênico, bem como fator quimiotático de células tumorais e mitógeno tumoral. Estas características podem apresentar efeitos benéficos à biologia tumoral ou participar efetivamente na rejeição e supressão do tumor (PIO CONTI *et al.*, 2007; MALTBY *et al.*, 2009).

Estas células também já foram detectadas e/ou estudadas em diferentes neoplasias de glândulas salivares maiores e menores, como o adenoma pleomórfico, carcinoma adenoma cístico, carcinoma mucoepidermoide (VIDAL *et al.*, 2013; ASHKAVANDI *et al.*, 2014,)

Tendo em vista a escassez de estudos sobre mastócitos em tumores de glândulas salivares, principalmente relacionado com o tumor de Warthin, é válido investigar a importância dos mastócitos em neoplásias humanas, e a possibilidade de contribuir para o conhecimento do perfil biológico desse tumor (KATOPODI *et al.*, 2004; VIDAL *et al.*, 2010).

Portanto, o objetivo do presente trabalho é estudar a expressão de mastócitos em uma série de tumores de Warthin, na tentativa de obter subsídios que acrescentem ao conhecimento desse tumor tão pouco estudado. Em adição, será realizado um estudo demográfico de casos.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Histórico e definição

Identificado pela primeira vez pelo patologista Aldred Scott Warthin em 1929, o tumor de Warthin é o segundo tumor de glândulas salivares mais comum, perfazendo 3 a 17% de todas as neoplasias destas estruturas, precedido apenas pelo adenoma pleomórfico (YOO *et al.*, 1994; FAUR *et al.*, 2009; LUERS *et al.*, 2016; SOOD *et al.*, 2018).

Uma segunda denominação para a lesão, que leva em consideração seu aspecto histopatológico, é cistadenoma papilar linfomatoso (TAN *et al.*, 2016; KUZENZO *et al.*, 2016; CHEN *et al.*, 2019).

Este, pode ser definido como um tumor benigno, composto por bicamada de epitélio oncocítico, e estroma linfóide em seu interior (KOYBASIOGLU *et al.*, 2020; SUCIC *et al.*, 2020)

2.2 Patogênese

Embora a patogênese exata desta lesão seja incerta, há duas principais teorias acerca da origem do tumor de Warthin, que são baseadas na presença na presença do estroma linfóide (KOBAYASHI *et al.*, 1999; FRANZEN *et al.*, 2018).

A primeira hipótese para sua origem é atribuída aos defeitos na cápsula da parótida durante seu desenvolvimento, que resultariam no aprisionamento de elementos ductais aprisionados nos linfonodos parotídeos (TEYMOORTASH *et al.*, 2006; (LIANG *et al.*, 2014; TAN *et al.*, 2016)

A segunda teoria defende que a lesão é, na verdade, um adenoma com infiltração linfocítica, sugerindo que há um componente imunológico ou de reação de hipersensibilidade na sua gênese (TEYMOORTASH *et al.*, 2006; KUZENZO *et al.*, 2016; FRANZEN *et al.*, 2018).

Os estudos clínicos apontam que o principal fator de risco associado ao desenvolvimento da lesão é o tabaco (DEDITIVIS *et al.*, 2010; SEOK *et al.*, 2018;

KOYBASIOGLU *et al.*, 2020; TUNÇ *et al.*, 2020). Neste íterim, os tabagistas possuem uma probabilidade oito vezes maior que não tabagistas de desenvolvê-la (LIANG *et al.*, 2014).

Diante do elevado índice, a principal hipótese é que o tabaco e seus subprodutos, como benzo(a)pireno, N-nitroso piperidina e arsênico promovem metaplasia do tecido glandular do ducto parotídeo e consequente proliferação de células glandulares e tecido linfóide (TAN *et al.*, 2016; LIANG *et al.*, 2014; KOYBASIOGLU *et al.*, 2020).

Apesar de os mecanismos moleculares não serem tão bem compreendidos, outros fatores de risco que podem estar implicados na patogênese do tumor são a exposição à radiação, infecção por vírus Epstein-Barr (EBV) e desordens autoimunes (KUZENZO *et al.*, 2016; FRAZEN *et al.*, 2018; SUCIC *et al.*, 2020).

2.3 Aspectos Clínicos

Clinicamente, o tumor de Warthin caracteriza-se por uma lesão de crescimento lento e que ocorre especialmente em adultos caucasianos entre a quinta e a sétima década de vida, com uma discreta predileção pelo sexo masculino (COPE *et al.*, 2013; TAN *et al.*, 2016, LUERS *et al.*, 2016; LIAO *et al.*, 2020).

Classicamente, a proporção de acometimento entre os sexos masculino e feminino era de 10:1, respectivamente, provavelmente devido ao hábito de fumar mais prevalente entre homens (PATEL *et al.*, 2016); entretanto, estudos mais recentes mostram uma proporção de 1,6:1 (LUERS *et al.*, 2016; PATEL *et al.*, 2016; FRANZEN *et al.*, 2018), sugerindo um aumento do hábito de fumar entre mulheres, descrito desde os anos 1990 (YOO *et al.*, 1994; LEE *et al.*, 2019).

Dentre os sinais e sintomas associados à lesão, embora raros, compreendem parestesia e paralisia do nervo facial, especialmente nas lesões associadas a inflamação e fibrose (FAUR *et al.*, 2009). Otolgia, zumbido e hipoacusia são sintomas associados, porém extremamente raros, embora descritos na Literatura Científica (FAUR *et al.*, 2009; SUCIC *et al.*, 2020).

O principal sítio acometido pela lesão é a glândula parótida. Trata-se de uma glândula salivar maior, exócrina e serosa (GREY *et al.*, 2010; ITOO *et al.*, 2015), localizada no espaço fascial parotídea, anterior e inferior à orelha externa e posterior ao ramo mandibular. No mesmo espaço são encontradas estruturas nobres, como o nervo facial e seus ramos, especialmente o auriculotemporal, além do ducto de Stensen, responsável pela drenagem da secreção salivar serosa, linfonodos e alguns vasos (FODOR *et al.*, 2010, GREY *et al.*, 2010). A glândula apresenta um lobo superior pequeno e superfícies superior, anteromedial e posteromedial, afunilando-se inferiormente num ápice obtuso (GREY *et al.*, 2010, ITOO *et al.*, 2015).

O lobo superficial da glândula parótida é o local típico de manifestação clínica do tumor de Warthin, embora sítios menos comuns sejam a glândula submandibular (cerca de 0,1% dos casos) e linfonodos cervicais (KUZENZO *et al.*, 2016; FRANZEN *et al.*, 2018).

A lesão se manifesta como uma massa indolor, de consistência fibroelástica e geralmente não aderida a planos profundos, podendo ser multicêntrica em 12 a 20% dos casos ou bilateral, em 5% dos casos (BRADLEY *et al.*, 2000; FRANZEN *et al.*, 2018, DIAZ-SEGARRA *et al.*, 2018;).

Quando se trata de uma lesão única, não há índices documentados na literatura acerca de recidiva; entretanto, em se tratando de lesões múltiplas, a taxa de recidiva é de cerca de 10% (HELLQUIST *et al.*, 2019).

Teeymoostar, em 2006, produziu estudo com 81 pacientes diagnosticados com tumor de Warthin, e obteve como resultado uma taxa predominante no sexo masculino de 3,3:1. Diante da significativa incidência em homens, o autor sugere uma dependência hormonal desta doença. Os resultados indicam que as glândulas salivares não são consideradas os órgãos-alvo clássicos dos hormônios esteróides. Salientando em suas anotações que, foram encontrados receptores de progesterona no tumor de Warthin.

A existência dos hormônios masculinos e femininos não estão relacionados nos impactos das glândulas salivares e suas doenças correlacionadas. Principalmente diante das limitações e em decorrência de ter poucos estudos relacionados a esta questão. Porém, a sua presença pode explicar a predominância particular do sexo masculino em relação a esta neoplasia.

2.4 Diagnóstico Diferencial

Existe um desafio quanto ao diagnóstico do tumor em questão. O diagnóstico diferencial do tumor de Warthin inclui particularmente patologias provenientes do tecido glandular salivar que têm elementos linfoides e oncocíticos proeminentes, incluindo um cisto linfoepitelial benigno, sialadenite linfoepitelial, linfadenoma e hiperplasia linfóide cística da síndrome da imunodeficiência adquirida (SOOD *et al.*, 2018; SUCIC *et al.*, 2020).

O adenoma pleomórfico possui características relevantes que se distinguem do tumor de Warthin. O adenoma pleomórfico possui uma massa densa não associada à vascularização, enquanto o tumor de Warthin é multicêntrico, e frequentemente possui centros germinativos associado à formação de vaso sanguíneo (FAUR *et al.*, 2009). Normalmente, o adenoma pleomórfico apresenta dimensões maiores que o tumor de Warthin (FODOR *et al.*, 2010). Além disso, em relação à recidiva, o adenoma pleomórfico costuma recidivar mais frequentemente que o tumor de Warthin (THIELKER *et al.*, 2018). Importante salientar que, não há critérios clínicos precisos para diferenciá-los, sendo imprescindível a solicitação de exames complementares para o adequado diagnóstico dos tumores.

Outras lesões que devem constar no diagnóstico diferencial, embora raras, são o adenoma de células basais e mioepitelioma (LEE *et al.*, 2016).

2.5 Exames Complementares

Exames complementares, podem ser realizadas para auxiliar o processo de diagnóstico, como Ultrassonografia (US), Tomografia Computadorizada (TC) ou Punção Aspirativa por Agulha Fina (PAAF), além de serem úteis na exclusão de lesão maligna (YU *et al.*, 2016).

2.5.1 Punção Aspirativa por Agulha Fina

A Punção Aspirativa por Agulha Fina é comumente utilizada como teste diagnóstico na avaliação inicial, sendo um procedimento minimamente invasivo e com um baixo risco de complicações (LIU *et al.*, 2016).

A sensibilidade e especificidade do método em lesões de parótida, tem sido estimada em torno de 78% e 98%, respectivamente, na diferenciação de neoplasias benignas e malignas e a probabilidade de se obter um resultado indeterminado com a PAAF é de 5,3% (LIU *et al.*, 2016).

2.5.2 Core biopsy

A obtenção de material para diagnóstico diferencial de massas parotídeas, através da *core biopsy*, é considerada um método alternativo à tradicional PAAF, e apresenta a sensibilidade e especificidade de 96% e 100%, respectivamente, por permitir, não uma análise citológica, mas anatomopatológica da lesão (LIU *et al.*, 2016; THIELKER *et al.*, 2018).

Diante das especificidades para a coleta do material, não é comumente utilizada, devendo ser realizado quando o exame citopatológico é inconclusivo ou os resultados não sejam suficientes (WITT *et al.*, 2014; LIU *et al.*, 2016, e THIELKER *et al.*, 2018).

2.5.3 Ultrassonografia

Na ultrassonografia, o tumor de Warthin apresenta-se como uma massa oval ou arredondada, hipoeoica ou com uma ecotextura heterogênea a depender da presença de componente cístico e de contornos bem definidos (FODOR *et al.*, 2010; MATSUDA *et al.*, 2017).

Estas características auxiliam no diagnóstico diferencial diante de outras lesões, especialmente o adenoma pleomórfico, o qual, em contraste com o tumor de Warthin, apresenta ecogenicidade homogênea (KIM *et al.*, 2004; MATSUDA *et al.*, 2017).

Porém, tal método, especialmente quando a lesão se localiza nos lobos profundos ou posterior à mandíbula, não é capaz de caracterizar completamente a massa parotídea, sendo necessário exames complementares (FODOR, *et al.*, 2010).

2.5.4 Tomografia Computadorizada

Na Tomografia Computadorizada, o tumor de Warthin manifesta-se como uma lesão ovalada ou arredondada com contornos bem definidos, apresentando densidade intermediária e, por vezes, heterogênea (LIANG et al., 2014). A densidade heterogênea desta lesão se deve à própria composição celular do tumor de Warthin, em que há tecido epitelial papilar, estratificado e eosinofílico em um estroma linfoide denso (LIANG *et al.*, 2014).

Outra importante característica do tumor de Warthin em relação ao contraste é que, diferente de outras lesões, há um decréscimo do realce da lesão em uma imagem em fase tardia de administração do contraste (WOO et al., 2013).

A justificativa para este comportamento do tumor de Warthin encontra-se na sua histologia. Esta lesão possui uma quantidade maior e mais compactada de vasos, além de maior expressão de VEGF-R2, de modo que o tumor de Warthin provavelmente possui maior atividade angiogênica e uma interação com células endoteliais mais próxima que o adenoma pleomórfico (WOO et al., 2013).

2.6 Características Histopatológicas

Histologicamente, a lesão de Warthin é composta por epitélio oncocítico e componentes de estroma linfoide distribuídos em áreas tanto císticas como sólidas (DIAZ-SEGARRA., et al., 2018).

Nas áreas císticas, o epitélio oncocítico se organiza em bicamadas e em projeções papilares com quantidade aumentada de mitocôndrias densamente agrupadas e em formato e tamanho anormais. O estroma linfoide, por sua vez, pode conter centros germinativos (FRANZEN et al., 2018; HELLQUIST et al., 2019).

Na periferia das lesões, há fibrose extensa, com colágeno denso hipocelular e proliferação de células miofibroblásticas e um denso infiltrado inflamatório composto de linfócitos e macrófagos (KUZENZO et al., 2018).

A lesão está, também, associada à angiogênese e linfangiogênese aumentadas (RABIA et al., 2015).

Observa-se uma relação entre metaplasia escamosa e isquemia em tumores de Warthin (YORITA et al., 2019). Alguns autores observam o processo em 35 a 70% (SEITFERT et al., 1980; YORITA et al., 2019) dos casos, a depender da metodologia empregada. As causas de metaplasia em tumores de Warthin incluem isquemia, irradiação e biópsia, tal qual um fenômeno biológico que ocorre na glândula salivar sadia submetida a isquemia: sialometaplasia necrotizante (YORITA et al., 2019)

No que se refere a transformação maligna do tumor de Warthin é considerada incomum, com taxas que se aproximam de 0,3 a 1%. Apesar de muito raras, as transformações malignas ocorrem mais comumente no componente linfoide do tumor (LUERS et al., 2016, YU et al., 2016; SEOK et al., 2019).

2.6.1. Característica Imunoistoquímica

Com o intuito de conhecer a biologia do tumor de Warthin, diversos estudos têm sido realizados para analisar seu comportamento, seus componentes e como se manifestam. Investigações imunoistoquímicas foram realizadas para análise dos biomarcadores presentes no tumor de Warthin (DĂGUCI et al., 2011).

Em análise do estroma de 21 lesões, foram observadas reações positivas para os marcadores CD20cy, revelando predominância de linfócitos B em cinco lesões e CD45RO, com predominância de linfócitos T em quatro casos. Além disso, houve positividade para a proteína S100, similar às células de Langerhans, de modo que a hipersensibilidade tardia pode estar implicada no desenvolvimento do tumor.

Na reação imunoistoquímica, os mastócitos são diferenciados pela presença de grânulos marrons por todo o citoplasma. Geralmente estão situados na camada celular epitelial. Os mastócitos, no tumor de Warthin, demonstraram imunorreatividade mais intensa, no componente epitelial do que no estroma linfoide. Apesar disso, esse achado não foi considerado específico para diagnosticar o tumor. (KOBAYASHI et al., 1999).

Kuzenko (2016) realizou estudo imunoistoquímico em tumores de Warthin e observou positividade para os marcadores MGMT, Ki-67, Bcl-2 e p53. As expressões destes marcadores indicam os aspectos de crescimento do epitélio proliferativo e das células imunes. A proteína p53, importante desencadeador da cascata apoptótica, quando mutada, permite a proliferação de células neoplásicas. O Bcl-2 é um potente inibidor da morte celular e modula a atividade da p53; quando ativado, desencadeia proliferação celular e transformação neoplásica.

A análise histopatologia de toda a estrutura, revelaram uma distribuição equilibrada dos comportes epitelial e estroma. Diante dos resultados, foi identificado que o componente epitelial do tumor de Warthin é o gatilho para a evolução do processo tumoral.

Em seus estudos, Nakamura *et al.*, (2001), tentou evidenciar interações entre fatores e receptores de crescimento e moléculas de adesão celular no Tumor de Warthin, com análise imunoistoquímica e reação em cadeia da transcriptase reversa. Dentre seus principais resultados imunoistoquímicos, foi evidenciado positividade para o TGF- α ao longo da superfície luminal, e encontrado HB-EGF na superfície das células epiteliais, assim como, macrófagos no tecido linfóide e os TGF- β 2 e β 3 ao longo dos epitélios basais. A conclusão foi no sentido de que, os resultados apurados apoiam a teoria de uma neoplasia epitelial encorajada por uma resposta linfocítica na patogênese do tumor.

2.6.2 Mastócitos

Mastócitos (*mast cells* ou MC) são células inflamatórias derivadas da medula óssea, caracterizada por seus grânulos citoplasmáticos e presentes em todos os tecidos do corpo humano, exceto o osso e a cartilagem (PIO CONTI *et al.*, 2007; ASHKAVANDI, *et al.*, 2014).

Anatomicamente, os mastócitos localizam-se próximos aos vasos sanguíneos, linfáticos e às fibras nervosas. Sua localização correlaciona-se com a sua função, seja, a liberação imediata de mediadores pró-inflamatórios, pré-formados tanto em processos alérgicos, como em respostas imunes mediadas

por células e na resposta antimicrobiana protetora PIO CONTI *et al.*, 2007; (ASHKAVANDI, *et al.*, 2014; TIKOO *et al.*, 2018).

Os grânulos citoplasmáticos encontrados nos mastócitos contêm diversos mediadores bioquímicos, como histamina, heparina, triptase e quimase, além de algumas citocinas importantes mediadoras das respostas inflamatórias, como IL-4, IL-6 e IL-8 (ASHKAVANDI, *et al.*, 2014). Outros mediadores igualmente importantes, e que desempenham função de estímulo à proliferação celular, a fibrose e a angiogênese, são: o Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGF), o Fator de Crescimento de Fibroblastos-2 (FGF-2) e o Fator de Transformação do Crescimento- β (TGF- β) (ARTUC *et al.*, 2002; TIKOO *et al.*, 2018).

Os mastócitos parecem estar envolvidos não apenas em processos tumorais, mas também em lesões reativas em cavidade oral (Ferreira *et al.* 2016). Este trabalho se debruçou na realização do estudo *in vitro* para investigar a densidade de mastócitos e os microvasos, através de estudo imunohistoquímico, numa série de lesões: hiperplasia fibrosa, hiperplasia fibrosa inflamatória, lesão periférica de células gigantes e hemangioma lobular capilar.

Como resultado de suas análises, foram encontrados mastócitos próximos aos vasos sanguíneos e áreas de fibrose em todas as lesões, ao passo que os microvasos foram encontrados em todas as lesões, porém, concentradas no tecido estromal. A justificativa é que a presença destas células em áreas de fibrose se dá pelo fato de que os grânulos são ricos em proteases.

Os mastócitos produzem uma miríade de citocinas, quimiocinas e outros fatores de crescimento. A ativação dos mastócitos pode ocorrer por patógenos ou através de imunoglobulina IgE, com consequente liberação desses mediadores. A liberação de TNF, histamina, VEGF e proteases sobre o endotélio pelos mastócitos resultam em aumento da permeabilidade vascular, edema e recrutamento de outras células do sistema imune, como células NK e linfócitos T (TIKOO *et al.*, 2018).

De acordo com o conteúdo de proteases, localizadas no interior de grânulos intracitoplasmáticos, os mastócitos podem ser subdivididas em dois tipos: triptase e quimase positiva (MC_{TC}) e triptase-positiva e quimase-negativa (MCT) (FUKUSHIMA *et al.*, 2006).

As triptases são um forte fator de crescimento para as células epiteliais, ao passo que as quimases atuam no processo de angiogênese (ARTUC *et al.*, 2002, MALTBY *et al.*, 2009). Os mastócitos triptase positivo estão associados a processos de angiogênese e fibrose, e os mastócitos quimase-positiva estão relacionadas à degradação da matriz extracelular ao prevenir acúmulo de colágeno e à indução de apoptose de células do músculo liso.

Os métodos clássicos para identificação de mastócitos se dão através da utilização de corantes que se ligam a componentes básicos nos grânulos destas células, como heparina ou outros proteoglicanos, mediante de métodos simples, como coloração por hematoxilina e eosina (H&E), azul de toluidina e Giemsa (WALLS *et al.*, 2014; TIKOO *et al.*, 2018). Entretanto, estes métodos, por utilizarem fixadores à base de formaldeído, com consequente perda do corante no processo, não são confiáveis para o estudo das MC, por subestimarem seu número no tecido (WALLS *et al.*, 2014).

Assim, métodos imunistoquímicos com anticorpos específicos para triptase, específicas para mastócitos, são preferidos e, atualmente, são considerados o padrão-ouro para identificação deste tipo celular (WALLS *et al.*, 2014).

Em termos de tumorigênese, a presença de mastócitos no estroma peritumoral sugere que estas células desempenham uma importante função nesse processo (ASHKAVANDI *et al.*, 2014). Estes infiltram no tumor ou no tecido peritumoral e desempenham um papel remodelando o microambiente estromal para que o tumor possa se desenvolver e expandir (ARTUC *et al.*, 2002).

Já em relação às glândulas salivares menores, a densidade de mastócitos também foi encontrada em quantidade elevada no adenoma pleomórfico, especialmente nas áreas periparenquimatosas (VIDAL *et al.*, 2012).

2.7 Tratamento

O tratamento eletivo para o tumor de Warthin é a exérese cirúrgica, a qual pode ser facilmente executada, tendo em vista que sua localização é, majoritariamente, superficial (FAUR *et al.*, 2009).

Em relação ao tipo de abordagem, não há diferenças entre ressecção local do tumor e parotidectomia superficial, no sentido de evitar a ruptura da cápsula tumoral e conseqüentemente a recidiva da lesão (FAUR *et al.*, 2009, YOO *et al.*, 1994).

Entretanto, a parotidectomia superficial está relacionada a complicações pós-operatórias, como síndrome de Frey e paralisia facial temporária ou permanente (YOO *et al.*, 1994).

3. PROPOSIÇÃO

3.1 Objetivo Geral

Investigar a presença de mastócitos em uma série de casos do tumor de Warthin, através da imunohistoquímica.

3.2 Objetivo Específico

- Descrever a presença e localização de mastócitos no tumor de Warthin;
- Associar a presença dos mastócitos com a expressão de fatores de crescimento;
- Descrever o perfil clínico e demográfico da amostra.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Aspectos éticos

O projeto de pesquisa foi encaminhado ao Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da UFBA, para a devida avaliação, e aprovado, sob o parecer nº 3.948.733.

4.2 Seleção dos casos

Foram analisados 11 casos de tumor de Warthin a partir dos arquivos do Laboratório de Patologia Clínica e Maxilofacial da Faculdade de Odontologia – UFBA. O diagnóstico histopatológico foi revisado e classificado por um patologista com base na classificação da Organização Mundial de Saúde (OMS) de 2017.

Foram selecionados casos com presença de material suficiente e em boas condições de uso.

4.3 Estudo Imunoistoquímico

Para realização da técnica imunoistoquímica, foram feitos cortes de 3 µm de espessura a partir do material embebido em formol (10%) e incluídos em parafina, sendo os cortes estendidos sobre lâmina de vidro previamente sinalizadas. Os cortes histológicos foram desparafinizados inicialmente em estufa por 30 minutos a 55° C e em seguida desparafinizada em Xileno, foram imergidas em três banhos por 5 minutos a uma temperatura ambiente.

Posteriormente, foram re-hidratadas em 2 banhos em álcool absoluto, um banho com álcool 95% e, por fim, em álcool 70% durante 3 minutos cada, em temperatura ambiente. Na etapa seguinte, as lâminas foram submetidas a duas lavagens com TRIS-HCl (ph 6.8), por 2 minutos e meio cada e em seguida realizado o bloqueio da Peroxidase Endógena, realizado em solução de peróxido de hidrogênio a 3% e água destilada, duas vezes por 10 minutos, em campo escuro. Repetida as duas lavagens com TRIS-HCl, durante dois minutos e meio, após o bloqueio acima.

A recuperação antigênica foi realizado por incubação. As lâminas foram submetidas a banho-maria em 1% de tripsina a 37° C por 30 minutos (três ciclos de dez minutos cada). Após os ciclos, foi realizada novamente a lavagem com solução tampão descrita acima, por duas vezes e com duração de dois minutos e meio. Após essas etapas, assim que os cortes retornaram à temperatura ambiente, foram incubados com o anticorpo primário diluído de anticorpo *Mast cell* (1:50, clone AA1, Dako Corporation, Carpinteria, CA, EUA), a 4° C, por 18 horas (overnight).

As lâminas foram submetidas a nova lavagem com TRIS-HCL, e o anticorpo secundário (Polímero EnVision™, Dako Corporation) foi inserido, e o permanece por 30 minutos à temperatura ambiente, seguido pelo desenvolvimento da reação com 3,3-diaminobenzidina (DAB) – (Dako Corporation) como solução de cromogênio por 10 minutos regressivos. Posteriormente, as secções foram submetidas a contra coloração com hematoxilina de Harris por 2 minutos. Como controle positivo e negativo, foram utilizados casos de cistos radiculares, em demonstravam em sua lâmina HE, regiões de intensa inflamação.

4.4 Análise Imunoistoquímica

Cada espécime foi analisada por um examinador previamente treinado, à microscopia de luz de alta definição (AXIOSTARPLUS, ZEISS, Germany, 2008), com um aumento de 400x em até 10 campos, e transferidas para um monitor de vídeo por um sistema computadorizado. A captura foi realizada através de uma câmara digital (AXIOCAM lcc3, ZEIS, Germany, 2008).

Para o marcador *mastcell triptase* e, conseqüente avaliação dos mastócitos, foi empregada a metodologia proposta por VIDAL et al. (2013). A quantificação de células positivas ao marcador *mastcell triptase* foi calculada pela proporção do número médio em cada caso.

4.5 Análise Estatística

Para a análise estatística das imunomarcações do anticorpo, e sua correlação com as demais variáveis do estudo, foi aplicado o Teste-T e Correlação de Pearson. Todas as análises foram realizadas com 95% de confiança, ou seja, o nível de significância foi estabelecido em 5% ($p < 0,05$).

5. RESULTADOS

A amostra consistiu em 11 casos com diagnóstico de tumor de Warthin. cujo resultados demográficos estão descritos na tabela 1.

Os resultados apontam uma média de idade geral de 59,3 anos. A média de idade entre homens e mulheres se coincidiram no valor de 59,3 anos quando contabilizadas separadamente.

Foi identificada uma predominância pelo gênero masculino (72,7%). No que se refere a localização do tumor, em 100% dos casos ocorreram em glândula parótida. Em relação a lateralidade, 45,4% foi encontrado do lado direito e 54,6% encontrado do lado esquerdo.

No presente estudo, não foi observado acometimento bilateral do tumor.

O tratamento instituído para todos os casos foi a parotidectomia do lado acometido.

Tabela 01. Distribuição da amostra de acordo com gênero, localização do tumor, lateralidade, tratamento instituído.

Variável	Número de indivíduos	%
Gênero		
Masculino	8	72,7
Feminino	3	27,2
Localização		
Parótida	11	100
Outra	0	0
Lado		
Direito	5	45,4
Esquerdo	6	54,6

Bilateral	0	0
Tratamento		
Parotidectomia	11	100
Outra	0	

Com relação a IH, foi encontrada positivamente para os mastócitos em todos os casos de tumor de Warthin analisados, sendo a expressão superior no componente epitelial quando comparado com o estroma da lesão ($r = -0,42$, $p = 0,69$).

Na Tabela 03, encontram-se descritos os valores da expressão de mastócitos no tumor de Warthin em região do estroma e revestimento epitelial, contabilizados em seus números totais. Não houve relevância significativa na relação mastócitos em epitélio e estroma.

Apesar de não ter sido encontrada diferença estatisticamente significativa, observou-se uma tendência de maior expressão de mastócitos no componente epitelial. Dos 11 casos, 8 exibiram expressão superior em epitélio, com 60,6%, com p-valor 0,474, enquanto no estroma 39,4%, p-valor - 0,474

Tabela 03. Caracterização da amostra quanto à expressão de mastócitos no estroma e tecido epitelial. Representada em valores totais encontrados e porcentagem de cada local.

Amostra	Estroma	Tec. Epitelial	% Estroma	%Epitélio
1	51	190	21,1	78,9
2	11	85	11,4	88,6
3	54	62	46,5	53,5
4	28	263	9,6	90,4
5	67	73	47,8	52,2

6	101	106	48,8	51,2
7	114	44	72,1	27,9
8	70	32	68,6	31,4
9	45	66	40,5	59,5
10	169	58	74,4	25,6
11	68	99	40,7	59,3

No que se refere a relação de mastócitos com a idade e gênero, não houve diferença estatisticamente significativa, observados na tabela 2 a seguir:

Tabela 02 - Medidas de correlação

Variáveis	R	P valor
Mastócitos totais X idade	0,14	0,69
Mastócitos Epitélio X idade	- 0,047	0,89
Mastócitos Estroma x Idade	0,280	0,405
Mastócitos totais X gênero	0,81	0,466
Mastócitos Estroma X gênero	0,23	0,829
Mastócitos Epitélio X gênero	0,87	0,410

Na Tabela 04, são apresentados dados já descritos anteriormente, porém reagrupados para melhor visualização da relação entre quantidade de mastócitos, gênero e o volume encontrado, não obtendo diferença estáticas entre tamanho e quantidade de mastócitos.

Tabela 04. Caracterização da amostra quanto à expressão de mastócitos (epitélio + estroma), dimensões (cm) e gênero.

Amostr a	Mastócitos	Gênero	Dimensão
6	207	F	3.9
9	116	F	4.5
4	291	M	3.5
3	116	F	3.0
11	167	M	3.5
8	102	M	4.0
1	241	M	3.2
7	158	M	2.5
10	227	M	3.2
2	96	M	2.7
5	140	M	-

Imagens das lâminas em Hematoxilina Eosina (HE)

Histopatologicamente, os casos mostravam espaços císticos revestidos por dupla camada de células epiteliais, sendo a camada luminal constituída por células colunares e a basal por células cuboidais, com estroma linfóide adjacente. O epitélio de revestimento exibia arranjo papilífero. Em dois casos foram vistas escassas células oncócicas. Em sete casos foram encontrados folículos linfóides.

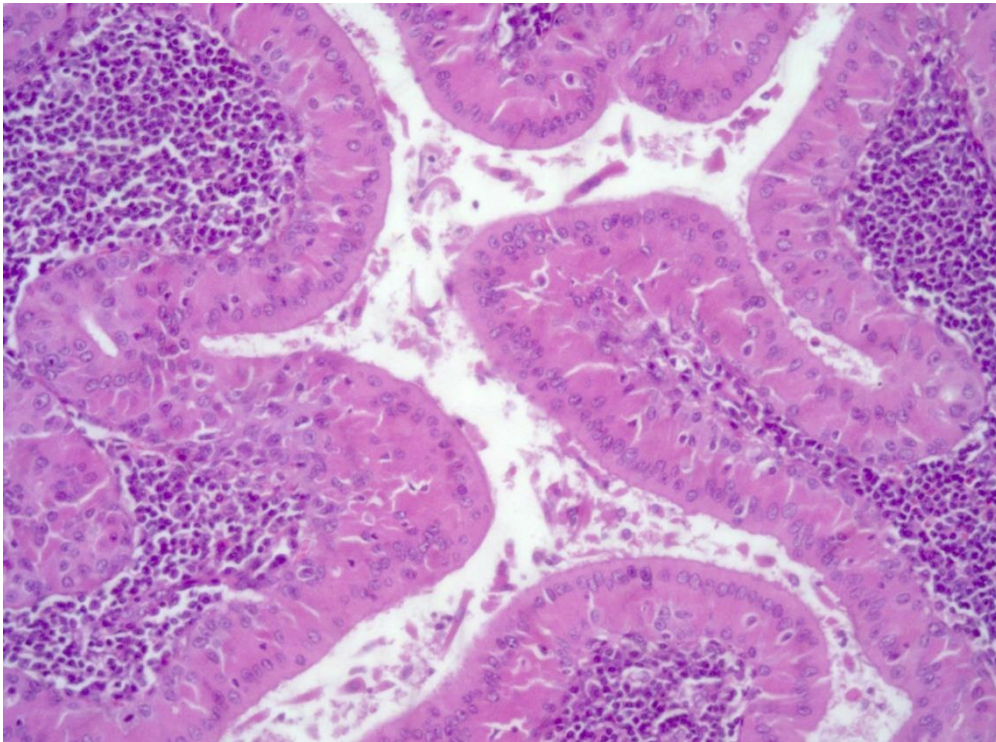


Figura 1. Tumor de Warthin. Células epiteliais em duplas camadas, estroma linfóide.

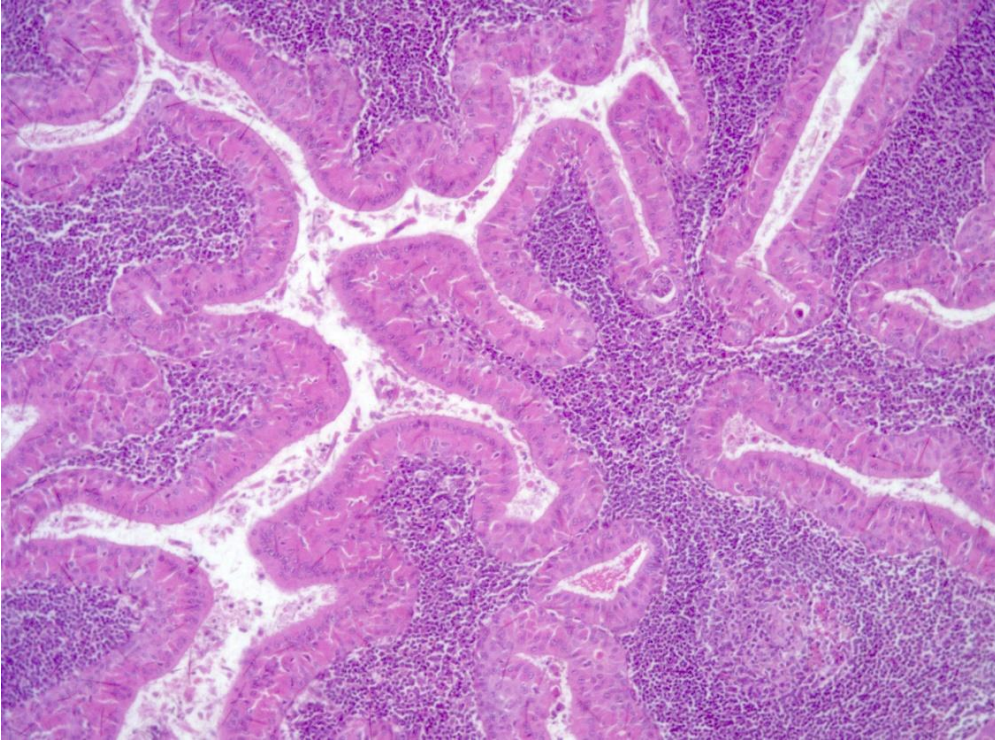


Figura 2. Tumor de Warthin. Células epiteliais em duplas camadas, em estroma linfoide. Identificado folículo linfoide.

Imunoexpressão de mastócito

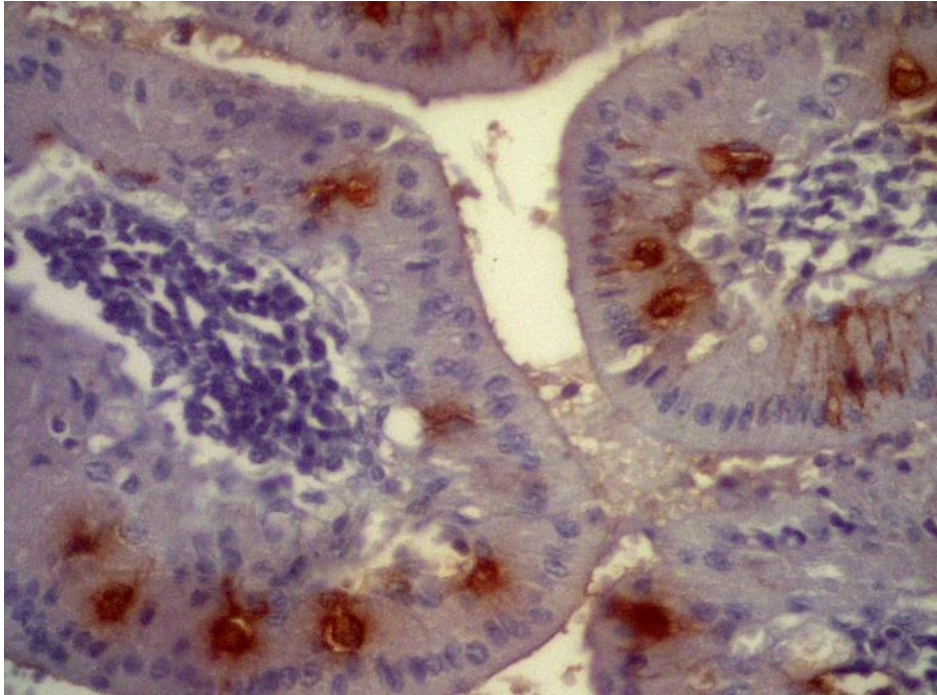


Figura 3. Imunoexpressão dos mastócitos no tumor de Warthin. Note imunopositividade significativa no componente epitelial.

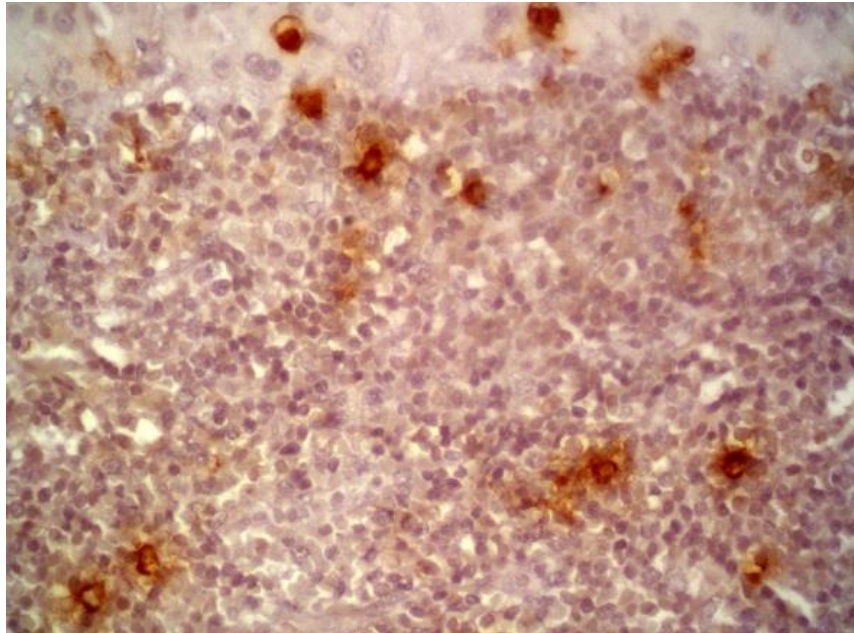


Figura 4. Expressão de mastócitos uniforme em estroma e epitélio.

6. Discussão

Este estudo mostrou que o tumor de Warthin possui achados clínicos e anatomopatológicos similares aos estudos prévios da literatura. Além disso, as características imunoistoquímicas dos componentes celulares da lesão do presente estudo, podem contribuir para a compreensão da patogênese, e comportamento biológico do tumor.

Nesta série de casos o tumor de Warthin ocorreu com maior frequência entre homens (72,7%), corroborando com o relato de alguns autores (DĂGUCI *et al.*, 2011; PATEL *et al.*, 2016; LEE *et al.*, 2019). Entretanto, outros autores relatam um aumento progressivo no sexo feminino (LUERS *et al.*, 2016; PATEL *et al.*, 2016; FRANZEN *et al.*, 2018). Geralmente, a incidência se perfaz entre a quinta e sétima década de vida (COPE *et al.*, 2013; CITAK *et al.*, 2019) concordando assim com nossos resultados, que apresentou média de 59,3 anos.

Sobre origem do tumor, essa entidade patológica ainda deixa pesquisadores intrigados. Porém, muitos autores concordam que sua origem advém do tecido epitelial e linfóide ectópicos, da presença de restos glandulares heterotópicos dentro de linfonodos parotídeos (DĂGUCI *et al.*, 2011; LIANG *et al.*, 2014). Esses restos glandulares podem ser encontrados intra ou periparotídeo, e a partir desta, definirá sua localização na parótida, se no lobo superficial ou em camadas mais profundas na glândula. (DEDITIVIS *et al.*, 2010).

A associação do Tumor de Warthin e o tabagismo já é bem conhecida na literatura (YOO *et al.*, 1994; DĂGUCI *et al.*, 2011; LIANG *et al.*, 2014; COPE *et al.*, 2014; SAVIG *et al.*, 2016; PSYCHOGIOS *et al.*, 2020), demonstraram que esses tumores estão fortemente associados ao tabagismo, descrevendo taxas das suas populações de estudos, que variaram de 78% a 98% sendo fumantes que desenvolveram o tumor. Kuzenko (*et al.*, 2016) sugere que sua gênese pode ser devido à irritação do epitélio ductal por fumaça de tabaco, iniciando assim a tumorigênese.

Dăguci (*et al.*, 2011), em sua escrita utiliza o termo “inveterado”, sugerindo um uso do tabaco de forma exaustiva e de longo prazo. Suas taxas chegam a 98% da amostra pacientes fumantes, com multifocalidade e

bilateralidade. Outra informação importante é sobre a taxa de malignidade que é rara, não ultrapassa taxas acima de 3% (CITAK *et al.*, 2019, SEOK *et al.*, 2018; FRAZEN *et al.*, 2018) e, tal característica não foi observada nos nossos casos.

No presente estudo, todos os 11 casos das amostras, foram encontrados em glândula parótida, o que também é registro comum na literatura (FAUR *et al.*, 2009, FODOR *et al.* 2010), visto que, diversos estudos relatam em 100% das amostras foram encontrados em glândula parótida. As características diferenciais são apenas a profundidade do tumor, seja superficial ou em lobos mais profundos (DIAZ-SEGARRA *et al.*, 2018).

Insta salientar que, apesar de ser quase que exclusivamente em parótida, o tumor de Warthin, já foi encontrado em glândula submandibular e em linfonodos cervicais, sendo registrados 10 casos em linfonodos cervicais (YOO *et al.*, 1994; PATEL *et al.*, 2016).

Com relação a profundidade, no presente estudo todos os casos apresentaram-se no lobo superficial, o que está de acordo com os achados de Savig (2018), que em seu trabalho com análise de 486 casos, identificou em 98,4% dos casos que o tumor fora encontrado no lobo superficial e apenas 1,6% dos casos em lobo profundo. Demonstrando assim, uma significativa predominância do aparecimento da doença no lobo superficial.

No que se refere ao diagnóstico do tumor de Warthin, pode ser obtido através da análise das amostras das glândulas salivares, possuindo nestes, a presença de dois elementos fundamentais para sua confirmação: células epiteliais e componentes linfóides (FRANZEN *et al.*, 2018; DIAZ-SEGARRA *et al.*, 2018; HELLQUIST *et al.*, 2019).

O tumor de Warthin revela dois importantes componentes de células de diagnóstico - linfóides e epiteliais (células oncócicas; grandes células oxifílicas poligonais) (FAUR *et al.*, 2009; DĂGUCI *et al.*, 2011; COPE *et al.*, 2014; KUZENZO *et al.*, 2016) O material cístico possui aparência aquosa a mucóide, forma predominante nos aspirados desse tumor, e esta é uma informação característica para o seu diagnóstico (KOBAYASHI *et al.*, 1999; KUZENZO *et al.*, 2016).

Em relação ao tamanho dos tumores, foi observado, conforme “Tabela 2”, dimensões que variaram de 1.2cm a 4.5cm, com persistência de dimensões próximas a 2cm, corroborando com estudos de Liang (2014) e SUCIC (2020)

que relataram diâmetros maiores que 2cm. Neste ínterim, Teymoostar (2006), encontrou tamanhos que variaram de 2,56 +- 0,9 cm, e 98% dos seus casos encontrados no lobo superficial.

O tratamento para esse tumor, é de caráter eletivo, de fácil execução, quando localizado no lobo superficial a técnica comumente utilizada é a exérese tumoral e remoção superficial da glândula, somente. Quando em lobo profundo, a exérese com parotidectomia é indicada (FAUR *et al.*, 2009). Possui baixas taxas de recidiva (2-5%) dos casos. Foi optado pelo cirurgião a remoção total do tumor e glândula parótida, dos casos do presente estudo. Seok (2018), sugere tratamento conservador da lesão, justificando pelo caráter de baixíssima taxa de malignização e risco de lesão do nervo facial, com a parotidectomia.

A avaliação do Tumor de Warthin pode incluir aspiração por agulha fina com citologia que é caracterizada pela tríade de oncócitos, células linfóides e um fundo proteico. Embora altamente precisa, essa técnica pode muitas vezes diagnosticar erroneamente oncocitoma (se o epitélio predominantemente oncocítico for amostrado), linfoma (se principalmente a área rica em linfócitos for retirada) e carcinoma de células escamosas (se metaplasia escamosa estiver presente), e também pode não ser diagnosticado (SAVIG *et al.*, 2016).

Estudos de Orell e Kobayashi (*et al.*, 1995 e *et al.*, 1999), após realização de punção aspirativa por agulha fina, houve equívocos em diagnósticos, comparando-os com o carcinoma mucoepidermóide e o acinar, levando em consideração a presença de camadas de células epiteliais brandas com oncócitos no citoplasma. Esse diagnóstico errôneo, pode ser explicado porque o revestimento epitelial do tumor de Warthin, pode mostrar células escamosas e metaplasia mucinosa, durante a aspiração (KOBAYASHI *et al.*, 1999).

Ainda na técnica da PAAF, Laucirica (*et al.*, 1989) publicaram um relato de um falso positivo para Tumor de Warthin, devido à presença de necrose extensa e alterações escamosas altamente atípicas, sugerindo que os diagnósticos de linfonodo intraparotídeo benigno, lesão linfoepitelial e linfoma maligno também devem ser considerados no diagnóstico diferencial.

O tumor de Warthin, assim como outros tumores, estão sendo cada vez mais relacionados com os mastócitos, haja visto os avanços no conhecimento sobre sua origem e desenvolvimento tumoral.

Os mastócitos são derivados da medula óssea que desempenham importantes funções, como em reações alérgicas, inflamação, e respostas imunes mediados por células T. (VIDAL *et al.*, 2012). Armazenados em seus grânulos citoplasmáticos, os mastócitos são capazes de secretar uma gama de produtos biologicamente ativos, a exemplo da triptase, quimase, histamina, prostaglandinas, citocinas, leucotrienos e fatores de crescimento (CAUGHEY *et al.*, 2007, RIBATTIA *et al.*, 2009). Além das funções acima citadas, essas células parecem ter papel fundamental no crescimento e desenvolvimento tumor, influenciando sua angiogênese, remodelação do tecido e resposta imune do hospedeiro (KATOPODI *et al.*, 2004; MALTBY *et al.*, 2009; VITAL *et al.*, 2012).

No presente trabalho, foram detectados mastócitos em todas nossas amostras de Tumor de Warthin, o que está de acordo com trabalhos prévios (KATOPODI *et al.*, 2004; FAUR *et al.*, 2009; DĂGUCI *et al.*, 2011).

Foi identificado também, uma maior expressão de mastócitos em regiões epiteliais, em conformidade com estudos de VIDAL *et al.*, 2012. Outros autores que encontraram maior concentração de mastócitos em áreas peritumorais foram KATOPODI (2004) e ASHKAVANDI (2014).

Essa característica observada nos mastócitos de uma maior prevalência em áreas peritumorais, com afinidade em áreas que ampla atividade vascular, também foi encontrado em outras neoplasias (VIDAL *et al.*, 2012, ASHKAVANDI *et al.*, 2014, KATAPODI *et al.*, 2004), como em carcinomas orais, esofágicos, câncer de mama, melanoma e malignidades cutâneas (ASHKAVANDI *et al.*, 2014). O que pode sugerir um possível papel de agressividade tumoral com a presença dessas células. Além disso, os mastócitos foram significativamente observados em grandes células oxifílicas do que no estroma linfóide com centros germinativos (KOBAYASHI *et al.*, 1999).

O acúmulo de mastócitos nesta área promove a progressão do tumor por diferentes vias, incluindo um aumento na angiogênese, degradação da matriz extracelular e proteínas da membrana basal que facilitam a invasão tumoral e metástase (ASHKAVANDI *et al.*, 2014).

Imunoistoquimicamente, os mastócitos se distinguem pela presença de grânulos marrons em todo o citoplasma (KATOPODI *et al.*, 2004; MALTBY *et al.*, 2009; DĂGUCI *et al.*, 2011; VITAL *et al.*, 2012; ASHKAVANDI *et al.*, 2014),

geralmente situados no meio de uma camada de células epiteliais (DĂGUCI *et al.*, 2011, LIANG *et al.*, 2014), o que foi encontrado no nosso presente trabalho.

A presença de mastócitos no tumor de Warthin, pode ser atribuída ao seu componente linfoide, enquanto sua ausência em adenomas monomórficos pode ser explicada pela relativa falta de tecido conjuntivo estromal. Essa explicação apoia a hipótese de que a associação de mastócitos é mais provável de ser encontrada em lesões com tecido conjuntivo modificado, como os adenoma pleomórficos (KATOPODI *et al.*, 2004).

Também demonstramos claramente que a imunorreatividade da triptase anti-mastócitos foi mais intensa no componente epitelial do que no estroma linfoide. VIDAL *et al.*, 2012 observou uma maior densidade de mastócitos em região epitelial em neoplasias benignas, e maior quantidade de mastócitos em estroma de carcinomas mucoepidermóides, sugerindo um raciocínio de que uma presença de mastócitos em revestimento epitelial, há uma tendência a benignidade. Parece que a presença de mastócitos não é totalmente específica para o diagnóstico do tumor de Warthin e não pode diferenciar uma lesão de outras lesões de glândula salivar.

No entanto, nossos dados e o amplo estudo realizado na confecção dessa dissertação, sugere-se que os mastócitos podem desempenhar um papel importante, direta ou indiretamente, na patogênese do tumor de Warthin.

7. Conclusões

Apesar da nossa série de casos ser pequena, o Tumor de Warthin possui achados clínicos similares aos trabalhos prévios da literatura, especialmente da sua localização na parótida. Em adição, a proporção de mastócitos presentes tanto no parênquima como no estroma da lesão, sugere sua possível participação na patogênese da lesão.

8. REFERÊNCIAS

1 - ARTUC, Metin; STECKELINGS, U. Muscha; HENZ, Beate M. Mast cell–fibroblast interactions: human mast cells as source and inducers of fibroblast and epithelial growth factors. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 118, n. 3, p. 391-395, 2002.

2 – BRACKS Igor Vieira et al., Distribution of Mast Cells and Macrophages and Expression of Interleukin-6 in Periapical Cysts. **JOE** — Volume 40, Number 1, January 2014.

3 - BRADLEY, M. J.; DURHAM, L. H.; LANCER, J. M. The role of colour flow Doppler in the investigation of the salivary gland tumour. **Clinical radiology**, v. 55, n. 10, p. 759-762, 2000.

4 – CAUGHEY George H. Mast cell tryptases and chymases in inflammation and host defense. *Immunol Rev.* 2007 June ; 217: 141–154.

5 – CITAK EC et al. Mucoepidermoid Carcinoma in Warthin Tumor of the Parotis in Childhood: A Case Report and Review of the Literature. **J Pediatr Hematol Oncol** - Volume 41, Number 6, August 2019.

CHEN SL. *et al.*, Warthin's tumor with necrotizing tuberculous granulomatous inflammation causing severe facial nerve adhesion in parotid gland: A case report and literature review. **Medicine** (2020) 99:7.

6 – COPE W *et al.*, The Association of Warthin Tumor with Salivary Ductal Inclusions in Intra and Periparotid Lymph Nodes. **Head and Neck Pathol** (2014) 8:73–76.

7 - DĂGUCI, LUMINIȚA et al. Warthin tumor—morphological study of the stromal compartment. **Rom J Morphol Embryol**, v. 52, n. 4, p. 1319-1323, 2011.

8 - DEDITIVIS, Rogério A, PFUETZENREITER JR, Elio G, Tumor de Warthin: revisão de 60 casos. **Rev. Bras. Cir. Cabeça Pescoço**, v.39, nº 4, p. 239-241, outubro / novembro / dezembro 2010.

9 - DIAZ-SEGARRA, Nicole et al. Warthin tumor of the oropharyngeal minor salivary gland. **SAGE Open Medical Case Reports**, v. 6, p. 2050313X18818712, 2018.

10 - FAUR, ALEXANDRA et al. Warthin tumor: a curious entity-case reports and review of literature. **Rom J Morphol Embryol**, v. 50, n. 2, p. 269-273, 2009.

11 - FERREIRA, Stephany Vasco et al. Involvement of mast cells and microvessels density in reactive lesions of oral cavity: A comparative immunohistochemical study. **Pathology-Research and Practice**, v. 212, n. 9, p. 761-766, 2016.

12 - FODOR, Daniela et al. Gray scale and Doppler ultrasonography of the benign tumors of the parotid gland (pleomorphic adenoma and Warthin's tumor). **Medical ultrasonography**, v. 12, n. 3, p. 238-244, 2010.

13 - FRANZEN, Achim M. et al. Increased incidence of Warthin tumours of the parotid gland: a 42-year evaluation. **European Archives of Oto-Rhino-Laryngology**, v. 275, n. 10, p. 2593-2598, 2018.

14 - FUKUSHIMA, H. et al. Mast cells in diffuse large B-cell lymphoma; their role in fibrosis. **Histopathology**, v. 49, n. 5, p. 498-505, 2006.

15 - GREY W, Kocjan G. Diagnostic cytopathology. 3rd ed. Elsevier Health Science; 2010.

16 - HELLQUIST, Henrik et al. Analysis of the clinical relevance of histological classification of benign epithelial salivary gland tumours. **Advances in therapy**, v. 36, n. 8, p. 1950-1974, 2019.

17 - HOWLETT, D. C. et al. The role of imaging in the evaluation of parotid disease. **Clinical radiology**, v. 57, n. 8, p. 692-701, 2002.

18 - ITOO Mohd. Saleem et al., "Y" Shaped right Parotid duct – a rare anatomical presentation. **International Journal of Basic and Applied Sciences**. 4 (1) (2015) 78-81.

19 - JAAFARI-ASHKAVANDI, Zohreh; ASHRAF, Mohammad-Javad. Increased mast cell counts in benign and malignant salivary gland tumors. **Journal of dental research, dental clinics, dental prospects**, v. 8, n. 1, p. 15, 2014.

20 – KATOPODI E, *et al.*, 2004. The frequency and distribution of mast cells in pleomorphic adenomas of salivary glands. **Pathology** (June 2004) 36(3), pp. 258–261.

21 – KIM J, KIM EK, PARK CS, CHOI YS. Characteristic Sonographic Findings of Warthin's Tumor in the Parotid Gland. **Journal of clinical ultrasound**, vol. 32, no. 2, february 2004.

22 - KOBAYASHI, Tadao K. et al. Association of mast cells with Warthin's tumor in fine needle aspirates of the salivary gland. **Acta cytologica**, v. 43, n. 6, p. 1052-1058, 1999.

KOMI DEA et al., Mast Cell Biology at Molecular Level: a Comprehensive Review. Clinica I **Reviews in Allergy & Immunology**, 12 december 2019.

KÖYBAŞIOĞLU FF et al., Cytomorphological findings in diagnosis of Warthin tumor. **Turk J Med Sci** (2020) 50: 148-154.

23 – KUZENKO Yevhen V. et al. Pathogenesis of Warthin's tumors. **Interventional Medicine and Applied Science**, v. 8, n. 2, p. 41-48, 2016.

24 – LAUCIRICA R et al., False-Positive Diagnosis in Fine-Needle Aspiration of an Atypical Warthin's Tumor: Histochemical Differential Stains for Cytodiagnosis. **Diagnostic Cytopathology**, Vo15, No 4

25 – LEE DH, YOO TM, LEE JK, LIM SC. Surgical treatment strategy in Warthin tumor of the parotid gland. **Braz J Otorhinolaryngol**. 2019;**85(5)**:546-550.

26 - LEE, Valerie et al. Mismatch repair deficiency and response to immune checkpoint blockade. **The oncologist**, v. 21, n. 10, p. 1200, 2016.

27 - LIANG, C. H. et al. Imaging, clinical and pathological features of salivary gland adenolymphoma. **Eur Rev Med Pharmacol Sci**, v. 18, n. 23, p. 3638-3644, 2014.

LIAO WC *et al.*, Salivary Gland Tumors : A Clinicopathologic Analysis From Taipei Veterans General Hospital. **Annals of Plastic Surgery** • Volume 84, Supplement 1, January 2020.

28 - LIU, C. Carrie et al. Sensitivity, specificity, and posttest probability of parotid fine-needle aspiration: a systematic review and meta-analysis. **Otolaryngology-Head and Neck Surgery**, v. 154, n. 1, p. 9-23, 2016.

29 – LUERS, J. C. et al. The incidence of Warthin tumours and pleomorphic adenomas in the parotid gland over a 25-year period. **Clinical Otolaryngology**, v. 41, n. 6, p. 793-797, 2016.

30 - MALTBY, Steven; KHAZAIE, Khashayarsha; MCNAGNY, Kelly M. Mast cells in tumor growth: angiogenesis, tissue remodelling and immune-modulation. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer**, v. 1796, n. 1, p. 19-26, 2009.

31 - MATSUDA, Eriko et al. Usefulness of a novel ultrasonographic classification based on anechoic area patterns for differentiating Warthin tumors from pleomorphic adenomas of the parotid gland. **Yonago acta medica**, v. 60, n. 4, p. 220-226, 2017.

33 – ORELL S.R. Diagnostic difficulties in the interpretation of fine needle aspirates of salivary gland lesions: the problem revisited. **Cytopathology** 1995, 6, 285-300.

34 - PATEL, Depak K.; MORTON, Randall P. Demographics of benign parotid tumours: Warthin's tumour versus other benign salivary tumours. **Acta otolaryngologica**, v. 136, n. 1, p. 83-86, 2016.

PIO CONTI *et al.*, Review: Role of Mast Cells in Tumor Growth. **Annals of Clinical & Laboratory Science**, vol. 37, no. 4, 2007.

PSYCHOGIOS G , VLASTOS I, THÖLKEN R, ZENK J. Warthin's tumour seems to be the most common benign neoplasm of the parotid gland in Germany. **European Archives of Oto-Rhino-Laryngology**. 18, March 2020.

35 - RABIA, Arpaci Bozdogan et al. Warthin's tumor: An unknown pathogenesis: A neoplasm or a reactive hyperplasia?. **Indian Journal of Pathology and Microbiology**, v. 58, n. 1, p. 7, 2015.

36 – RIBATTI Domenico et al., Morphological and molecular aspects of physiological vascular morphogenesis. **Angiogenesis** (2009) 12:101–111.

37 – SAVIG D. *et al.*, Warthin tumor within the superficial lobe of the parotid gland: a suggested criterion for diagnosis. **Eur Arch Otorhinolaryngol**. Published online 24, dez 2016.

SEOK J, JEONG W, AHN S, JUNG YH. The growth rate and the positive prediction of needle biopsy of clinically diagnosed Warthin's tumor. **European Archives of Oto-Rhino-Laryngology** (2019) 276:2091–2096.

32 – SOOD N, BORAH P. Warthin's tumor: Cyto histological spectrum with emphasis on diagnostic difficulties. **Diagnostic Cytopathology**. 2018;1–7.

38 – SEETHALA RR, STENMAN G. Update from the 4th Edition of the World Health Organization Classification of Head and Neck Tumours: Tumors of the Salivary Gland. **Head and Neck Pathol** (2017) 11:55–67.

39 - SUBHASHRAJ, Krishnaraj. Salivary gland tumors: a single institution experience in India. **British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 46, n. 8, p. 635-638, 2008.

Sučić et al., Cytopathology and diagnostics of Warthin's tumour. **Cytopathology**. 2020;31:193–207.

40 – TAN Y *et al.*, Diagnostic pitfalls of infarcted Warthin tumor in frozen section evaluation. **Annals of Diagnostic Pathology** 25 (2016) 26–30.

41 – TEYMOORTASH A. et al. Clinical features of cystadenolymphoma (Warthin's tumor) of the parotid gland: A retrospective comparative study of 96 cases. **Oral Oncology** (2006) 42, 569– 573.

42 - THIELKER, Jovanna et al. Contemporary management of benign and malignant parotid tumors. **Frontiers in Surgery**, v. 5, p. 39, 2018.

TUNÇ O, GÖNÜLDAŞ B, ARSLANHAN Y, KANLIKAMA M. Change in Warthin's tumor incidence: a 20-year joinpoint trend analysis. **European Archives of Oto-Rhino-Laryngology**. 29, March 2020.

43 - TIKOO, Shweta et al. Imaging of mast cells. **Immunological reviews**, v. 282, n. 1, p. 58-72, 2018.

44 – VIDAL MTA, *et al.* Density of mast cells and microvessels in minor salivary gland tumors. **Tumor Biol.** (2013) 34:309–316.

45 - WALLS, Andrew F.; AMALINEI, Cornelia. Detection of mast cells and basophils by immunohistochemistry. In: **Basophils and mast cells**. Humana Press, New York, NY, 2014. p. 117-134.

46 - WITT, Benjamin L.; SCHMIDT, Robert L. Ultrasound-guided core needle biopsy of salivary gland lesions: A systematic review and meta-analysis. **The Laryngoscope**, v. 124, n. 3, p. 695-700, 2014.

WOO SH *et al.*, Two-Phase Computed Tomography Study of Warthin Tumor of Parotid Gland: Differentiation From Other Parotid Gland Tumors and Its Pathologic Explanation. **J Comput Assist Tomogr** - Volume 37, Number 4, July/August 2013.

47 - YOO, George H. et al. Warthin's tumor: A 40-year experience at the Johns Hopkins Hospital. **The Laryngoscope**, v. 104, n. 7, p. 799-803, 1994.

YORITA K *et al.*, Infarcted Warthin tumor with mucoepidermoid carcinoma-like metaplasia: a case report and review of the literature. **Journal of Medical Case Reports** (2019) 13:12.

48 - YU, Chunkai et al. Mucoepidermoid carcinoma arising in Warthin's tumor of the parotid gland: clinicopathological characteristics and immunophenotypes. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 1-10, 2016.