

ESTUDO MORFOLÓGICO COMPARATIVO DO INFILTRADO INFLAMATÓRIO INTRATUMORAL DO ADENOMA PLEOMORFO E DO CARCINOMA EX ADENOMA PLEOMORFO

Palavras-chave: Adenoma Pleomorfo; Carcinoma Ex-Adenoma Pleomorfo; Infiltrado inflamatório intratumoral

Benutto, G. S.¹, Scarini, J. F.², De Lima-Souza, R. A.², Egal, E.², Altemani, A.², Mariano, F. V.²

1 – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNICAMP

2 – Faculdade de Ciências Médicas - UNICAMP

INTRODUÇÃO

O adenoma pleomorfo (AP) ou tumor misto é a neoplasia benigna mais comum das glândulas salivares (Bell et al., 2017). Aparece em ordem decrescente de frequência na glândula parótida, glândula submandibular e palato. No caso da glândula parótida, representa cerca de 60 a 70% dos casos e aparece com maior incidência a partir da 4ª até a 6ª década de vida (Bell et al., 2017). Cerca de 6.3% dessas neoplasias sofrem transformação maligna e quando ocorrem originam um tumor incomum, mas agressivo, denominado carcinoma ex-adenoma pleomorfo (CxAP) (Gnepp, 1993). CxAP corresponde à transformação maligna do AP, sendo este um tumor incomum de glândulas salivares com baixa prevalência no mundo. Na mesma neoplasia estão presentes dois componentes: o benigno (ou adenomatoso) e o maligno (ou carcinomatoso) (Williams et al., 2017). Estudos destacam a instabilidade genômica, alterações metabólicas e mudanças no microambiente tumoral como os eventos moleculares mais importantes para a transformação maligna (El-Naggar et al., 2000; Scarini et al., 2020; Scarini et al., 2021).

A transformação maligna sofrida pelas células tumorais fazem com que estas apresentem na sua superfície antígenos diferenciados em relação às células normais ou mesmo antígenos específicos de tumores (Abbas e Janeway, 2000; Coussens e Werb, 2002; Beachy e Karhadkar, 2004). As células imunes são capazes de reconhecer estes antígenos de superfície das células tumorais e desenvolver uma resposta citotóxica contra elas (Nishimura et al., 1999). Além disso, os antígenos podem ativar linfócitos T CD4+ específicos responsáveis pela produção de citocinas que atuam na expansão dos clones de linfócitos B e T CD8+ específicos ao reconhecimento dos antígenos tumorais (Abbas e Janeway, 2000; Beachy e Karhadkar, 2004). Uma vez produzidos, os linfócitos B podem reconhecer antígenos na superfície das células tumorais e induzir a morte celular (Abbas e Janeway, 2000; Jong et al., 2010).

OBJETIVOS

Analisar morfologicamente uma série de AP (que não sofreram transformação maligna) e uma série de CXAP, quanto a presença e intensidade do infiltrado inflamatório intratumoral.

METODOLOGIA

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Campinas (CAAE: 8056720.8.0000.5404). Após aprovação ética, foram definidos, coletados e organizados os casos de APs (n=18) e os casos de CXAPs (n=12). A confirmação do diagnóstico foi feita a partir de cortes histológicos de fragmentos do tumor incluídos em parafina e corados com hematoxilina e eosina (H&E) do acervo do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas.

Todos os casos de CXAPs foram analisados para classificação histológica de acordo com Organização Mundial de Saúde e também foi realizada uma subclassificação segundo o grau de invasão capsular: não invasivo (in situ) ou intracapsular; minimamente invasivo (≤ 1.5 mm a invasão do componente maligno no tecido extracapsular) e francamente invasivo (> 1.5 mm a invasão do

componente maligno no tecido extracapsular). Ademais, a amostra também foi classificada quanto a composição relativa de componentes celulares e estromais. APs foram classificados em APs hipocelulares ou mixóides (com estroma 50 a 80% de estroma), clássicos (30 a 50% de estroma) e, por fim, hiper celulares ou celularizados (30% ou menos de estroma). APs e CxAPs foram também analisados quanto ao tipo de estroma (mixóide, mixocondróide e/ou hialino), presença de estruturas ductiformes (escassa, moderada e abundante), presença de infiltrado inflamatório (escasso, moderado e abundante), presença de diferenciação celular e estado da glândula normal associada (atrófica ou não).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação ao perfil clínico-epidemiológico de nossos pacientes, na série atual, avaliamos na maioria dos casos, amostras provenientes de homens adultos. APs acometiam pacientes mais jovens do que sua contraparte maligna. APs eram predominantemente clássicos, com dupla população celular e infiltrado inflamatório escasso. Os CxAPs, em sua maioria, tinham origem na célula epitelial e possuíam mínima invasão a cápsula do AP (**Figura 1**). Com exceção dos subtipos classificados como carcinomas do ducto salivar (CDS), havia pouco infiltrado inflamatório associado ao tumor. Mesmo que com pontuais diferenças, nossos dados corroboram com as principais séries disponíveis na literatura (Olsen e Lewis, 2001; Mariano et al., 2013; Scarini et al., 2020). Os dados clínico-patológicos e a análise morfológica estão expostos nas **Tabela 1 e Tabela 2**.

Parece ser consenso que tumores são antigênicos e podem induzir uma resposta imune do hospedeiro (de la Cruz-Merino et al., 2008), cuja extensão e composição podem ser avaliadas por meio da contagem de linfócitos infiltrantes ao tumor. O tumor pode direcionar o comportamento do componente inflamatório, tanto ao seu favor (em direção à promoção do seu crescimento) quanto no sentido da resistência do hospedeiro (imunidade antitumoral) (Grivennikov et al., 2010). Cânceres tendem a regular a resposta para um perfil pró-tumoral (Figueiredo, 2019).

Em relação aos tumores salivares, difunde-se a ideia de que o microambiente tumoral imunológico varie de acordo com o subtipo histológico de cada tumor (Linxweiler et al., 2020). Desse modo, os CDS geralmente apresentam um alto nível de infiltrado inflamatório. O carcinoma adenóide cístico (CAC) tende a ter um microambiente imune excluído e o carcinoma epitelial-mioepitelial (CEME) um padrão mais heterogêneo, mas geralmente intermediário. Recentemente, estudos têm mostrado que os tumores que nascem em um AP tendem a possuir microambientes imunologicamente frios em comparação com suas contrapartes 'de novo' (Linxweiler et al., 2021).

Aqui, avaliamos morfológicamente uma série mista de 12 CxAPs e percebemos que o microambiente imunológico era escasso na maioria dos casos e aumentava nos casos de CDS com franca invasão à cápsula do adenoma, embora a intensidade do infiltrado inflamatório já fosse evidente ainda nos estágios iniciais (carcinoma intraductal). Os tumores intracapsulares, bem como os minimamente invasivos (independente da histogênese luminal ou mioepitelial) não suscitavam uma resposta inflamatória significativa. Tumores com componente mioepitelial (CEME ou carcinoma mioepitelial – CM) apresentavam escassos linfócitos infiltrantes ao tumor, que quando presentes eram restritos à cápsula do adenoma. Em relação ao tecido benigno analisado, o infiltrado inflamatório era insignificante e praticamente peritumoral.

Isto sugere que embora as células benignas apresentem imunogenicidade suficiente para recrutar as células inflamatórias, elas parecem não interagir com a célula neoplásica para restringir à proliferação.

CONCLUSÕES

Tumores de glândula salivar apresentam frequentemente pouco infiltrado inflamatório intratumoral. Na sequência adenoma-carcinoma, o infiltrado inflamatório está mais presente nos tumores malignos, especialmente no CDS ex-AP.

Um número maior de amostras, bem como uma investigação mais detalhada da natureza do infiltrado inflamatório dessas lesões é necessário para definir o papel do sistema imune ao longo desse processo.

Tabela 1. Dados Clínico-Patológicos e Morfológicos do AP.

Análise Clínico-Epidemiológica									Análise morfológica					
Caso	Sexo	Idade	Local	Tamanho (cm)	Evolução (meses)	Tratamento	SA	Recidiva	Classificação	Estroma	Formação Ductal	Infiltrado Inflamatório	Diferenciação	Glândula Associada
1	M	54	GP	2,5	NI	Parotidectomia	AH	Não	Hipocelularizado	Condromixóide	Moderada a Abundante	Escasso	Não	Normal
2	F	20	GP	4	12	Parotidectomia	AH	Não	Clássico	Condromixóide e Hialino	Moderada a Abundante	Escasso	Não	Leve atrofia
3	F	27	GP	3,5	5	Parotidectomia	PV	Não	Hiperclularizado	Mixóide	Moderada a Abundante	Ausente	Não	Ausente
4	M	42	GP	4,5	96	Parotidectomia	AH	Não	Hipocelularizado	Condromixóide	Moderada a Abundante	Escasso	Não	Leve atrofia
5	M	42	GP	3,5	NI	Parotidectomia	AH	Não	Hiperclularizado	Mixóide e Hialino	Moderada a Abundante	Escasso	Não	Leve atrofia
6	M	51	GP	2	48	Parotidectomia	AH	Não	Clássico	Mixóide	Moderada a Abundante	Escasso	Não	Normal
7	M	57	GP	2,8	24	Parotidectomia	AH	Não	Hiperclularizado	Hialino mixoide	Moderada a Abundante	Ausente	Não	Normal
8	F	30	GP	3,2	84	Parotidectomia	AH	Não	Clássico	Condromixóide e Hialino	Moderada	Escasso	Não	Normal
9	M	50	GP	6,5	180	Parotidectomia	PV	Não	Clássico	Condromixóide hialino	Escassa	Ausente	Não	Normal
10	M	48	GP	6,5	180	Parotidectomia	PV	Não	Clássico	Mixóide	Abundante	Escasso	Não	Ausente
11	M	77	GP	4	36	Parotidectomia	AH	Não	Hiperclularizado	Mixóide	Abundante	Escasso	Não	Ausente
12	M	41	GP	1,2	NI	Parotidectomia	AH	Não	Hiperclularizado	Hialino	Escassa	Escasso	Não	Leve atrofia
13	F	41	GP	2	8	Parotidectomia	AH	Não	Hipocelularizado	Condromixóide	Moderada	Escasso	Não	Normal
14	F	60	GP	1,9	48	Parotidectomia	AH	Não	Hiperclularizado	Condromixóide	Abundante	Escasso	Não	Ausente
15	M	38	GP	3,4	24	Parotidectomia	AH	Não	Clássico	Condromixóide	Abundante	Escasso	Não	Normal
16	M	31	GP	2,7	48	Parotidectomia	AH	Não	Hipocelularizado	Condromixóide	Abundante	Escasso	Não	Normal
17	M	36	GP	4,9	5	Parotidectomia	AH	Não	Clássico	Condromixóide	Abundante	Escasso	Escamosa	Ausente
18	F	62	GP	2	NI	Parotidectomia	AH	Não	Clássico	Mixóide e hialino	Escassa	Escasso	Não	Normal

Legenda: M: Masculino; F: Feminino; GP: Glândula parótida; AH: Alta hospitalar; PV: Perdido de vista; SA: Situação atual.

Tabela 2. Dados Clínico-Patológicos e Morfológicos do CXAP.

Análise Clínico-Epidemiológica												Análise Morfológica				
Caso	Sexo	Idade	Local	TNM	AP prévio	Tamanho (cm)	Tratamento	Recidiva	SA	CHP	CH	Estroma	Formação Ductal	Infiltrado Inflamatório	Diferenciação	Glândula Associada
1	F	81	GP	NI	Sim	6,2	Parotidectomia	NI	PV	NI	NI	Hialinizado	Escasso	Escasso	Ausente	Atrofia leve
2	F	NI	NI	NI	NI	6	Parotidectomia	NI	PV	AdNOS	FI	Condromixóide	Abundante	Ausente	Ausente	Ausente
3	F	34	NI	NI	Sim	2,8	Parotidectomia	Não	PV	EMEC	NI	Condromixóide	Abundante	Escasso	Ausente	Ausente
4	M	64	GP	NI	Não	NI	NI	NI	PV	SDC	MI	Mixóide e Hialino	Abundante	Escasso	Ausente	Ausente
5	F	61	GP	T3N0M0	Não	6	Parotidectomia	Não	VSD	MC	IC	Condromixóide	Ausente	Ausente	Ausente	Normal
6	F	59	GP	T3N0M0	Sim	4	Parotidectomia	Sim	PV	EMEC	FI	Hialinizado	Moderado	Ausente	Ausente	Ausente
7	M	67	GP	NI	Não	4	Parotidectomia	Não	PV	EMEC	MI	Condromixóide	Moderado	Escasso	Ausente	Normal
8	M	71	GP	NI	Não	8	Parotidectomia	NI	PV	SDC	FI	Hialinizado	Abundante	Abundante	Ausente	Abundante
9	F	30	GP	T3N0M0	Sim	7,5	NI	Não	PV	EMEC	MI	Condromixóide	Moderado	Escasso	Ausente	Normal
10	M	69	GP	T1N0M0	Não	2	Parotidectomia	Não	VSD	AdNOS	MI	Hialinizado	Abundante	Leve	Ausente	Normal
11	F	39	GS	T2N0M0	Não	4	NI	NI	PV	MC	MI	Hialinizado	Escasso	Escasso	Ausente	Atrofia leve
12	M	55	GS	T4aN0	NI	7,3	NI	NI	PV	MC	FI	Mixóide e hialino	Ausente	Escasso	Ausente	Normal

Legenda: SA: Situação atual; M: Masculino; F: Feminino; NI: Não informado; GP: Glândula parótida; GS: Glândula submandibular; MOC: Morto por outras causas; PV: Perdido de vista; VSD: Vivo sem doença; MI: Minimamente invasivo; FI: Francamente invasivo; IC: Intracapsular; SDC: Carcinoma de ducto salivar; MC: Carcinoma mioepitelial

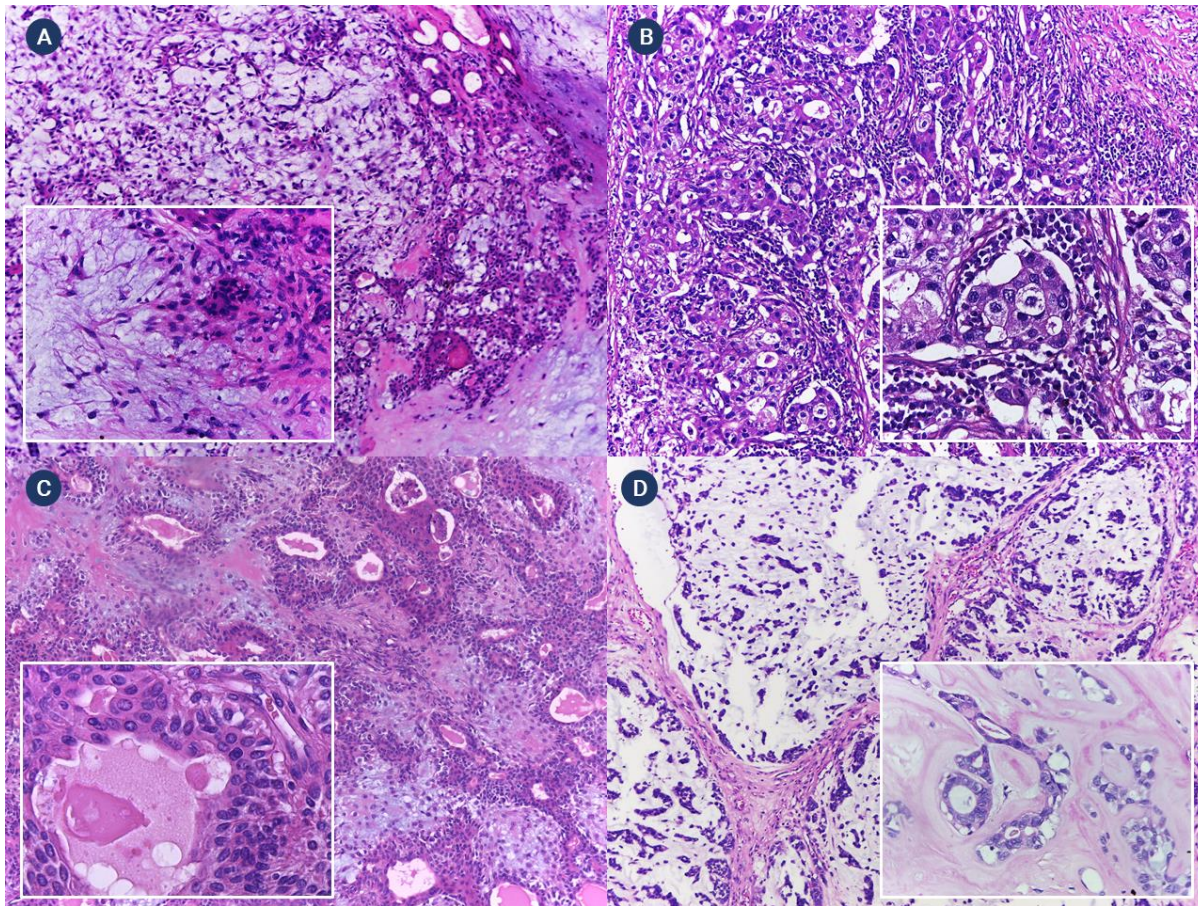


Figura 1. A e C – Aspectos microscópicos do AP. Em A, tumor com estroma predominantemente mixoide, com áreas celularizadas. No detalhe, área mixoide em evidência. Em C, presença de estruturas ductais circundadas por uma camada de células epiteliais ductais contendo material eosinofílico em seu interior. No detalhe, o padrão de células epiteliais (citoplasma mais eosinofílico) e mioepiteliais (camada externa de células com citoplasma mais claro) pode ser observado. **B e D** – Aspectos microscópicos do CXAP. Em B, proliferação epitelial com pleomorfismo nuclear acentuado dentro e entre as estruturas ductais de um carcinoma do ducto salivar ex-AP francamente invasivo. No detalhe, notar infiltrado linfocitário intratumoral. Em D, exuberante matriz mixoide com áreas hialinas e células pleomórficas ora fusiformes, ora plasmacitoides, distribuídas em um padrão microscópico variado de um carcinoma mioepitelial ex-AP francamente invasivo.

REFERÊNCIAS

1. Abbas, A. K.; Janeway Jr, C. H. *Immunology: improving on nature in the twenty-first century*. Cell 2000; 100:129-38.
2. Beachy, P. A.; Karhadkar, S. S.; Berman, D. M. *Mending and malignancy*. Nature 2004; 431:402.
3. Coussens, L. M.; Werb, Z. Inflammation and cancer. Nature 2002; 420:860-7
4. de la Cruz-Merino L, Grande-Pulido E, Albero-Tamarit A, Codes-Manuel de Villena ME. *Cancer and immune response: old and new evidence for future challenges*. Oncologist. 2008 Dec;13(12):1246-54.
5. El-Naggar, A.K., Callender, D., Coombes, M.M., Hurr, K., Luna, M.A., Batsakis, J.G., 2000. *Molecular genetic alterations in carcinoma ex-pleomorphic adenoma: A putative progression model?* Genes, Chromosom. Cancer 27, 162–168.
6. Bell, D., Bullerdiel, J., Gnepp, D.R., Schwartz, M.R., Stenman, G., Triantafyllou, A., 2017. *Pleomorphic adenoma*, in: El-Naggar A, Chan, JKC, Grandis, JR, Takata, T, Slootweg, P. (Ed.), World Health Organization Classification of Tumours. IARC Press, Lyon, pp. 185–186.
7. Figueiredo, CRLV. *O intrigante paradoxo da inflamação associada ao câncer: uma atualização*. J. Bras. Patol. Med. Lab. 55 (3) May-Jun 2019.
8. Gnepp, D.R., 1993. *Malignant mixed tumors of the salivary glands: a review*. Pathol. Annu. 28 Pt 1, 279–328.
9. Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. *Immunity, inflammation, and cancer*. Cell. 2010 Mar 19;140(6):883-99. doi: 10.1016/j.cell.2010.01.025. PMID: 20303878; PMCID: PMC2866629.
10. Jong, A.; Peña-Cruz, V.; Cheng, T. Y.; Clark, R. A.; Van Rhijn, I.; Moody, D. B. *CD1a-autoreactive T cells are a normal component of the human $\alpha\beta$ T cell repertoire*. Nat Immunol 2010; 11:1102-9.
11. Linxweiler M, Kuo F, Katabi N, Lee M, Nadeem Z, Dalin MG, Makarov V, Chowell D, Dogan S, Ganly I, Hakimi AA, Wong RJ, Riaz N, Ho AL, Chan TA, Morris LGT. *The Immune Microenvironment and Neoantigen Landscape of Aggressive Salivary Gland Carcinomas Differ by Subtype*. Clin Cancer Res. 2020 Jun 15;26(12):2859-2870.
12. Linxweiler M, Wang J, Morris LGT. *The role of immune surveillance in malignant transformation of benign salivary gland tumors*. Oncotarget. 2021 Mar 30;12(7):592-595.
13. Mariano FV, Noronha AL, Gondak RO, Altemani AM, de Almeida OP, Kowalski LP. *Carcinoma ex pleomorphic adenoma in a Brazilian population: clinico-pathological analysis of 38 cases*. Int J Oral Maxillofac Surg. 2013 Jun;42(6):685-92.
14. Nishimura, T.; Iwakabe, K.; Sekimoto, M.; et al. *Distinct role of antigen-specific T helper type 1 (Th1) and Th2 cells in tumor eradication in vivo*. J Exp Med 1999; 190:617-27.
15. Olsen KD, Lewis JE. *Carcinoma ex pleomorphic adenoma: a clinicopathologic review*. Head Neck. 2001 Sep;23(9):705-12.
16. Scarini JF, Egal ESA, de Lima-Souza RA, Crescencio LR, Emerick C, Kowalski LP, Altemani A, Mariano FV. *Two sides of the same coin: Insights into the myoepithelial cells in carcinoma ex pleomorphic adenoma development*. Crit Rev Oncol Hematol. 2021 Jan;157:103195.
17. Scarini, J.F., Rosa, L.F., Souza, R.A. de L., Egal, E.S.A., Tincani, A.J., Martins, A.S., Kowalski, L.P., Graner, E., Coletta, R. Della, Carlos, R., Gondak, R. de O., de Almeida, O.P., Altemani, A.M. de A.M., Bastos, D.C., Mariano, F.V., 2020. *Gene and immunohistochemical expression of HIF-1 α , GLUT-1, FASN, and adipophilin in carcinoma ex pleomorphic adenoma development*. Oral Dis.
18. Williams, M., Ihrler, S., Seethala, R., 2017. *Carcinoma ex pleomorphic adenoma*, in: El-Naggar A, Chan, JKC, Grandis, JR, Takata, T, Slootweg, P. (Ed.), World Health Organization Classification of Head and Neck Tumours. IARC Press, Lyon, pp. 176–177.