

REVISTA DE PATOLOGIA DO TOCANTINS

O ADENOMA PLEOMÓRFICO EXPRESSA MASTÓCITOS E PAR-2: UM ESTUDO PILOTO THE PLEOMORPHIC ADENOMA EXPRESSES MAST CELLS AND PAR-2: A PILOT STUDY

Editor: Anderson Barbosa Baptista

Publicado: janeiro/junho 2025.

Direitos Autorais: Este é um artigo de acesso aberto que permite o uso, a distribuição e a reprodução sem restrições em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

Conflito de Interesses: os autores declaram que não existem conflitos de interesses.

DOI: [10.20873/RPT/fluxocontinuo19871](https://doi.org/10.20873/RPT/fluxocontinuo19871)

***Lorena Rodrigues Souza**

Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, Bahia. E-mail: lorenarodrigues@ufba.br | [Orcid.org/0000-0002-9789-2556](https://orcid.org/0000-0002-9789-2556)

Adna Barros Ismerim

Professora Assistente do Departamento de Saúde. Universidade Estadual de Sudoeste da Bahia (UESB), Jequié, Bahia | [Orcid.org/0000-0002-4815-8873](https://orcid.org/0000-0002-4815-8873)

Cecília Vitória Lima de Oliveira

Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, Bahia | [Orcid.org/0009-0009-5530-1699](https://orcid.org/0009-0009-5530-1699).

Flávia Caló de Aquino Xavier

Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, Bahia. | [Orcid.org/0000-0002-0199-6503](https://orcid.org/0000-0002-0199-6503).

Clarissa Araújo Gurgel Rocha

Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, Bahia. | [Orcid.org/0000-0001-8922-2985](https://orcid.org/0000-0001-8922-2985).

Valéria Souza Freitas

Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Feira de Santana, Bahia. | [Orcid.org/0000-0002-7259-4827](https://orcid.org/0000-0002-7259-4827);

Co-autores: Patrícia Ramos Cury | [Orcid.org/0000-0001-8907-0483](https://orcid.org/0000-0001-8907-0483); Jean Nunes dos Santos | [Orcid.org/0000-0001-7225-5879](https://orcid.org/0000-0001-7225-5879).

***Autor correspondente:** Mestranda em Odontologia e Saúde pelo Programa de Pós-graduação em Odontologia e Saúde; e-mail: lorenarodrigues@ufba.br.

ABSTRACT

Introduction: Pleomorphic adenoma (PA) is the most common benign pathology in salivary glands, characterized by significant pleomorphism, and its biological behavior may be mediated by mast cells, myofibroblasts, PAR-2, IL-6, and TGF β 1. **Objective:** This study aimed to investigate the presence of mast cells and proteins (α -SMA, PAR-2, IL-6, and TGF β 1) associated with the differentiation of myofibroblasts in pleomorphic adenomas of salivary glands. **Methodology:** A sample of 10 PA cases was selected from the archives of the Pathology Department at the School of Dentistry, Federal University of Bahia, Brazil. Immunohistochemical analysis was performed using antibodies against PAR-2, IL-6, TGF β 1, Mast Cell (for mast cell staining), and α -SMA. Data analysis was descriptive, utilizing measures of central tendency and percentages. **Results:** Mast cells were found in all cases, primarily concentrated in the fibrous capsule and near blood vessels, showing more prominent staining in the peritumoral region compared to the intratumoral density. Myofibroblasts showed low expression in 60% of the cases and were only observed in the capsule. PAR-2 exhibited high expression in 60% of the cases. IL-6 nuclear staining varied between negative (40%) and high expression (40%), with cytoplasmic and membranous staining in epithelial cells, some myoepithelial cells, and cells surrounding the ducts. The TGF β 1 staining index was high in only 40% of the cases, with either cytoplasmic or nuclear staining observed in myoepithelial and ductal cells. **Conclusion:** The study's results showed a significant presence of peritumoral mast cells and PAR-2 in PA cases, with low expression of α -SMA, IL-6, and TGF β 1.

KEYWORDS: Pleomorphic Adenoma; Immunohistochemistry; Mast Cells.

RESUMO

Introdução: O adenoma pleomórfico (AP) é o tipo de patologia benigna mais comum nas glândulas salivares, apresenta grande pleomorfismo e pode ter o seu comportamento biológico mediado por mastócitos, miofibroblastos, PAR-2, IL-6 e TGF β 1. **Objetivo:** Este trabalho propôs-se a estudar a presença de mastócitos e de proteínas (α -SMA, PAR-2, IL-6 e TGF β 1) relacionadas com a diferenciação de miofibroblastos no adenoma pleomórfico de glândulas salivares. **Metodologia:** A amostra com 10 casos de AP foi selecionada dos arquivos do Serviço de Anatomia Patológica da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Bahia, Brasil e foi realizado o estudo imuno-histoquímico utilizando os anticorpos PAR-2, IL-6, TGF β 1, Mast Cell (para a marcação dos mastócitos) e α -SMA. A análise dos dados encontrados foi feita de maneira descritiva, utilizando medidas de tendência central e porcentagem. **Resultados:** Os mastócitos foram encontrados em todos os casos e concentravam-se mais frequentemente na cápsula fibrosa e próximo aos vasos sanguíneos, mostrando marcação mais evidente na região peritumoral quando comparada com a densidade intratumoral. Os miofibroblastos apresentaram baixa expressão em 60% dos casos e foram observados apenas na cápsula. PAR-2 apresentou alta expressão em 60% dos casos. A marcação nuclear do IL-6 variou entre negativo (40%) e alta expressão (40%), também houve marcação citoplasmática e membranar de células epiteliais e algumas células mioepiteliais, como também células externas dos ductos. O índice de marcação do TGF β 1 foi alto em apenas 40% dos casos, havendo marcação ora citoplasmática, ora nuclear de células mioepiteliais e ductais. **Conclusão:** O resultado do estudo mostrou uma presença significativa de mastócitos peritumorais e de PAR-2 nos casos de AP e baixa expressão de α -SMA, IL-6 e TGF β 1.

PALAVRAS-CHAVE: Adenoma pleomórfico; Imunohistoquímica; Mastócitos

INTRODUÇÃO

O adenoma pleomórfico (AP) é a neoplasia benigna mais comum em glândula salivar^{1,2,3}. Histologicamente, o AP apresenta uma grande diversidade de padrão citoarquitetural que consiste em quantidades variáveis de componentes epiteliais e mesenquimais em uma matriz extracelular mixóide variável^{4,5,6,7}.

Sabe-se que a interação dos tumores com os componentes epiteliais e estromais podem favorecer o seu crescimento e sua invasão⁸. Nesta perspectiva, diversos marcadores têm contribuído para o estudo desses componentes, como fator de necrose tumoral, ativação do fator de células-tronco, fator de crescimento endotelial vascular⁹, CD34¹⁰, interferon-gama¹¹, IL-8¹² e IL-1¹³.

Os miofibroblastos mostram ter relação com a promoção, agressividade e invasão tumoral^{14,15}, especialmente em neoplasias malignas de glândula salivar¹⁶. A observação da ação dos miofibroblastos pode ocorrer por meio da detecção de altos níveis de actina alfa de músculo liso (α -SMA)^{9,13,17,18} e dos sinais específicos que podem levar à conversão de fibroblastos à miofibroblastos, destacando-se entre eles os receptores ativados por protease-2 (PAR-2), o fator de crescimento transformador beta 1 (TGF β 1) e a interleucina 6 (IL-6). Em adição, os mastócitos podem induzir a formação e a atividade dos miofibroblastos^{19,20}.

Especula-se que o PAR-2 esteja envolvido na regulação da proliferação celular, migração e invasão de algumas neoplasias^{16,21,22}, porém até o momento a literatura não aborda a relação do PAR-2 com o desenvolvimento do AP. O TGF β 1 é o principal responsável pela transdiferenciação de fibroblastos à miofibroblastos^{19,23}, sendo um importante fator nesta fisiopatologia⁹. A IL-6 é uma citocina pró-inflamatória que pode ser produzida por miofibroblastos e mastócitos¹² e a sua presença no microambiente tumoral está relacionada com o estímulo ao crescimento e à invasão neoplásicas^{12,13,24}.

Um estudo prévio do nosso grupo de pesquisa mostrou que há uma possível participação de mastócitos, PAR-2, TGF β 1 e a IL-6 no desenvolvimento do

adenocarcinoma polimorfo de baixo grau, carcinoma mucoepidermóide e carcinoma adenoide cístico¹⁶.

Portanto, considerando a importância dos mastócitos na diferenciação miofibroblástica e no desenvolvimento das neoplasias, este trabalho visou estudar a presença de mastócitos e expressão das proteínas α -SMA, PAR-2, IL-6 e TGF β 1 no AP, a fim de contribuir para o conhecimento do perfil biológico dessa neoplasia.

METODOLOGIA

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Bahia (UFBA) com o Certificado de Apresentação de Apreciação Ética número 13090013.5.0000.5024 e parecer número 235.138.

Por se tratar de um estudo piloto, a amostra foi de conveniência composta por 10 casos de AP obtidos dos arquivos do Serviço de Anatomia Patológica da Faculdade de Odontologia da UFBA, selecionados de forma aleatória, diagnosticados de acordo com a classificação da Organização Mundial da Saúde²⁵ e com presença de material biológico suficiente e em boas condições de uso.

Imuno-histoquímica

A análise das lâminas foi executada por dois observadores, utilizando um microscópio de alta definição em um aumento de 400x (Axiostar Plus, Zeiss, Germany, 2008) e registrada com uma câmera digital (Axiocam lcc3, Zeiss, Germany, 2008) e um software específico (Axiovision Rel 4.8, Zeiss, Germany, 2008). A imuno-histoquímica foi realizada utilizando a metodologia adaptada do estudo de Ismerim et al.¹⁶ para estudar as expressões dos anticorpos PAR-2, IL-6, TGF β 1, Mast Cell (para a marcação dos mastócitos) e α -SMA. A marcação da Calponina foi realizada para diferenciar o conteúdo mioepitelial dos miofibroblastos. Foram usados espécimes fixados em formol, emblocados em parafina e com cortes de 3 μ m de espessura. Após a padronização dos anticorpos, os

casos foram submetidos à imunomarcação. A marcação de PAR-2, IL-6 e TGFβ1 também foi feita em espécimes de glândulas salivares normais, contudo não foi feita nos mastócitos por não apresentarem uma diferença significativa entre tumores benignos e malignos e glândula salivar normal²⁶. Para exposição dos epítomos antigênicos, as secções foram submetidas à recuperação antigênica em calor úmido a 95°C por 45 minutos (PAR-2, IL-6, Calponina, TGFβ1, α-SMA) ou na estufa a 37°C por 30 minutos (Mast cell). A Tabela 1 mostra o fabricante, clone, diluição, recuperação antigênica e controle positivo para cada anticorpo utilizado. Após os cortes retornarem à temperatura ambiente, foram lavados em água corrente, seguido do bloqueio da peroxidase endógena tecidual, realizado em solução de peróxido de hidrogênio a 3% e água destilada por 10 minutos e protegido da luz.

Tabela 1 - Anticorpo, marca, clone, diluição, recuperação antigênica e controle positivo. Salvador-Ba, 2024.

Anticorpo	Marca	Clone	Diluição	Recuperação	Controle positivo
PAR-2	Novus biologicals	Policlonal	1:50	Citrato pH 6,0	CA mama
IL-6	Novus biologicals	NB600-1131	1:600	Citrato pH 6,0	Cisto periapical
Calponina	Dako	Clone-calp	1:50	Citrato pH 6,0	CA de mama
TGFβ1	Abcam	2 Ar2	1:100	EDTA pH 9,0	CA de mama
Mast Cell	Dako	AA1	1:50	Tripsina 1%	Mastocitose
SMA	Dako	1A4	1:100	Citrato pH 6,0	Mastocitose

Fonte: Próprios autores.
 Em seguida, os anticorpos foram diluídos com solução redutora de *background* (*Dako Corporation, Carpinteria, USA*) aplicados sobre os cortes e incubados por 18h (*overnight*) a 4°C. Para o anticorpo Mast Cell, a incubação foi feita à temperatura ambiente por 1h. Em seguida, foi aplicado o sistema polimérico *EnVision Advance* (*Dako Corporation, Carpinteria, USA*) à temperatura ambiente durante 20 minutos em HRP link e 20 minutos em HRP enzyme.

Para revelação da reação foi empregado o DAB (3,3'- diaminobenzidina, *Dako Corporation, Carpinteria, USA*) em câmara escura por 5 minutos. Em seguida, as secções teciduais foram contracoradas com hematoxilina de Harris por 5 minutos. Após desidratação e diafanização, as lâminas foram montadas com Bálsamo do Canadá. Para o controle negativo, cada anticorpo primário foi substituído por soro normal de mesmo isotipo.

Avaliação imuno-histoquímica

O exame imunohistoquímico dos mastócitos foi realizado com base no critério usado por Vidal et al.²⁷, através da identificação da presença ou ausência dos mastócitos nos tumores em aumento de 400x em 10 campos, a contagem por mm² foi realizada e foi determinada a média de contagem para cada caso. O mesmo critério proposto por Costa et al.²⁸, descrito anteriormente para calponina, foi adaptado para as células estromais α -SMA positivas (miofibroblastos), onde a imunorreatividade foi estabelecida como <50% e $\geq 50\%$.

As células positivas ao PAR-2, IL-6 e TGF β 1 foram quantificadas em cinco campos microscópicos de maior confluência, estabelecendo-se o índice de marcação (IM). A marcação foi classificada de acordo com a sua localização: nuclear ou citoplasmática. Também foram descritos os tipos celulares positivamente marcados. Os casos foram classificados de acordo com a intensidade e a proporção de marcação. O índice de coloração foi determinado de acordo com a intensidade e a proporção da marcação, classificados em 4 escores: escore 0 = sem coloração, escore 1 = coloração fraca, escore 2 = coloração moderada e escore 3 = coloração forte. A proporção de marcação foi definida como a percentagem de células marcadas (0 = 0-10%, 1 = 11-25%, 2 = 26-50%, 3 = 51-75%, 4 = 76-100%). IM foi calculado através da multiplicação da intensidade (0-3) pela proporção (de 0 a 4). Em seguida, classificamos a expressão de proteínas por IM:

negativo (-) para IM=0, baixa expressão (1+) para IM entre 1 e 4, alta expressão (2+) para IM entre 5 e 8, e superexpressão (3+) para IM entre 9 e 12 (adaptado de Dutra et al.²⁹; Yan et al.³⁰; Wei et al.³¹; Dong et al.³²). Para possibilitar a interpretação, o IM foi categorizado em dois grupos: alta imunoexpressão (2+ e 3+) e baixa imunoexpressão (- e 1+).

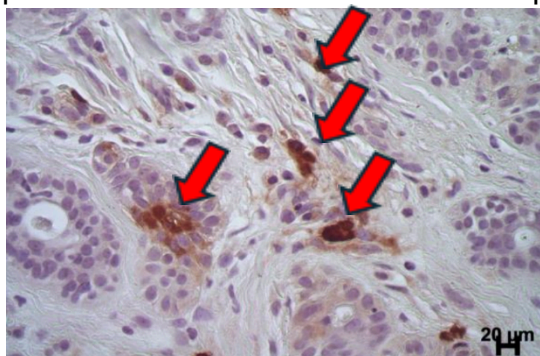
Por se tratar de um estudo piloto com uma amostra de conveniência de poucos casos, a análise dos dados encontrados foi feita de maneira descritiva, utilizando medidas de tendência central e porcentagem.

RESULTADOS

IMUNOMARCAÇÃO DOS MASTÓCITOS

Os mastócitos foram encontrados em todos os casos e concentravam-se mais frequentemente na cápsula fibrosa e próximo aos vasos sanguíneos, mostrando morfologia variada (oval, alongada ou arredondada) (Figura 1). A densidade total de mastócitos foi 3,35 células/mm², sendo que a marcação foi mais evidente na região peritumoral (2,60 células/mm²) quando comparada a densidade intratumoral (0,25 células/mm²).

Figura 1 - Imunomarcção de Mast cell. Observar mastócitos de formatos variados (setas) presentes tanto no estroma como no parênquima tumoral.

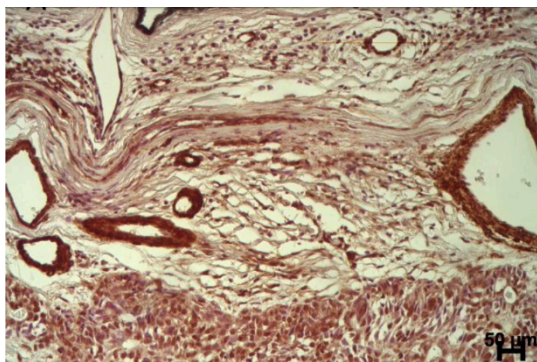


Fonte: Próprios autores.

IMUNOMARCAÇÃO DOS MIOFIBROBLASTOS POR SMA

Os miofibroblastos apresentaram expressão <50% em 60% dos casos (n=6) (Tabela 2) e foram observados apenas na cápsula e em baixa expressão, não apresentando marcação no interior do tumor (Figura 2).

Figura 2 - Imunomarcação de SMA. Observar miofibroblastos presentes em área de lesão bem delimitada.



Fonte: Próprios autores.

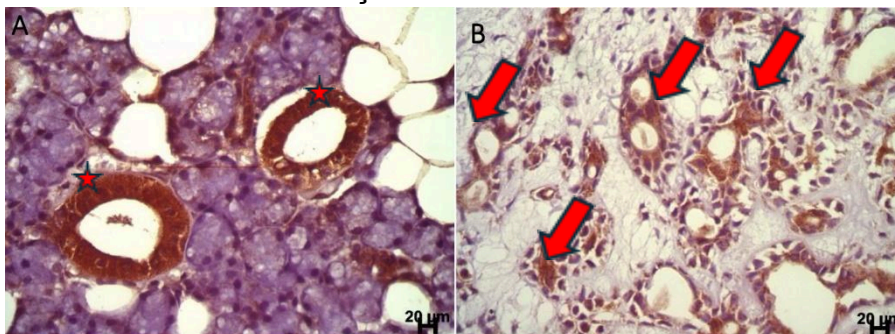
IMUNOMARCAÇÃO DE CALPONINA

A calponina utilizada para diferenciar os miofibroblastos do conteúdo mioepitelial foi <50% em metade dos casos (n=5).

IMUNOMARCAÇÃO DE PAR-2

Em glândula salivar normal, houve marcação citoplasmática e nuclear das células ductais (Figura 3A). No AP, 60% dos casos (n=6) apresentaram alta expressão de PAR-2 (Tabela 2). Observou-se marcação citoplasmática das células mais internas dos ductos, de algumas células mioepiteliais e células lumbais (Figura 3B). Em um caso, a marcação ocorreu em todo o componente ductal. Notou-se ainda, no estroma, marcação de células inflamatórias e vasos sanguíneos.

FIGURA 3 - Imunomarcação do PAR-2.



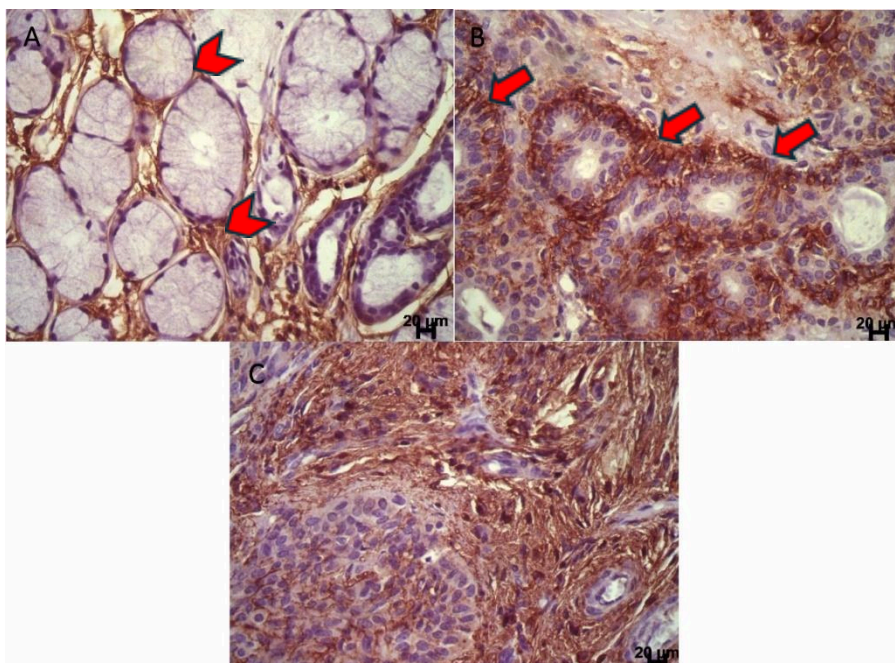
(A) Glândula salivar normal: Imunomarcção presente especialmente nos ductos glandulares (estrelas). (B) Adenoma Pleomórfico: Imunomarcção citoplasmática presente em células luminais das estruturas ductais (setas).

Fonte: Próprios autores.

IMUNOMARCAÇÃO DE IL-6

Em glândula salivar normal, houve marcação granular e por vezes membranar das células mioepiteliais. No entanto, os ductos não apresentaram marcação (Figura 4A). No AP, a marcação nuclear do IL-6 variou entre negativo (n=4) e alta expressão (n=4) (Tabela 2). Observou-se marcação citoplasmática e membranar, eventualmente nuclear, de células epiteliais e algumas células mioepiteliais, como também células externas dos ductos. As células epitelíoides mostraram marcação citoplasmática. No estroma, observou-se uma intensa marcação. Houve marcação da matriz fibrosa, células inflamatórias e alguns fibroblastos (Figura 4B e 4C).

Figura 4 - Imunomarcção de IL-6.



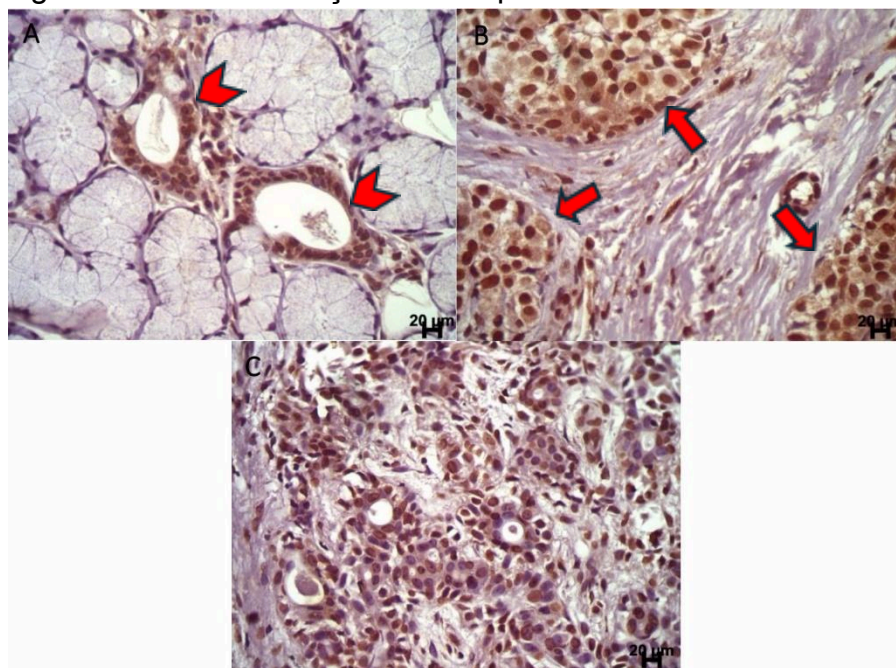
(A) Glândula Salivar Normal: Observar imunomarcção no tecido estromal e em células mioepiteliais em torno dos ácinos mucosos (pontas de setas). (B) Adenoma Pleomórfico: Imunomarcção citoplasmática e membranar de células ductais externas (setas). (C) Observar imunomarcção membranar de células mioepiteliais, bem como fibroblastos e matriz extracelular no AP.

Fonte: Próprios autores.

IMUNOMARCAÇÃO DO TGF β 1

Em glândula salivar normal, houve marcação citoplasmática e nuclear das células ductais (Figura 5A). No AP, o IM foi alto em apenas 40% dos casos (n=4). Houve marcação ora citoplasmática, ora marcação nuclear de células mioepiteliais e ductais (Figura 5B e 5C). Os fibroblastos e células inflamatórias também exibiam marcação.

Figura 5 - Imunomarcação do TGF β 1.



(A) Glândula Salivar Normal: Imunomarcação de células ductais presentes em ductos glandulares bem diferenciados (pontas de setas). (B) Adenoma Pleomórfico: Nichos de células mioepiteliais imunomarcados (setas). (C) Notar núcleos celulares de estruturas ductais imunomarcadas no AP.

Fonte: Próprios autores.

Tabela 2. Expressão de SMA, PAR-2, IL-6 e TGF β 1 no AP. Salvador-Ba, 2024.

MARCADORES	EXPRESSÃO	n (%)
SMA	<50%	6(60%)
	≥50%	4(40%)

Fonte: Próprios autores.

Os dados da relação entre a imunoexpressão do PAR-2, IL-6, TGFB1 e SMA com os parâmetros clínicos no AP podem ser observados na Tabela 3.

Tabela 3. Relação entre a imunoexpressão do PAR-2, IL-6, TGFB1 e SMA com os parâmetros clínicos dos casos de Adenoma Pleomórfico. Salvador-Ba, 2024.

MARCADOR	PAR-2		IL-6		TGFB1		SMA	
EXPRESSÃO	ALTA (n)	BAIXA (n)	ALTA (n)	BAIXA (n)	ALTA (n)	BAIXA (n)	<50% (n)	>50% (n)
Sexo								
M	2	1	1	2	1	2	2	1
F	4	3	3	4	3	4	4	3
Idade								
<40 ANOS	4	1	2	3	2	3	2	3
≥40 ANOS	2	3	2	3	2	3	4	1
Localização								
Glândula maior	3	4	1	6	3	4	5	2
Glândula menor	3	0	0	3	1	2	1	2
Tamanho								
<3 cm	0	0	0	0	0	0	0	0
≥3 cm	2	1	2	1	1	2	1	2
Não disponível	4	3	2	5	3	4	5	2

Fonte: Próprios autores.

DISCUSSÃO

No presente trabalho foi avaliada a presença dos mastócitos e de proteínas relacionadas com a diferenciação miofibroblástica no AP, a fim de contribuir para o conhecimento do perfil biológico dessa neoplasia e do seu microambiente tumoral.

Nossos resultados mostraram que os mastócitos estavam presentes em todos os casos e localizados próximos a vasos sanguíneos e predominantemente em regiões peritumorais (2,60 células/mm²), concordando com o trabalho realizado por Vidal et al.²⁷. Ainda, outros trabalhos realizados^{27,33,34} também encontraram uma maior concentração de mastócitos em áreas peritumorais.

Um achado interessante observado no nosso estudo foi a presença marcante de mastócitos na pseudo-cápsula do AP, as quais parecem contribuir para a formação dessa estrutura em AP. A atividade de mastócitos no microambiente tumoral é vista principalmente na progressão da angiogênese, remodelação tecidual, supressão de respostas antitumorais e atração de células inflamatórias^{35,36}.

As proporções de fibroblastos e miofibroblastos nos tumores podem ser calculadas com a imunomarcagem de α -SMA. Os miofibroblastos podem estar relacionados ao comportamento agressivo de crescimento do tumor de glândula salivar³⁷. Neste estudo, a marcação do α -SMA foi baixa em 60% dos casos, indicando uma baixa taxa de invasão devido à reação miofibroblástica nos tumores³⁸.

O presente trabalho também mostrou que a presença de PAR-2 estava alta em 60% dos casos (n=6). A imunocoloração para PAR-2 foi predominantemente citoplasmática, concordando com o trabalho de Ismerim et al.¹⁶ que observaram coloração citoplasmática de PAR-2 em células de tumores malignos de glândula salivar. O PAR-2 facilita a proliferação e migração celular, angiogênese, interações celulares com fibroblastos, células endoteliais e células vasculares^{21,22,39-44}. É possível que a proliferação e migração celular promovida pelo PAR-2 tenha relação com o desenvolvimento tumoral no AP, no entanto, mais estudos em tumores de glândula salivar são necessários para esclarecer esta relação.

A marcação da IL-6 foi baixa em 60% dos casos, sendo presentes nas porções citoplasmática e membranar nas células epiteliais, regiões mioepiteliais e células externas

dos ductos, sendo evidente intensa marcação estromal. Esses achados concordam com aqueles descritos por Andreasen et al.⁴⁵, que também observaram intensa expressão de IL-6 no citoplasma dos ductos de AP. A IL-6 é uma citocina que atua no crescimento e na patogênese tumoral⁴⁶ por inibição da apoptose e indução da angiogênese⁴⁷.

Um fator de crescimento chave para a formação de miofibroblastos é o TGFβ1. Os resultados do estudo mostram que a expressão do TGFβ1 foi baixa (60%). O TGFβ1 induz diretamente a produção de matriz extracelular e a diferenciação de fibroblastos em miofibroblastos¹⁹, sendo um fator chave no desenvolvimento do microambiente tumoral pelo potencial de influenciar a invasão celular e angiogênese⁹. O AP é um tumor que tem rica quantidade de matriz extracelular, onde a IL-6 e TGFβ1 parecem contribuir para esta formação de matriz.

Mesmo com a presença de mastócitos e proteínas relatados nos casos aqui estudados, mais trabalhos devem ser feitos para avaliar a correlação entre mastócitos, miofibroblastos, IL-6 e TGFβ1 no desenvolvimento do AP.

CONCLUSÃO

O presente estudo mostrou um número elevado de mastócitos peritumorais e de PAR-2 nos casos. Contudo, não houve uma expressão significativa de α-SMA, IL-6 e TGFβ1, uma das razões seria a pequena amostra do trabalho. Sugerimos que novos estudos sejam realizados visando compreender o mecanismo pelo qual os mastócitos e proteínas relacionadas (PAR-2, IL-6 e TGFβ1) podem estar relacionadas ao crescimento e progressão do AP.

REFERÊNCIAS

1 Seethala RR. Salivary gland tumors: Current concepts and controversies. Surg Pathol Clin. 2017 Mar;10(1):155-176. <http://dx.doi.org/10.1016/j.path.2016.11.004>. PMID: 28153132.

- 2 Alsufyani NA, Altowaijri AA, Alshehri BM, et al. Systematic Review of Clinical and Radiographic Signs of Pediatric Pleomorphic Adenoma of Minor Salivary Glands. *J Contemp Dent Pract*. 2021 Sep;22(9):1063-1068. PMID: 35000954.
- 3 Alzumaili B, Xu B, Saliba M, et al. Clinicopathologic Characteristics and Prognostic Factors of Primary and Recurrent Pleomorphic Adenoma: A Single Institution Retrospective Study of 705 Cases. *Am J Surg Pathol*. 2022 Jun;46(6):854-862. <http://dx.doi.org/10.1097/PAS.0000000000001837>. PMID: 34772841.
- 4 Skálová A, Stenman G, Simpson RHW, et al. The Role of Molecular Testing in the Differential Diagnosis of Salivary Gland Carcinomas. *Am J Surg Pathol*. 2018 Feb;42(2):e-11-27. <http://dx.doi.org/10.1097/PAS.0000000000000980>. PMID: 29076877.
- 5 Dombrowski ND, Wolter NE, Itrace AL, et al. Pleomorphic adenoma of the head and neck in children: presentation and management. *Laryngoscope*. 2019 Nov;129(11):2603-2609. <http://dx.doi.org/10.1002/lary.27590>. PMID: 30431646.
- 6 Young A, Okuyemi OT. Benign Salivary Gland Tumors [homepage on the Internet]. Benign Salivary Gland Tumors. [cited 2024 mar 05]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK564295/>
- 7 Agaimy A, Ihrler S, Baněčková M, et al. HMGA2-WIF1 Rearrangements Characterize a Distinctive Subset of Salivary Pleomorphic Adenomas With Prominent Trabecular (Canalicular Adenoma-like) Morphology. *Am J Surg Pathol*. 2022 Feb;46(2):190-199. <http://dx.doi.org/10.1097/PAS.0000000000001783>. PMID: 34324456.
- 8 Cadamuro M, Stecca T, Brivio S, et al. The deleterious interplay between tumor epithelia and stroma in cholangiocarcinoma. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2018 Apr;1864(4 Pt B):1435-1443. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbadis.2017.07.028>. PMID: 28757170.
- 9 Kinoshita I, Jin D, Higashino M, et al. Increase in Chymase-Positive Mast Cells in Recurrent Pleomorphic Adenoma and Carcinoma Ex Pleomorphic Adenoma of the Parotid Gland. *Int J Mol Sci*. 2021 Nov;22(23):12613. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms222312613>. PMID: 34884420.
- 10 Cho JG, Byeon HK, Oh KH, et al. Clinicopathological significance of cancer-associated fibroblasts in papillary thyroid carcinoma: a predictive marker of cervical lymph node metastasis. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2018 Sep;275(9):2355-2361. <http://dx.doi.org/10.1007/s00405-018-5061-x>. PMID: 30019191.
- 11 Wang L, Yang Y, Xiong X, et al. Oral lichen-planus-associated fibroblasts acquire myofibroblast characteristics and secrete pro-inflammatory cytokines in response to *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide stimulation. *BMC Oral Health*. 2018 Nov 29;18(1):197. <http://dx.doi.org/10.1186/s12903-018-0656-6>. PMID: 30497478.
- 12 Kim B, Seo Y, Kwon JH, et al. IL-6 and IL-8, secreted by myofibroblasts in the tumor microenvironment, activate HES1 to expand the cancer stem cell population in early colorectal tumor. *Mol Carcinog*. 2021 Mar;60(3):188-200. <http://dx.doi.org/10.1002/mc.23283>. PMID: 33544929.

- 13 Minna E, Brich S, Todoerti K, et al. Cancer Associated Fibroblasts and Senescent Thyroid Cells in the Invasive Front of Thyroid Carcinoma. *Cancers (Basel)*. 2020 Jan;12(1):112. <http://dx.doi.org/10.3390/cancers12010112>. PMID: 31906302.
- 14 Jayaraj G, Sherlin HJ, Ramani P, et al. Stromal myofibroblasts in oral squamous cell carcinoma and potentially malignant disorders. *Indian J Cancer*. 2015;52(1):87-92. <http://dx.doi.org/10.4103/0019-509X.175580>. PMID: 26837985.
- 15 Gupta V, Ramani P, Chandrasekar T. A clinico-pathological and immunohistochemical study of salivary gland tumours: A 5 year Indian experience. *Int J Oral Maxillofac Pathol*. 2012;3:15-22.
- 16 Ismerim AB, Araújo IBO, Xavier FCA, et al. Mast Cells and Proteins Related to Myofibroblast Differentiation (PAR-2, IL-6, and TGF β 1) in Salivary Cancers: A Preliminary Study. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2021 Aug;29(7):57-67. <http://dx.doi.org/10.1097/PAI.0000000000000924>. PMID: 33797435.
- 17 Bond JE, Ho TQ, Selim MA, et al. Temporal spatial expression and function of non-muscle myosin II isoforms IIA and IIB in scar remodeling. *Lab Invest*. 2011;91 :499–508. <http://dx.doi.org/10.1038/labinvest.2010.181>. PMID: 21102503.
- 18 Kim JY, Moon S, Kim D. Oral Squamous Cell Carcinoma-Derived ANGPTL3 Induces Cancer Associated Fibroblastic Phenotypes in Surrounding Fibroblasts. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2022 Dec;23(12):4315-4322. <http://dx.doi.org/10.31557/APJCP.2022.23.12.4315>. PMID: 36580015.
- 19 van Caam A, Vonk M, van den Hoogen F, et al. Unraveling SSc Pathophysiology; The Myofibroblast. *Front Immunol*. 2018 Nov;9:2452. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2018.02452>. PMID: 30483246.
- 20 Pereira JDS, de Oliveira Nóbrega FJ, Vasconcelos RG, et al. Myofibroblasts and mast cells: influences on biological behavior of odontogenic lesions. *Ann Diagn Pathol*. 2018 Jun;34:66-71. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2014.09.003>. PMID: 29661731.
- 21 Al-Eryani K, Cheng J, Abé T, et al. Protease-activated receptor 2 modulates proliferation and invasion of oral squamous cell carcinoma cells. *Hum Pathol*. 2015;46(7): 991-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.humpath.2015.03.003>. PMID: 25912757.
- 22 Xie L, Duan Z, Liu C, et al. Protease-activated receptor 2 agonist increases cell proliferation and invasion of human pancreatic cancer cells. *Exp Ther Med*. 2015 Jan;9(1):239-244. <http://dx.doi.org/10.3892/etm.2014.2052>. PMID: 25452809.
- 23 Breton JD, Heydet D, Starrs LM, et al. Molecular changes during TGF β -mediated lung fibroblast-myofibroblast differentiation: implication for glucocorticoid resistance. *Physiol Rep*. 2018 Apr;6(7):13669. <http://dx.doi.org/10.14814/phy2.13669>. PMID: 29654633.
- 24 Hugo HJ, Lebre S, Tomaskovic-Crook E, et al. Contribution of Fibroblast and Mast Cell (Afferent) and Tumor (Efferent) IL-6 Effects within the Tumor Microenvironment. *Cancer Microenviron*. 2012 Apr;5(1):83-93. <http://dx.doi.org/10.1007/s12307-012-0098-7>. PMID: 22314376.

- 25 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 Neck Pathol.* 2017 Mar;11(1):55-67. <http://dx.doi.org/10.1007/s12105-017-0795-0>. PMID: 28247227.
- 26 Jaafari-Ashkavandi Z, Ashraf MJ. Increased mast cell counts in benign and malignant salivary gland tumors. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects.* 2014;8(1):15-20. <http://dx.doi.org/10.5681/joddd.2014.003>. PMID: 25024834.
- 27 Vidal MT, de Oliveira Araújo IB, Gurgel CA, et al. Density of mast cells and microvessels in minor salivary gland tumors. *Tumour Biol.* 2013;34:309–316. <http://dx.doi.org/10.1007/s13277-012-0552-7>
- 28 Costa AF, Demasi AP, Bonfitto VL, et al. Angiogenesis in salivary carcinomas with and without myoepithelial differentiation. *Virchows Arch.* 2008;453(4):359-67. <http://dx.doi.org/10.1007/s00428-008-0664-z>. PMID: 18795324.
- 29 Dutra FKAA, Barros AC, Barbosa HS, et al. Immunohistochemical assessment of CD1a-positive Langerhans cells and their relationship with E-cadherin in minor salivary gland tumors. *J Oral Pathol Med.* 2012;1:47-53 <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0714.2011.01052.x>.
- 30 Yan R, Peng X, Yuan X, et al. Suppression of growth and migration by blocking the Hedgehog signaling pathway in gastric cancer cells. *Cell Oncol (Dordr).* 2013 Oct;36(5):421-35. <http://dx.doi.org/10.1007/s13402-013-0149-1>. PMID: 24027019.
- 31 Wei Q, Yan J, Fu B, et al. IMP3 expression is associated with poor survival in cervical squamous cell carcinoma. *Hum Pathol.* 2014 Nov;45(11):2218-24. <http://dx.doi.org/10.1016/j.humpath.2014.07.006>. PMID: 25176620.
- 32 Dong W, Cui J, Tian X, et al. Aberrant sonic hedgehog signaling pathway and STAT3 activation in papillary thyroid cancer. *Int J Clin Exp Med.* 2014 Jul;7(7):1786-93. PMID: 25126181.
- 33 Ma Y, Ullrich SE. Intratumoral mast cells promote the growth of pancreatic cancer. *Oncoimmunology.* 2013;2(10):25964. <http://dx.doi.org/10.4161/onci.25964>. PMID: 24353907.
- 34 Globa T, Saptefrți L, Ceașu RA, et al. Mast cell phenotype in benign and malignant tumors of the prostate. *Pol J Pathol.* 2014;65(2):147-53. <http://dx.doi.org/10.5114/pjp.2014.43965>. PMID: 25119176.
- 35 Ribatti D, Crivellato E. Mast cells, angiogenesis, and tumour growth. *Biochim Biophys Acta.* 2012 Jan;1822(1):2-8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbadis.2010.11.010>. PMID: 21130163.
- 36 Komi DEA, Redegeld FA. Role of Mast Cells in Shaping the Tumor Microenvironment. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2020 Jun;58(3):313-325. <http://dx.doi.org/10.1007/s12016-019-08753-w>. PMID: 31256327.
- 37 Sharma S, Evans A, Hemers E. Mesenchymal-epithelial signalling in tumour microenvironment: role of high-mobility group Box 1. *Cell Tissue Res.* 2016 Aug;365(2):357-66. <http://dx.doi.org/10.1007/s00441-016-2389-7>. PMID: 26979829.

- 38 Raman S, Sherlin HJ. Utility of smooth muscle actin and CD117 as reliable markers in the diagnosis of salivary gland neoplasms. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2019 May-Aug;23(2):218-223. http://dx.doi.org/10.4103/jomfp.JOMFP_225_18. PMID: 31516227.
- 39 Ammendola M, Sacco R, Sammarco G, et al. Mast cells density positive to tryptase correlates with angiogenesis in pancreatic ductal adenocarcinoma patients having undergone surgery. *Gastroenterol Res Pract.* 2014;8:951–957. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/951957>.
- 40 Wojtukiewicz MZ, Hempel D, Sierko E, et al. Protease-activated receptors (PARs)--biology and role in cancer invasion and metastasis. *Cancer Metastasis Rev.* 2015 Dec;34(4):775-96. <http://dx.doi.org/10.1007/s10555-015-9599-4>. PMID: 26573921.
- 41 Lidfeldt J, Bendahl PO, Forsare C, et al. Protease Activated Receptors 1 and 2 Correlate Differently with Breast Cancer Aggressiveness Depending on Tumor ER Status. *PLoS One.* 2015 Aug;10(8) <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0134932>. PMID: 26244666.
- 42 Wilson SR, Gallagher S, Warpeha K, et al. Amplification of MMP-2 and MMP-9 production by prostate cancer cell lines via activation of protease-activated receptors. *Prostate.* 2004 Jul;60(2):168-74. <http://dx.doi.org/10.1002/pros.20047>. PMID: 15162383.
- 43 Malfettone A, Silvestris N, Saponaro C, et al. High density of tryptase-positive mast cells in human colorectal cancer: a poor prognostic factor related to protease-activated receptor 2 expression. *J Cell Mol Med.* 2013 Aug;17(8):1025-37. <http://dx.doi.org/10.1111/jcmm.12073>. PMID: 23991686.
- 44 Kularathna PK, Pagel CN, Mackie EJ. Tumour progression and cancer-induced pain: a role for protease-activated receptor-2? *Int J Biochem Cell Biol.* 2014;57:149–156. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocel.2014.10.026>. PMID: 25448411.
- 45 Andreassen S, Therkildsen MH, Grauslund M, et al. Activation of the interleukin-6/Janus kinase/STAT3 pathway in pleomorphic adenoma of the parotid gland. *APMIS.* 2015;123(8):706-15. <http://dx.doi.org/10.1111/apm.12407>. PMID: 26061266.
- 46 Hanes MR, Giacomantonio CA, Marshall JS. Mast Cells and Skin and Breast Cancers: A Complicated and Microenvironment-Dependent Role. *Cells.* 2021 Apr;10(5):986. <http://dx.doi.org/10.3390/cells10050986>. PMID: 33922465.
- 47 Naugler WE, Karin M. The wolf in sheep's clothing: the role of interleukin-6 in immunity, inflammation and cancer. *Trends Mol Med.* 2008 Mar;14(3):109-19. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molmed.2007.12.007>. PMID: 18261959.