Analiza imunohistohemijskih karakteristika limfoidne strome i epitela u Vartinovom tumoru pljuvačne žlezde

Marta Drča¹, Živka Erić², Sanja Milenković^{1,3}

¹Stomatološki Fakultet Pančevo, Pančevo, Srbija

²Institut za plućne bolesti Sremska Kamenica, Novi Sad, Srbija

³Kliničko bolnički centar Zemun, Beograd, Srbija

Apstrakt

Cilj rada je da se imunohistohemijskom metodom utvrdi profi i međusobni odnos limfocita u bogatoj limfoidnoj stromi Vartinovog tumora, kao i odnos limfocita i epitela ovog tumora. Našu retrospektivno-prospektivnu studiju smo sprovedeli u Službi kliničke patologije KBC Zemun na 25 uzoraka tkiva parotidne žlezde sa Vartinovim tumorom, operativno odstranjenih u Službi otorinolaringologije KBC Zemun u periodu od 2000-2016 godine. Preseci tumorskog tkiva, fiksiranog u 10% formalinu su obojeni standardnom hematoksilin-eozin metodom, a potom imunohistohemijskom metodom na: antitelo za B limfocite (CD20), antitelo za T limfocite (CD3), keratinsko antitelo koje obeležava bazalne i kolumnarne epitelne ćelije (CK7) i keratinsko antitelo koje obeležava samo bazalne epitelne ćelije (CK5/6). Utvrdili smo da je u odnosu na polnu distribuciju svih 25 bolesnika, bilo više bolesnika muškog pola: 16 (64%) muškaraca i 9 (36%) žena. Imunohistohemijska analiza sa keratinskim antitelom CK7 je pokazala da su luminalne kolumnarne ćelije intenzivno pozitivne (+++) u više od 75% u 23 slučaja (92 %) dok su u 2 slučaja bile intenzivno pozitivne (+++) u procentima od 25 do 75% . Za razliku od luminalnih, bazalne ćelije su uvek pokazivale slabu imunopozitivnost (+) na CK7 antitelo i to u 20 slučajeva u grupi <25% ćelija odnosno u 5 slučajeva u grupi 25-75%. Procena prisustva, intenziteta, tipa i distribucije limfocita međusobno, kao i u odnosu na epitelnu komponentu tumora bi doprinela utvrđivanju nejasne histogeneze limfoidne strome kod ovog tumora

Ključne reči: Wartin tumor, pljuvačna žlezda, imunohistohemija

Analysis of immunohistochemical characteristics of lymphoid stroma and epithelium of the salivary gland Warthin tumor

Marta Drča¹, Zivka Erić², Sanja Milenković^{1,3}

¹Dental Faculty of Pancevo, Pancevo, Serbia

²Institute for Pulmonary Diseases Sremska Kamenica, Novi Sad, Serbia

³Clinical Hospital Center Zemun, Belgrade, Serbia

Abstract

The aim of our study was to determine using immunohistochemical method profi and relationship between lymphocytes in lymphoid rich stroma of the Warthins tumors, as well as, the relationship between lymphocytes and tumors epithelial cells. Our retrospective-prospective study we conducted in the Department of Clinical Pathology KBC Zemun on 25 samples of tissue from the parotid gland with WT tumor surgically removed at the Department of ENT KBC Zemun in the period from 2000 to 2016 year. Sections of tumor tissue, fixed in 10% formalin were stained with hematoxylin-eosin standard method, and then immunohistochemical method to: antibody B lymphocytes (CD20) antibody for T lymphocytes (CD3), keratin antibody that marks the basal and columnar epithelial cells (CK7) and keratin antibody that marks only the basal epithelial cells (CK5 / 6). We have found that in relation to the gender distribution of all 25 patients, there were more male patients: 16 (64%) men and 9 (36%) women. Immunohistochemical analysis with keratin antibody CK7 showed that luminal columnar cells intensely positive (+++) more than 75% in 23 cases (92%), whereas in 2 cases were intensely positive (+++) in percentages ranging from 25 to 75%. In contrast to the luminal, basal cells were always showed little immunoreactivity (+) antibody to CK7 and in 20 cases in the group of <25% of the cells respectively in the cases of 5% in the group 25-75. Evaluation of the presence, intensity, type and distribution of cells with each other and in relation to the tumor epithelial component would contribute to establishing unclear histogenesis lymphoid stroma at the tumor.

Key words: Wartin tumor, salivary gland, immunohistochemistry

Uvod

Pljuvačne žlezde (*glandulae oris*) su egzokrine žlezde čija je osnovna funkcija da luče i stvaraju pljuvačku (salivu). Uloga pljuvačke je višestruka, a neke od njenih osnovnih funkcija su da održavaju vlažnost usne duplje kako bi olakšali žvakanje i gutanje hrane, govor, fiziološko čišćenje usne duplje i sl.¹. Pored toga pljuvačka učestvuje u varenju hrane i posreduje u funkcionisanju čula ukusa. Prema svojoj veličini pljuvačne žlezde se dele na velike i male². Prema WHO (World Health Organization) klasifikacija tumora pljuvačnih žlezda iz 2005 godine³ epitelni tumori pljuvačnih žlezda su klasifikovani u 10 benignih i 23 maligna entiteta. Ne-epitelni tumori su retki, predstavljaju oko 2-5% tumora pljuvačne žlezde, i u njih spadaju hemangiomi, limfangiomi, švanomi, neurofibromi, lipomi, sarkomi, limfomi i metastatske lezije^{4,5,6}. Primarni epitelni tumori pljuvačnih žlezda se najčešće javljaju u parotidnim žlezdama (90%), dok se oko 10% javlja u submandibularnim žlezdama, a manje od 1% se razvija u sublingvalnim žlezdama. Male žlezde su zahvaćene u 9-23% slučajeva. Benigni tumori su češći (54% - 79%) svih tumora, a maligni ređi (21% - 46%). Međutim, većina tumora u sublingvalnim žlezdama po svojoj histologiji pripada malignim tumorima (70% - 90%), dok je taj procenat manji u kod parotidnih tumora (15% - 32%) i submandibularnih (40%). Kod malih pljuvačnih žlezda zastupljenost između malignih i benignih tumora je jednaka (50%). Najčešći tumor pljuvačnih žlezda je pleomorfni adenom i on se javlja kod 50%-60% slučajeva. Na drugom mestu po učestalosti se nalazi Vartinov tumor (Warthin tumor).

Vartinov tumor (Warthin's tumor) (sinonimi: Adenolinfom i Papilarni limfomatozni cistadenom) je drugi po učestalosti benigni tumor pljuvačnih žlezda. Prvi opis potiče još iz 1895. godine kad ga je Hildebrand opisao kao varijantu kongenitalne epitelne ciste vrata. Naziv "papilarni cistadenom" su dali Albrecht i Arzt (1910) nakon što su objavili rad o dva tumora u gornjoj regiji vrata koje su interpretirali kao zbunjujuće tkivo entodermalnog faringealnog luka, naročito pljuvačne žlezde, u limfnim čvorovima^{6,7}. U klasifikaciji WHO³ je zadržan naziv Warthin's tumor dat po patologu koji je prvi publikovao dva slučaja u američkoj literaturi 1929. godine. Warthin je ovaj tumor nazvao "papilarni limfomatozni cistadenom" i tumačio ga je heterotopijom mukozalne membrane aksesorne Eustahijeve tube. Termin Warthin's tumor se kasnije pokazao boljim izborom od termina "papilarni limfomatozni cistadenom" jer je izbegnuta konfuzije sa limfomima.

Vartin tumor čini 14% svih tumora pljuvačnih žlezda. Skoro isključivo se javlja u parotidnoj žlezdi^{7,8}. Njegova najčešća lokalizacija je u donjem polu površnog režnja parotidne žlezde. Češće se javlja kod muškaraca, 5-6 puta češće nego kod žena i mnogo češće kod teških pušaca cigareta. Učestalost mu se povećava sa starenjem i najveća je u 6-7 deceniji života. Izuzetno retko se javlja kod afričkih crnaca^{9,10}. U oko 12% slučajeva tumor je bilateralan, a u oko 6% pokazuje multiplu lokalizaciju. Može da se javi istovremeno sa pleomorfim adenomom, različitim tipovima karcinoma i limfomomima^{11,12}. Prema podacima iz literature, Vartinov tumor lokalizovan van parotidne žlezde, se javlja u oko 8% slučajeva, najčešće u vratnim limfnim čvorovima, submandibularnoj žlezdi i larinksu. Benigni tumori pljuvačnih žlezda su asimptomatski, spororastući, solitarni, jasno ograničeni, pokretni tumefakti prečnika 3-4 cm, meke ponekad fluktuirajuće konzistencije, lokalizovani ispod intaktne kože ili sluzokože. Maligni tumori imaju tendenciju da brzo rastu. Bol je retko prisutan kao simptom benignih ili malignih tumora. Tumori pljuvačnih žlezda mogu postati bolni usled istezanja kapsule zbog infekcije, cistične degeneracije ili naglog uvećanja tumora. Pokretljivost žlezde zahvaćene tumorom se može smanjiti usled sekundarne inflamacije praćene periglandularnom fibrozom. Pareza/paraliza facijalnog živca (VII) se izuzetno retko javlja, ali je praktično siguran znak postojanja malignog tumora parotidne žlezde. Za dijagnozu pored sialografije i kompjuterizovane tomografije (CT) koristi se i scintigrafija. Na scintigrafiji se tumor opisuje kao "vruć" čvor.

Makroskopski, tumor je građen od solidnih zona i pukotinastih cističnih prostora ispunjenih smeđim viskoznom sadržajem, jasno ograničen vezivnotkivnom kapsulom. Histološki, Vartinov tumor je izgrađen od epitelne i limfoidne stromalne komponente. Epitel je dvoslojan i sastoji se od palisadno raspoređenih onkocitnih visoko cilindričnih ćelija intenzivno crvene i zrnaste citoplazme sa jedrima lokalizovanim prema lumenu. Prema bazalnoj membrani nalazi se drugi diskontinuirani sloj kubičnih ćelija sa bazalno orijentisanim jedrima. Epitel oblaže cistične prostore i papilarne formacije. U tumoru se nalazi različita

količina limfoidnog tkiva sa varijabilnim brojem germinativnih centara. Imunoprofil tipova limfocita je sličan normalnom ili reaktivno izmenjenom limfnom nodusu. U retkim Vartinovim tumorima (oko 8%) se nalaze zone skvamocelularne metaplazije udružene sa infarktoidnom nekrozom, mastociti, dendritične ćelije, mucin produkujuće ćelije, retko ćelije u obliku prstena pečtnjaka (engl. Signet ring cells).

Imunohistohemijskim bojenje epitelne komponente tumora pokazuje difuzno pozitivno bojenje na keratine (CK7, CK8/18, CK19) i mitohondrijalne markere; fokalno pozitivno bojenje na CEA, CK5/6, CK10, CK14, p63, i 34betaE12. Negativno bojenje pokazuju na amilaze, vimentin, desmin, glatko mišićni aktin, EBV (Epstein-Barr virus) ^{13,14}.

Imunofenotipske i genske karakteristike limfoidne strome u Vartinovom tumoru su retko opisivane u literature. U većini slučajeva limfoidna stroma pokazuje B ćelijski fenotip i skoncentrisana je u germinativnim centrima. T limfociti su uglavnom lokalizovani između germinativnih centara ^{15,16}.

Cilj rada je da se imunohistohemijskom metodom utvrdi profil i međusobni odnos limfocita u bogatoj limfoidnoj stromi Vartinovog tumora, kao i odnos limfocita i epitela ovog tumora. Procena prisustva, intenziteta, tipa i distribucije limfocita međusobno, kao i u odnosu na epitelnu komponentu tumora bi doprinela utvrđivanju nejasne histogeneze limfoidne strome kod ovog tumora.

Materijal i metode

Našu retrospektivno-prospektivnu studiju smo sproveli u Službi kliničke patologije KBC Zemun na 25 uzoraka tkiva parotidne žlezde sa Vartinovim tumorom, operativno odstranjenih u Službi otorinolaringologije KBC Zemun u periodu od 2000-2016 godine. Podaci o polu, starosti, lokalizaciji tumora i makroskopskom izgledu tumora sa kvantitativnim karakteristikama (težina i dimenzije tumora), su uzeti iz podataka koji su se nalazili u patohistološkim listama. Potom su, iz reprezentativnih parafinskih kalupa tumorskog tkiva, fiksiranog u 10% formalinu napravljeni mikrotomski preseki tkiva debljine 4µm. Preseci su prvo obojeni standardnom hematoxilin-eozin metodom, a potom imunohistohemijskom metodom na: antitelo za B limfocite (CD20), antitelo za T limfocite (CD3), keratinsko antitelo koje obeležava bazalne i kolumnarne epitelne ćelije (CK7) i keratinsko antitelo koje obeležava samo bazalne epitelne ćelije (CK5/6). Kao kontrolno tkivo smo koristili uzorci normalno tkiv limfnog čvora i normalno tkivo pljuvačne žlezde. Za imunohistohemijsku analizu smo koristili LSAB+ sistem i mišija antihumana monoklonalna antitela (Tabela 1).

Antitelo	Klon	Razblaženje	Priprema antigena
CK7	AB-2	1:50	Antitelo je razblaženo u UltraVision Quanto® detekcionom sistemu, a imunohistohemijska metoda je urađena u aparatu za automatsko bojenje LabVision®
CK5/6	D5/16B4	Antitelo pripremljeno za upotrebu (engl. Ready to use)	Korišćen je UltraVision Quanto® detekcioni system, a imunohistohemijska metoda je urađena u aparatu za automatsko bojenje LabVision®
CD20	Ab-1 (Clone L26)	Antitelo pripremljeno za upotrebu (engl. Ready to use)	Korišćen je UltraVision Quanto® detekcioni system, a imunohistohemijska metoda je urađena u autostejneru LabVision®
CD3	SP7	1:150	Antitelo je razblaženo u UltraVision Quanto® detekcionom sistemu, a imunohistohemijska metoda je urađena u aparatu za automatsko bojenje LabVision®

Tabela 1. Karakteristike korišćenih antitela

Potom su analizirani prisustvo, intenzitet i tip limfocitnog infiltrata, kao i distribucija limfocita međusobno, i u odnosu na epitelnu komponentu tumora. Procena prisustva imunopozitivnosti za sva antitela je vršena

semikvantitativnom analizom, korišćenjem skale sa tri nivoa (<25%, 25-75% i >75%), na mikroskopskom povećanju x40 u najmanje 10 vidnih polja, pri čemu je procenjena srednja vrednost parametra. Intenzitet imunoreaktivnosti je takođe određivan semikvantitativno korišćenjem skale od tri stepena (+, ++ i +++).

U zavisnosti od odnosa limfoidne strome i parenhima Vartinovi tumori su klasifikovani u tri podgrupe:

1. Tipičan Vartinov tumor sa 50% parenhima (balansiran odnos između strome i parenhima),
2. Vartinov tumor sa oskudnom limfoidnom stromom (70-80% parenhima) i
3. Vartinov tumor sa bogatom limfoidnom stromom (20-30% parenhima).

Distribucija pacijenata prema polu i starosti, uzetih iz lista za patohistološku analizu, kao i rezultati imunohistohemijskih bojenja su prikazani metodama deskriptivne statistike. Reprezentativne histološke fotografije su napravljene korišćenjem kamere na mikroskopu Leica 2000.

Rezultati

Utvdili smo da je u odnosu na polnu distribuciju svih 25 bolesnika, bilo više bolesnika muškog pola: 16 (64%) muškaraca i 9 (36%) žena. Tumor se najčešće javljao u sedmoj deceniji života (60%). Najmlađi pacijent je imao 40, a najstariji 83 godine. U odnosu na lokalizaciju skoro podjednako je nađen u levoj (12 slučajeva) i desnoj (13 slučajeva) parotidnoj žlezdi (**Tabela 2.**). Bilateralnih i multicentričnih Vartinovih tumora nije bilo u ispitivanoj studiji.

Kliničko-patološke karakteristike		Broj slučajeva
Starost (godine)	40-49	3
	50-59	6
	60-69	15
	80-89	1
Pol	Ženski	9
	Muški	16
Pušenje	Pušač	NP*
	Nepušač	NP *
Parotidna žlezda	Leva	12
	Desna	13
Histopatologija	bogata stroma	11
	oskudna stroma	5
	tipični	9

*Nema podataka o pušenju u uputnicama za patohistološku analizu.

Tabela 2. Kliničko-patološki parametri pacijenata uključenih u studiju

Merena je težina operativno odstranjene parotidne žlezde sa tumorom i rezultati su prikazani tabelarno (**Tabela 3**). Najmanja izmerena težina cističnog Vartinovog tumora je bila 2 gr. a najveća 73 gr. U dva slučaja (8%) nije izmerena težina hirurškog materijala.

Težina u gr	Broj	%
<20	9	36
21-30	6	24
31-40	4	16
41-50	2	8
51-60	0	0
61-70	1	4
71-80	1	4

Tabela 3. Težina parotidne žlezde sa tumorom

Pored težine, merena je i veličina tumora parotidne žlezde. Najmanji dijametar je iznosio 2,5 cm, a najveći 9,5 cm. Prečnik najvećeg broja tumora (15 slučajeva) se nalazio u rasponu od 2 do 4 cm (**Tabela 4.**).

Prečnik u cm	Broj	%
2-4,0	15	60
4,1-6,0	5	20
6,1-8,0	4	16
8,1-10,0	1	4
Ukupno	25	100

Tabela 4. Veličina Vartinovog tumora prikazana kroz najveći prečnik

Histopatološkom analizom je utvrđena proliferacija onkocitnog epitela sa bistratifikacijom. Onkocitne kolimnarne ćelije su gradile kontinuiran sloj, koji je oblagao cistične prostore, za razliku od bazaloidnih ćelija, koje su ili bile prisutne među svetlim ćelijama ili formirale diskontinuirani sloj ispod luminalnog sloja. Stromalna komponenta i tanka kapsula na periferiji kompletno su odvajale Vartinov tumor od ostatka parotidne žlezde (**Slika 1.**). Stroma je bila limfoidna, a pored limfocita sadržala je i retke plazma ćelije i histiocite.

Slika 1. Vartinov tumor: tanka vezivna kapsula odvaja limfoidnu stromu od ostatka parotidne žlezde (H&E, 10X)

Histološkom analizom smo Vartinov tumor (VT), u zavisnosti od kvantitativnog međusobnog odnosa strome i parenhima klasifikovali u tri podgrupe: 1. Tipičan VT (9 slučajeva), 2. VT sa oskudnom stromom (5 slučajeva) i 3. VT sa obilnom stromom (11 slučajeva).

U jednom slučaju VT u bogatoj limfoidnoj stromi su nađeni brojni pojedinačni granulomi sagrađeni od epiteloidnih, ređih džinovskih višejedarnih ćelija i razbacanih limfocita bez nekroze. Imunohistohemijska analiza je pokazala prisustvo T limfocita (CD3+) i odsustvo B limfocita (CD20 +) u granulomima (**Slika 2. A,B,C**).

Slika 2. Vartinov tumor: A) Epiteloidni ćelijski granulomi u bogatoj limfoidnoj stromi (H&E, 20X), B) Odsustvo CD20+ limfocita u granulomu (20X), C) Prisustvo CD3 limfocita u granulomu (20X)

Žarište skvamozne metaplazije bez atipije sa granulacionim tkivom kao i difuzna mucinozna metaplazija su nađene u po jednom slučaju (Slika 3.A,B).

Slika 3. Vartinov tumor: A) Skvamozna metaplazija sa ispod ležećim granulacionim tkivom, B) Mucinozna metaplazija u epitelnoj komponenti (H&E, 20X)

Područja starog krvarenja sa pukotinastim prostorima ispranih kristala holesterola kao i granulomima tipa oko stranog tela su nađena u dva slučaja (Slika 4.A,B).

Slika 4. Vartinov tumor: A) Područje starog krvarenja sa pukotinastim igličastim prostorima, B) Granulomi tipa oko stranog tela (H&E, 20X)

Rezultati imnohistohemijske analize sa keratinskim antetelima je prikazana u **Tabeli 5**.

IMUNOHISTOHEMIJA		CK7			CK5/6		
		++	+++	+	++	+++	
<25%	LUMINALNE ČELIJE						
	BAZALNE ČELIJE	20					
25-75%	LUMINALNE ČELIJE						
	BAZALNE ČELIJE	5		2			
>75%	LUMINALNE ČELIJE			23			
	BAZALNE ČELIJE						25

Tabela 5. Imunohistohemijska evaluacija za CK7 i CK5/6

Imunohistohemijska analiza sa keratinskim antitelom CK7 je pokazala da su luminalne kolumnarne ćelije intenzivno pozitivne (+++) u više od 75% u 23 slučaja (92 %) dok su u 2 slučaja bile intenzivno pozitivne (+++) u procentima od 25 do 75% (Slika 5.A). Za razliku od luminalnih, bazalne ćelije su uvek pokazivale slabu imunopozitivnost (+) na CK7 antitelo i to u 20 slučajeva u grupi <25% ćelija odnosno u 5 slučajeva u grupi 25-75%.

Slika 5. Vartinov tumor: A) CK7+ imunopozitivnost u luminalnim ćelijama, B) CK5/6 + imunopozitivnost u bazalnim ćelijama (20X)

Imunohistohemijska analiza sa CK5/6 pokazuje da većina bazalnih ćelija (>75%) pokazuje intenzivnu obojenost (+++) u svih 25 slučajeva (Slika.5.B). CK5/6 imunoreaktivnost je bila odsutna u luminalnim, kolumnarnim ćelijama.

Limfocitna komponenta u Vartinovom tumoru je varirala. Reaktivni germinativni centri su bili prisutni u svim slučajevima, ali njihov broj i veličina su zavisili od histološkog podtipa, i najviše je bila zastupljena u Vartinovim tumorima sa bogatom stromom (Slika 6).

Slika 6. Vartinov tumor: bogata limfoidna stroma sa brojnim germinativnim centrima (H&E, 20X)

Imunohistohemijska analiza je pokazala da je limfoidna stroma B ćelijskog fenotipa (CD20+) i da je najizraženija u područjima difuzne limfoidne infiltracije i germinativnih centara tj. kortikalnoj zoni (Slika 7.A). T-limfociti (CD3+) su uglavnom bili pozitivni između germinativnih centara odnosno u parakortikalnoj zoni (Slika 7.B). Broj i distribucija B i T limfocita je bila ista i u kontrolnim, normalnim i reaktivno izmenjenim, limfnim čvorovima koji su se nalazili uz parotidnu žlezdu i Vartinov tumor.

Slika 7. Vartinov tumor: A) CD20+ imunopozitivnost u B-limfocitima germinativnih centara, B) CD3 + imunopozitivnost u T-limfocitima između germinativnih centara.

U Vartinovim tumorima siromašne limfoidne strome, infiltrati limfocita su bili u vidu sitnih agregata u bazi papila ili zidu cističnih formacija. U tipičnim Vartinovim tumorima i onima sa bogatom limfoidnom stromom nalazili su se brojni limfoidni folikuli sa reaktivnim germinativnim centrima. U ovim grupama, većina analiziranih slučajeva (16/25) bilo je prisutno i intenzivna nuklearna obojenost (++/+++) B i T limfocita (**Tabela 6.**) Reakcije sa ekstremnim vrednostima imunoreaktivnosti (<25% ili >75%) su nađene u tipičnim i stromom siromašnim Vartinovim tumorima (Tabela 6).

Procena		CD20	CD3
Semi-kvantitativna	<25%	4/25 (+++)	4/25 (+++)
Kvalitativna	25-75%	16/25 (++/+++)	16/25 (++/+++)
	>75%	5/25 (+)	5/25 (+)

Tabela 6. Evaluacija imunoreaktivnosti sa CD20 i CD3

Intraepitelni limfociti B fenotipa (CD20+) su nađeni u 7 slučajeva, a T fenotipa (CD3+) u 16 slučajeva, i bili su najčešće pojedinačni i razbacani, arede, fokalno gusti (**Slika 8. A,B**).

Slika 8. Vartinov tumor: A) Intraepitelne fokalno guste nakupine CD3+ limfocita, B) Intraepitelni pojedinačni razbacani CD20+ limfociti (20X).

Diskusija

Vartinov tumor čini oko 14% svih epitelnih tumora parotidne žlezde i drugi je po učestalosti posle pleomorfog adenoma^(8,9,10). Najčešće se javlja u 6 i 7 deceniji života, nešto češće kod muškaraca i pušača cigareta (76.19%, M/Ž 3.2/1) (10). U radu Su i saradnika¹⁸ opisan je M/Ž odnos 5:1. U odnosu na lokalizaciju, Vartinov tumor se češće nalazi u levoj parotidnoj žlezdi^{10,13, 18}.

U našoj studiji je ispitivano 25 bolesnika kod kojih je operativno odstranjena parotidna žlezda sa tumorom. Muškarci (16/25) su bili skoro dva puta češće zastupljeni u odnosu na žene (M/Ž 1.7:1). Tumor se najčešće javljao u sedmoj deceniji (15 slučajeva), a prosečne starosti je bila 60.8 godina, pri čemu je najmađi pacijent imao 40 godina, a najstariji 83 godine. U odnosu na lokalizaciju, Vartinov tumor je nađen skoro podjednako u levoj (12/25) i desnoj (13/25) parotidnoj žlezdi. Povezanost pušenja i pojave Vartinovog tumora nismo analizirali zbog nedostatka kliničkih podataka o pušenju. Veličina tumora je varirala od 2,5 do 9,5 cm, a kod 15 slučajeva (64%) je bil prečnika od 2 do 4 cm. Histopatološki, nađeno je 9 tipičnih, 5 stroma-siromašnih i 11 stroma-bogatih podtipova Vartinovog tumora. Naši rezultati su vrlo slični podacima iz literature. U studiji Helma Maria⁹ od 70 ispitivanih slučajeva Vartinovog tumora, 44 (62.8%) su bili muškarci i 26 (37,2%) žene, prosečne starosti 56,7 godina, u rasponu od 35 do 80 godina. Primarna lokalizacija u svim slučajevima je bila parotidna žlezda; u 66 (94.3%) unilateralno i u 4 (5.7%) bilateralno. Veličina lezija varirala od 2 do 10 cm, 43 slučaja (59%) su bili prečnika od 4 do 6 cm.

U studiji Daguci¹³ na 42 slučaja sa Vartinovim tumorom, dijagnostikovanim u periodu od 2007-2011 godine analizirani su klinički podaci, patohistološke karakteristike i imunohistohemijska pozitivnost na CK7, CK5/6, CK19 i p63 antitela. Vartinov tumor se najčešće javljao u sedmoj deceniji (16 slučajeva) i to kod 32 muškarca i 10 žena (M/F 3,2:1), sa najvećom incidencom među pušačima (36/42). Topografski, Vartinov tumor je nađen samo u parotidnoj žlezdi i to češće u levoj (24 slučaja). Histopatološki, 22 su bila tipični, 11 stroma-siromašni i 6 stroma-bogati podtipovi Vartinovog tumora.

Ekstenzivna nekroza se nalazi u oko 6% Vartinovih tumora¹⁹). Patogeneza nastanka nekroze je nepoznata, ali većina smatra da je vaskularne etiologije. Opisani su slučajevi nekroze nakon aspiracije finom iglom (fine-needle aspiration)²⁰. Često se uz nekrozu nalazi skvamozna metaplazija koja može biti sa atipijom pa se diferencijalno dijagnostički teško razlikuje od skvamocelularnog, primarnog ili metastatskog karcinoma^{30,31}.

U 40% Vartinovog tumora su opisani granulomi koji liče na tuberkulozu ili sarkoidozu. Patogeneza granulomatoznih promena je nejasna. Granulomi možda nastaju zbog toksičnog efekta cističnog sadržaja mada širenje tečnosti preko sinusa u limfoidno tkivo i to izgleda kao najverovatniji mehanizam nastanka granuloma²³.

U našoj studiji, imunohistohemijska analiza sa CK7 antitelom je pokazala intenzivnu imunoreaktivnost (++++) luminalnih ćelija u grupi >75% i slabu imunoreaktivnost bazalnih ćelija u grupi <25% obojenih ćelija. CK5/6 je intenzivne imunoreaktivnosti bio u bazalnim ćelijama >75% ćelija u svim slučajevima (100%), i bez imunopozitivnosti u luminalnim ćelijama kod svih ispitivanih 25 slučajeva. U studiji Daguci i saradnika¹³ je nađena imunopozitivnost na CK7 u kolumnarnim luminalnim ćelijama i bazalnim ćelijama; na CK5/6 u bazalnim ćelijama i kolumnarnim i bazalnim ćelijama u cističnim prostorima i papilarnim formacijama; na CK19 u većini kolumnarnih ćelija (83.3%), i na p63 samo u bazalnim ćelijama. U studiji Ehab S Abd-Elhamid¹⁴ na 20 parafinskih blokova je ispitivana imunopozitivnost murine double minute-2 (mdm-2), p27Kp1 i B ćelijski limfom-2 (bcl-2) u Vartinovom tumoru. Svi slučajevi su pokazivali imunopozitivnost na mdm-2 i p27Kp1 dok je 18/20 pokazivalo bcl-2 imunopozitivnost. Oba tipa (kolumnarne i bazalne) neoplastičnih tumorskih ćelija koje oblažu cistične prostore pokazuju imunopozitivnost sa svim upotrebljenim antitelima. Imunonegativne su bile peharaste ćelije na mdm-2 a mioepitelne ćelije na p27Kp1. Oblasti epitelne proliferacije sa formiranjem pupoljaka su bile p27Kp1 i bcl-2 imunopozitivne. Autori zaključuju da mdm-2, p27Kp1 kao tumor supresorski proteini i bcl-2 kao anti-apoptotični protein mogu biti od koristi u otkrivanju porekla i malignog potencijala Vartinovog tumora.

Imunohistohemijska analiza u našoj studiji je pokazala da je limfoidna stroma B ćelijskog fenotipa (CD20+) i da je najizraženija u područjima difuzne limfoidne infiltracije i germinativnih centara tj. kortikalne zone. T limfociti (CD3+) su uglavnom bili pozitivni između germinativnih centara tj. u parakortikalnoj zoni. Broj i topografija B i T limfocita je bila identična u kontrolnim normalnim i reaktivno izmenjenim limfnim čvorovima koji su se nalazili uz parotidnu žlezdu i Vartinov tumor. Osim toga, u 7 odnosno 16 slučajeva su nađeni intraepitelno lokalizovani B (CD20+), i T Limfociti (CD3+), najčešće kao pojedinačni i razbacani a rede, kao gusti fokalni infiltrati. Slične rezultate smo našli u literaturi, sa konstatacijom da je histogeneza limfoidne strome u Vartinovom tumoru još uvek nejasna^{15,16}. Song i saradnici (15) zaključuju da je limfoidna stroma u Vartinovom tumoru reaktivne prirode. Okultni B limfocitni monoklonalni infiltrat koji je određivan IGH FISC/PCR i bcl-2/PCR nije identifikovan u analiziranim slučajevima Vartinovog tumora što potvrđuje njegovu benignu poliklonalnu prirodu. Za razliku od navedenog limfomi pokazuju nodularnu ili difuznu proliferaciju malih B limfocita (CD20+) sa vrlo malo razbacanih reaktivnih T limfocita. (CD3+) (19,20).

Zaključak

Vartinov tumor se češće javljao u sedmoj deceniji života, dva puta češće kod muškaraca. Histopatološka analiza odnosa parenhim/stroma je pokazala balansiran odnos ove dve komponente u 36%, predominaciju limfoidne strome u 44% i predominaciju epitelne komponente u 20% slučajeva. Imunohistohemijska studija sa dva epitelna markera je pokazala da su bazalne ćelije kod svih ispitivanih intenzivno pozitivne (+++) u >75% ćelija na CK5/6 (100%) i slabo pozitivne (+) na CK 7 u grupi <25% (80%) i grupi od 25-75% (20%). Luminalne ćelije su pokazivale imunoreaktivnost samo na CK7 i to intenzivnu obojenost (+++) u grupi >75% ćelija u 92% i grupi 25-75% u 8% ispitivanih slučajeva. Imunohistohemijska studija sa dva markera limfocitne proliferacije (CD20, CD3) pokazuje imunoreaktivnost u svim slučajevima sa predominacijom B-ćelijske populacije. B limfociti (CD20+) su bili prisutni u difuznim limfoidnim infiltratima i limfoidnim folikulima predominantno u kortikalnoj zoni. T limfociti (CD3+) limfociti su bili prisutni u difuznim limfoidnim infiltratima i limfoidnim folikulima, predominantno u parakortikalnoj zoni. Broj i distribucija B i T limfocita je slična u normalnom i reaktivno izmenjenom limfnom čvoru. Intraepitelno prisustvo B (CD20+) i T (CD3+) limfocita je nađeno u 7/25 i 16/25 slučajeva, kao pojedinačni ili fokalni infiltrati sa prodorom u cistični sadržaj.

Literatura

1. Elluru RG. Physiology of the salivary glands. In: Flint PW, Haughey BH, Lund LJ, et al, eds. Cummings Otolaryngology: Head & Neck Surgery. 6th ed. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders; 2015:chap 83.
2. Martinez-Madrigal F, Bosq J, Casiraghi O, Major salivary glands. In: Mills SE (ed), Histology for pathologists, 3rd edition, Lippincott Williams & Wilkins, 2007, 445–473.
3. Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D. Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours. World Health Organization Classification of Tumours. IARC Press Lyon, 2005.
4. Budakov P, Eri Ž. Patologija. Medicinski fakultet Novi Sad, 2011:164-172.
5. Damjanov I, Jukić S, Nola M. Patologija, prvo srpsko izdanje. Medicinska naklada, Zagreb, 2009:395-396.
6. Ellis G, Auclair P. Tumors of the Salivary Glands. Washington, D.C.: Armed Forces Institute of Pathology, 2007.
7. Lin CC, Tsai MH, Huang CC, Hua CH, Tseng HC, Huang ST. Parotid tumors: a 10-year experience. Am J Otolaryngol 2008;29(2):94–100.
8. Sirohi D, Sharma R, Sinha R, Menon PS. Salivary gland neoplasms: an analysis of 74 cases, J Maxillofac Oral Surg 2009;8(2):164–166.
9. Chedid HM, Rapoport A, Aikawa KF, Menezes AS, Curioni OA. Warthin's tumor of the parotid gland: study of 70 cases. Rev. Col. Bras. Cir. 2011;38(2):090-094.
10. Teymoortash A, Krasnewicz Y, Werner JA. Clinical features of cystadenolymphoma (Warthin's tumor) of the parotid gland: a retrospective comparative study of 96 cases. Oral Oncol. 2006;42:569-73.
11. Kawata R, Yoshimura K, Lee K, Araki M, Takenaka H, Tsuji M. Basal cell adenoma of the parotid gland: a clinicopathological study of nine cases – basal cell adenoma versus pleomorphic adenoma and Warthin's tumor- Eur Arch Otorhinolaryngol, 2010; 267(5):779–783.
12. Gorai S, Numata T, Kawada S, Nakano M, Tamaru J, Kobayashi T. Malignant Lymphoma Arising from Heterotopic Warthin's tumor in the Neck: Case Report and Review of the Literature. Tohoku J Exp Med. 2007;212:199-205.
13. Dăguci L, Stepan A, Mercuț V, Dăguci C, Bătaiosu M, Florescu A. Immunohistochemical expression of CK7, CK5/6, CK19, and p63 in Warthin tumor. Rom J Morphol Embryol 2012;53(3):603–607.
14. Abd-Elhamid ES, Elshafiei MM. Immunohistochemical localization of mdm-2, p27Kip1 and bcl-2 in Warthin's tumor of the parotid gland Diagnostic Pathology 2009;4:14. doi: 10.1186/1746-1596-4-14
15. Song K, Cotelingam DJ, Lowery-Nordberg M, Sun W. Characterization of the lymphoid stroma in Warthin's tumor of salivary gland by immunohistochemistry, heavy chain gene and Bcl-2 gene rearrangement Am J Transl Res 2009;1(4):352-357.
16. Dagicu L, Simionescu C, Stepan A, Monteanu C, Dagicu C, Bataiosu M.. Warthin tumor-morphological study of stromal compartment Rom J Morphol Embryol 2011;52(4):1319–1323 .
17. Aguirre JM, Echebarria MA, Martinez-Conde R, Rodriguez C, Burgos JJ, Rivera JM . Warthin tumor. A new hypothesis concerning its development. Oral Radiol Endo. 1998; 85(1):60-63.

18. Su CC, Li CF, Lin CN. Unreported cytologic characteristics of oncocytes in Warthin's tumors, Tzu Chi Med J. 2010;2(3):137–140.
19. Eveson JW, Cawson RA. Infarcted ('infected') adenolymphomas. A clinicopathological study of 20 cases. Clin Otolaryngol Allied Sci 1989;14:205–10.
20. Di Palma S, Simpson RH, Skalova A, Michal M. Metaplastic (infarcted) Warthin's tumour of the parotid gland: a possible consequence of fine needle aspiration biopsy. Histopathology 1999;35:432–8.
21. Eneroth CM, Frazen S, Zajicek J. Cytologic diagnosis of aspirate from 1000 salivary-gland tumours. Acta Otolaryngol Suppl 1996;224:168–71.
22. Layfield LJ, Glasgow BJ. Diagnosis of salivary gland tumors by fine-needle aspiration cytology: a review of clinical utility and pitfalls. Diagn Cytopathol 1991;7:267–72.
23. Ryska A, Seifert G. Adenolymphoma (Warthin's tumor) with multiple sarcoid-like granulomas. Pathol Res Pract 1999;195:835–9.