



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

TÁSSIA CAROLINE DA COSTA MENDES

**CARACTERIZAÇÃO CLÍNICO-PATOLÓGICA DO CARCINOMA
ESCAMOCELULAR PRIMÁRIO DE BOCA: UM ESTUDO TRANSVERSAL COM
ÊNFASE NA CATEGORIZAÇÃO HISTOLÓGICA DOS ELEMENTOS TUMORAIS E
ESTROMAIS**

MANAUS - AM

2024



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

**CARACTERIZAÇÃO CLÍNICO-PATOLÓGICA DO CARCINOMA
ESCAMOCELULAR PRIMÁRIO DE BOCA: UM ESTUDO TRANSVERSAL COM
ÊNFASE NA CATEGORIZAÇÃO HISTOLÓGICA DOS ELEMENTOS TUMORAIS E
ESTROMAIS**

TÁSSIA CAROLINE DA COSTA MENDES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade Federal do Amazonas como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Orientadora: Prof^a. Dra. Tatiana Nayara Libório Kimura
Coorientadora: Prof^a. Dra. Luciana Botinelly Mendonça Fujimoto

MANAUS – AM
2024

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

M538c Mendes, Tássia Caroline da Costa
Caracterização clínico-patológica do Carcinoma Escamocelular primário de boca: um estudo transversal com ênfase na categorização histológica dos elementos tumorais e estromais / Tássia Caroline da Costa Mendes . 2024
97 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Tatiana Nayara Libório Kimura
Coorientador: Luciana Botinelly Mendonça Fujimoto
Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Carcinoma de células escamosas. 2. Câncer de boca. 3. Patologia bucal. 4. Patologia bucal. I. Kimura, Tatiana Nayara Libório. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

TÁSSIA CAROLINE DA COSTA MENDES

CARACTERIZAÇÃO CLÍNICO-PATOLÓGICA DO CARCINOMA ESCAMOCELULAR
PRIMÁRIO DE BOCA: UM ESTUDO TRANSVERSAL COM ÊNFASE NA
CATEGORIZAÇÃO HISTOLÓGICA DOS ELEMENTOS TUMORAIS E ESTROMAIS

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-graduação em Odontologia da
Universidade Federal do Amazonas
como requisito parcial para obtenção
do título de Mestre em Odontologia.

Manaus, 11 de março de 2024

BANCA EXAMINADORA

Presidente: Prof.^a Dr.^a. Tatiana Nayara Libório Kimura
Universidade Federal do Amazonas

Membro: Prof. Dr. Luiz Carlos de Lima Ferreira
Universidade Federal do Amazonas

Membro: Prof.^a. Dr.^a. Lia Mizobe-Ono
Fundação Centro de Controle de Oncologia do Amazonas

Dedico ao meu pai, Lázaro Mendes, que sempre me incentivou nesse caminho e agora intercede por mim do céu.

AGRADECIMENTOS

Gratidão à Deus que, em Seu infinito amor e misericórdia, me escolheu e me capacitou para mais uma etapa acadêmica, me sustentando e conduzindo até aqui.

Gratidão ao meu pai, Lázaro Mendes, que durante esse mestrado partiu para os braços do Pai, deixando uma saudade infinita, mas deixando também o legado daquele que sempre se esforçou, me apoiou e impulsionou nesse caminho da formação acadêmica, sei que intercedes por mim do céu, me dando forças para continuar. Gratidão à minha mãe, Marizete Mendes, que para mim representa força, persistência e amor, que também nunca mediu esforços para apoiar minha formação, obrigada mãe por cuidar tão bem de mim e apoiar nas minhas decisões.

Aos meus irmãos Erickson, Wilckson, Jéssica, Laiane e Thamillie pela amizade, parceria e apoio durante essa jornada.

Ao meu namorado, Wanderson Fonteles, pelo apoio, zelo e paciência. Obrigada pelo seu amor e por ser descanso para mim nesse tempo.

À minha orientadora prof.^a Dra. Tatiana Libório, por confiar em mim para realizar esse trabalho. Obrigada pela compreensão, paciência, por toda orientação e auxílio para o desenvolvimento desse trabalho.

À minha co-orientadora, prof.^a Dra. Luciana Fujimoto, que agregou muito para essa pesquisa e sempre se disponibilizou a ajudar, acompanhando essa jornada.

À 10^a Turma de mestrado do PPGO/UFAM, especialmente às queridas amigas Louisimara Alencar e Açucena Dall'Alba, por quem tenho tanto carinho. Obrigada por me acompanharem nesse percurso e por serem presentes nas alegrias e nas dificuldades, obrigada por todo apoio de sempre.

Às minhas amigas, que a "Patologia" me deu, Ana Paula, Letícia Soares e Laryssa Costa, que também me acompanharam e me apoiaram nessa jornada, dividindo também bons momentos e conversas.

Aos meus queridos graduandos do PIBIC, Mayara Ramos e Cainan Pessoa, por me auxiliarem na realização desse trabalho.

Ao DPML/UFAM, CPDA e FCECON, por permitirem que a pesquisa fosse realizada e aos seus profissionais que me auxiliaram na realização da pesquisa.

À Universidade Federal do Amazonas - UFAM e ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia (PPGO/UFAM) por proporcionar essa valiosa oportunidade de crescimento profissional.

À Fundação de Amparo à pesquisa do Estado do Amazonas - FAPEAM pela bolsa de estudos e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio ao PPGO-UFAM.

RESUMO

O carcinoma escamocelular (CEC) é a neoplasia maligna mais frequente em boca e acomete preferencialmente pacientes adultos, do sexo masculino e está associada a fatores de risco como o tabagismo e etilismo. A sua classificação histopatológica em geral, é baseada nas características do tumor, enquanto as características do estroma não costumam ser consideradas. Esta pesquisa teve por objetivo caracterizar o perfil clínico-patológico do CEC primário de boca em pacientes recém- diagnosticados, com ênfase na categorização morfológica dos elementos tumorais e estromais. O estudo caracterizou-se como observacional, tipo transversal, a partir de avaliações de peças cirúrgicas incluídas em um período de 10 anos, provenientes de pacientes diagnosticado com CEC de boca oriundos de três Serviços da cidade de Manaus. Para a análise histopatológica dos CECs convencionais foram considerados 11 parâmetros histopatológicos, sendo eles seis elementos tumorais (grau de queratinização, padrão de invasão, disposição de arranjos celulares, brotamentos tumorais; pleomorfismo nuclear e quantidade de mitoses), três elementos estromais (perfil de maturação do estroma, perfil do infiltrado inflamatório peritumoral e perfil de linfócitos infiltrantes do estroma tumoral), e um elemento intermediário (relação tumor-estroma). Adicionalmente, foram categorizados os escores de malignidade, baseado na classificação de Bryne (1992) bem como itens preconizados pelo Colégio Americano de Patologistas (CAP). Foi utilizado o teste do Qui-quadrado e teste Exato de Fisher considerando nível de significância de 5%, a fim de verificar associação entre os elementos tumorais e estromais entre si (isoladamente e de forma combinada), bem como os diferentes subtipos histológicos do CEC. Dos 121 pacientes encontrados, 30 deles foram incluídos no estudo, sendo, 28 casos de CEC convencional e 2 da variante Cuniculatum do CEC, de acordo com a OMS. A maioria dos pacientes era do sexo masculino (73%; n=22), com idade média de 59 anos e a principal localização foi a língua (70%; n=21), sendo assim o procedimento cirúrgico mais realizado foi a glossectomia parcial. De acordo com os critérios da CAP, s achados morfológicos dos casos de CEC convencional mostraram que a maioria apresentou invasão linfovascular, profundidade de invasão >10 mm. De acordo com os critérios propostos no trabalho, a maioria apresentou o seguinte perfil: **a) Para os elementos tumorais:** grau de queratinização moderada (Grau 2: 35,7%); padrão de invasão em pequenos grupos (não inferiores a 15 células) ou cordões infiltrantes (Grau 3: 46,4%); arranjo celular predominantemente em ilhas (35,8%) e cordões (32,1%) e baixa intensidade/ausência de brotamentos tumorais (71%). Quanto ao pleomorfismo, o critério de percentual de extensão, mostrou população celular com pleomorfismo abundante (grau 3: 60,7%) e quanto ao critério qualitativo, células moderadamente pleomórficas caracterizadas, por núcleos 1,5 a 2 vezes maiores e nucléolos inconspícuos (escore 2: 53,6%). Quanto a presença de mitoses, a maioria apresentou Escore 1: ≤ 12 mitoses/10 campos de maior aumento (CMA), seguido de Escore 2: 13-24 mitoses/10 CMA. **b) Para elementos estromais:** perfil de maturação estroma, 46% dos casos apresentavam estroma imaturo; perfil de TILs 46% foram categorizados na Categoria estromal I; e perfil do infiltrado inflamatório peritumoral, 50% dos casos foram descritos com o Grau 2, definido como moderado; **c) A avaliação da relação tumor-estroma** mostrou que 68% dos casos apresentou-se na

categoria baixa e 32% na categoria alta. d) **A classificação de Bryne**, mostrou que 64% os casos foram categorizados com baixos escores de malignidade e 36% com altos escores de malignidade. Alguns elementos tumorais e estromais, revelaram associações significativas, tais como grau de queratinização *versus* diferenciação histológica ($p=0,013$), padrão de invasão *versus* disposição de arranjo celular predominante ($p=0,003$), padrão de invasão *versus* brotamentos tumorais ($p<0,001$), disposição de arranjo celular predominante *versus* brotamentos tumorais ($p=0,008$), brotamentos tumorais *versus* pleomorfismo nuclear ($p=0,36$). Houve também associação significativa entre relação tumor-estroma *versus* TILs ($p=0,008$), perfil de infiltrado inflamatório peritumoral *versus* TILs ($p=0,028$), perfil de infiltrado inflamatório peritumoral *versus* profundidade de invasão ($p=0,014$). O perfil clínico e epidemiológico dos pacientes diagnosticados com CEC primário de boca da região Amazônica é semelhante ao Amazônica é caracterizado por pacientes de sexo masculino, acima dos 60 anos, com lesões em língua. As associações encontradas neste estudo, entre os elementos histológicos, como o brotamento tumoral associado ao padrão de invasão e disposição do arranjo celular predominante, podem indicar potenciais sinalizadores prognósticos a serem futuramente incluídos na rotina do patologista.

Palavras-chave: Carcinoma de células escamosas; câncer bucal; patologia bucal.

ABSTRACT

Squamous cell carcinoma (SCC) is the most common malignant neoplasm in the mouth and preferentially affects adult male patients and is associated with risk factors such as smoking and alcohol consumption. Its histopathological classification is generally based on the characteristics of the tumor, while the characteristics of the stroma are not usually considered. This research aimed to characterize the clinicopathological profile of primary oral SCC in newly diagnosed patients, with emphasis on the morphological categorization of tumor and stromal elements. The study was characterized as observational, cross-sectional, based on evaluations of surgical specimens included over a period of 10 years, from patients diagnosed with SCC of the mouth from three services in the city of Manaus. For the histopathological analysis of conventional SCCs, 11 histopathological parameters were considered, including six tumor elements (degree of keratinization, pattern of invasion, arrangement of cellular arrangements, tumor budding; nuclear pleomorphism and amount of mitoses), three stromal elements (maturation profile of the stroma, profile of the peritumoral inflammatory infiltrate and profile of infiltrating lymphocytes of the tumor stroma), and an intermediate element (tumor-stroma relationship). Additionally, malignancy scores were categorized, based on Bryne's classification (1992) as well as items recommended by the College of American Pathologists (CAP). The Chi-square test and Fisher's Exact test were used, considering a significance level of 5%, in order to verify the association between tumor and stromal elements with each other (isolated and in combination), as well as the different histological subtypes of SCC. . Of the 121 patients found, 30 of them were included in the study, 28 cases of conventional SCC and 2 of the Cuniculatum variant of SCC, according to the WHO. The majority of patients were male (73%; n=22), with a mean age of 59 years and the main location was the tongue (70%; n=21), thus the most common surgical procedure performed was partial glossectomy . According to the CAP criteria, the morphological findings of conventional SCC cases showed that the majority presented lymphovascular invasion, invasion depth >10 mm. According to the criteria proposed in the work, the majority presented the following profile: **a) For tumor elements:** moderate degree of keratinization (Grade 2: 35.7%); pattern of invasion in small groups (not less than 15 cells) or infiltrating cords (Grade 3: 46.4%); cellular arrangement predominantly in islands (35.8%) and cords (32.1%) and low intensity/absence of tumor growths (71%). As for pleomorphism, the extension percentage criterion showed a cell population with abundant pleomorphism (grade 3: 60.7%) and as for the qualitative criterion, moderately pleomorphic cells characterized by nuclei 1.5 to 2 times larger and inconspicuous nucleoli (score 2: 53.6%). Regarding the presence of mitoses, the majority presented Score 1: ≤ 12 mitoses/10 high power fields (CMA), followed by Score 2: 13-24 mitoses/10 CMA. **b) For stromal elements:** stromal maturation profile, 46% of cases had immature stroma; TILs profile 46% were categorized into Stromal Category I; and peritumoral inflammatory infiltrate profile, 50% of cases were described as Grade 2, defined as moderate; **c) Assessment of the tumor-stroma ratio** showed that 68% of cases were in the low category and 32% in the high category. **d) Bryne's classification** showed that 64% of cases were categorized with low malignancy scores and 36% with high malignancy scores. Some tumor and stromal elements revealed significant associations, such as degree of keratinization versus histological differentiation ($p=0.013$), pattern of invasion versus predominant cellular arrangement ($p=0.003$), pattern of invasion versus tumor budding ($p<0.001$) , predominant cellular arrangement arrangement versus tumor buddings ($p=0.008$), tumor buddings versus

nuclear pleomorphism ($p=0.36$). There was also a significant association between tumor-stroma relationship versus TILs ($p=0.008$), peritumoral inflammatory infiltrate profile versus TILs ($p=0.028$), peritumoral inflammatory infiltrate profile versus depth of invasion ($p=0.014$). The clinical and epidemiological profile of patients diagnosed with primary SCC of the mouth in the Amazon region is similar to the Amazon region, characterized by male patients, over 60 years of age, with lesions on the tongue. The associations found in this study, between histological elements, such as tumor budding associated with the invasion pattern and arrangement of the predominant cellular arrangement, may indicate potential prognostic signals to be included in the pathologist's routine in the future.

Keywords: Squamous cell carcinoma; oral cancer; oral pathology.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Fluxograma para a coleta dos casos nos três Laboratórios de patologia entre os anos 2012-2021 40
- Figura 2.** A- Padrão de invasão definido como Grau 3 em que são encontrados pequenos grupos de células ou cordões infiltrantes finos, não < 15 células (H&E 100X); B – Padrão de invasão definido com Grau 4 representado pela invasão celular difusa e disseminada em células neoplásicas únicas ou em pequenos grupos de células, não > 15 células (H&E 100X). 45
- Figura 3.** Disposição do arranjo celular predominante. A- Células tumorais dispostas em padrão de Lençóis (H&E – 40x); B- Células tumorais dispostas em padrão de ilhas (H&E – 40x); C- Células tumorais dispostas em padrão de cordões (H&E – 40x); D- Células tumorais dispostas em padrão de ninhos (H&E – 40x). 46
- Figura 4.** A- Imagem da seleção de campo para avaliação da intensidade de brotamentos tumorais (H&E- 40X); B- Alta intensidade de brotamentos tumorais (5 ou mais brotamentos – destaque em vermelho) (H&E - 200X); 46
- Figura 5.** Pleomorfismo baseado no Grau de Nottingham. A- Escore 1, as células apresentam pleomorfismo mínimo e, cujos nucléolos e padrão de cromatina são no máximo imperceptíveis (H&E - 200X). B- Escore, as células tumorais com núcleos 1,5 a 2 vezes maiores que as células epiteliais normais (H&E - 200X). C- Escore 3, os núcleos são mais de 2x maiores em tamanho, que variam consideravelmente em tamanho e que mostram cromatina vesicular e frequentemente nucléolos proeminentes (H&E - 200X). 48
- Figura 6.** A, B e C- Exemplos de figuras de mitoses (H&E 400X)..... 49
- Figura 7.** TILS categoria que mostra conteúdo estromal < 50% e TILs > 20% (H&E – 100x) 51
- Figura 8.** A- Infiltrado peritumoral intenso (H&E - 40x). B- Infiltrado inflamatório peritumoral moderado (H&E – 40x) 52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Casos por ano nos três locais da pesquisa (n=30)	40
Tabela 2. Características gerais dos pacientes com diagnóstico de CEC (n= 30)	41
Tabela 3. Informações de tempo de vida após o diagnóstico (n = 30)	43
Tabela 4. Casos de CEC primário de boca segundo a Classificação da OMS (n=30)	43
Tabela 5. Área de tecido avaliada e itens da padronização do CAP para CEC de boca convencional (n=28)	44
Tabela 6. Estadiamento patológico dos casos de CEC Convencional (n = 28).....	44
Tabela 7. Avaliação histopatológica dos elementos tumorais dos casos de CEC Convencional (n = 28).....	47
Tabela 8. Estatística entre GQ e Classificação da OMS para CEC Convencional (n = 28)..	49
Tabela 9. Estatística das associações de Padrão de invasão e 2 elementos tumorais (n = 28)	50
Tabela 10. Estatística das associações de brotamentos tumorais e DAC (n = 28)	50
Tabela 11. Estatística de associação entre PN e BT (n = 28).....	51
Tabela 12. Avaliação histopatológica da RTE dos casos de CEC Convencional (n = 28)....	51
Tabela 13. Avaliação histopatológica dos elementos estromais dos casos de CEC Convencional (n = 28).....	52
Tabela 14. Estatística das associações de Perfil de TILs e RTE (n=28)	53
Tabela 15. Estatística das associações de Perfil de TILs e PII (n=28).....	53
Tabela 16. Estatística das associações entre PII e DOI (n = 28)	54
Tabela 17. Estatísticas de associação de dois elementos tumorais com RTE (n=28).....	54
Tabela 18. Classificação de Bryne para malignidade de acordo com Costa et al. 2005	55

LISTA DE ABREVIATURAS

BT	Brotamentos tumorais
CAP	Colégio Americano de Patologistas
CEC	Carcinoma de células escamosas
CPDA	Centro de Procedimentos Diagnósticos da Amazônia
DAC	Disposição de arranjos celulares
DPML	Departamento de Patologia e Medicina Legal
FCECON	Fundação Centro de Controle de Oncologia do Amazonas
GQ	Grau de queratinização
H&E	Hematoxilina e Eosina
HPV	Vírus do Papiloma Humano
IIP	Perfil celular do infiltrado inflamatório peritumoral
MC	Mitoses por campo
ME	Perfil de maturação do estroma
OMS	Organização Mundial da Saúde
PI	Padrão de invasão
PN	Pleomorfismo nuclear
RHC	Registro Hospitalar do Câncer
RTE	Relação tumor-estroma
SAME	Serviço de Arquivo Médico e Estatísticas
TILs	Linfócitos infiltrantes do estroma tumoral

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	15
2.	REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1	Câncer de boca: Carcinoma de células escamosas	17
2.2	Sistemas de classificação histopatológica	19
2.3	Elementos histológicos do tumor e do estroma do CEC como fatores prognósticos.....	23
3.	OBJETIVOS	26
3.1	Objetivo Geral	26
3.2	Objetivos específicos.....	26
4.	METODOLOGIA	27
4.1	Desenho do estudo	27
4.2	Aspectos éticos	27
4.3	Local do estudo	27
4.4	Amostra de estudo e casuística.....	27
4.5	CrITÉRIOS de Inclusão.....	28
4.6	CrITÉRIOS de exclusão	28
4.7	Coleta de dados clÍnicos	29
4.8	Treinamento da equipe para a avaliação histopatológica	29
4.9	Análise histopatológica.....	30
4.9.1	Elementos tumorais do CEC.....	32
4.9.2	Relação tumor-estroma (RTE)	35
4.9.3	Elementos estromais	36
4.9.4	Classificação de Bryne	37
4.10	Análise dos dados	37
5.	RESULTADOS.....	39
5.1	Seleção da amostra e caracterização da população.....	39
5.2	Achados histopatológicos	43
6.	DISCUSSÃO	56
6.1	Dados sociodemográficos e clÍnicos.....	56
6.2	Avaliação histopatológica	57
7.	CONCLUSÃO	64
	REFERÊNCIAS	65

ANEXO I – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	70
APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – TCLE.....	81
APÊNDICE B – FICHA DE COLETA DOS DADOS CLÍNICOS.....	85
APÊNDICE C – ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA DO CEC PRIMÁRIO DE BOCA	87
APÊNDICE D - TABELA COM OS DADOS DE ELEMENTOS HISTOPATOLÓGICOS TUMORAIS E ESTROMAIS DOS 28 CASOS.....	91
APÊNDICE E – TABELAS CRUZADAS DA ANÁLISE ESTATÍSTICA	93

1. INTRODUÇÃO

O carcinoma escamocelular (CEC) é a neoplasia maligna que mais frequentemente ocorre em boca. Historicamente tem sido relatado em homens com idade acima de 50 anos, sendo o tabagismo e o consumo de álcool fatores de risco frequentemente relacionados, porém outros perfis epidemiológicos já são conhecidos (LOUREDO et al., 2022; NEVILLE et al., 2016) A classificação histopatológica atual do CEC é baseada em conceitos do sistema de graduação desenvolvida por Broder em 1920. Outros sistemas de classificação mais complexos foram sugeridos posteriormente, como Bryne em 1992, com o intuito de contribuir com características histopatológicas de valores prognósticos, mas não foram endossados pela Organização Mundial da Saúde (OMS) (Almangush et al., 2020; OMS, 2022).

De acordo com a edição 5ª Edição da Classificação de Tumores de Cabeça e Pescoço da OMS, o CEC convencional pode ser classificado em bem diferenciado, moderadamente diferenciado e pouco diferenciado, e ainda apresenta outras variantes histopatológicas descritas como acantolítico, basalóide, adenoescamoso, papilar, linfoepitelial, células fusiformes, cuniculatum e verrucoso (WHO, 2022). Essa classificação é inteiramente baseada nas características do tumor, enquanto as características do estroma não são consideradas, além disso, alguns estudos indicam menor ou nenhum valor prognóstico desse sistema de classificação, sendo de pouco auxílio para o planejamento do tratamento (ALMANGUSH et al., 2021a; DIK et al., 2018).

Muitos estudos recentes investigaram o valor prognósticos de elementos morfológicos, tanto estromais quanto tumorais para o CEC oral e de cabeça e pescoço, uma vez que para esses casos o prognóstico está vinculado ao estadiamento clínico (ALMANGUSH et al., 2021a; CHANG et al., 2019; DOLENS et al., 2021; MARKWELL; WEED, 2015; MOHAN; SHARIEF; C., 2019; NIRANJAN; SARATHY, 2018; RANI et al., 2020; SETHI et al., 2021a). Tendo em vista que as abordagens tradicionais na classificação histopatológica são centradas no tumor em si (diferenciação, atividade mitótica, profundidade de invasão) e considerando que as células tumorais podem invadir os tecidos vizinhos do hospedeiro em muitos padrões diferentes, os estudos dos “buddings” tumorais (brotamentos tumorais) têm sido explorados em relação ao seu impacto

no prognóstico dessas lesões (ALMANGUSH et al., 2020; DOLENS et al., 2021; MOHAN; SHARIEF; C., 2019). Os elementos estromais, como as células e outros componentes do microambiente tumoral, que incluem perfil de maturação do estroma, infiltrado inflamatório, linfócitos infiltrantes tumorais (TILs) e a própria relação tumor-estroma (RTE), também foram investigadas como potenciais marcadores de prognóstico, visto que podem influenciar a progressão, principalmente pelo aumento da transição epitélio-mesênquima, ponto de grande interesse na invasão e metástase de muitos cânceres (HEIKKINEN et al., 2019; MARKWELL; WEED, 2015; RANI et al., 2020; SETHI et al., 2021b; SHAN et al., 2021; XU et al., 2021).

Os estudos encontrados na literatura abordam a necessidade da identificação e uso de elementos histopatológicos com valores prognósticos, que auxiliem a conduta clínica para os casos de CEC oral, principalmente em seus estágios iniciais, apontando a segurança para a aplicabilidade durante a rotina dos exames histopatológicos. Porém, a maioria desses estudos enfatizam os elementos de forma isolada ou agrupados de acordo com suas origens, estroma ou tumor, além de não associarem esses aspectos a classificação da OMS, que é amplamente utilizada nos laboratórios de patologia. Com isso, estudos que reúnam informações dos elementos prognósticos morfológicos, tanto estromais como tumorais, em suas respectivas categorias, associando-os às características epidemiológicas e histopatológicas do CEC, são necessários para investigar as associações desses fatores entre si e com os parâmetros utilizados nas classificações de CEC recomendadas, além de reforçar a aplicabilidade na rotina dos laboratórios de patologia e a importância da inserção de informações relevantes, nos laudos histopatológicos, que possam auxiliar a conduta clínica.

Nesse contexto, o objetivo desse estudo é caracterizar o perfil clínico-patológico do CEC primário de boca, em pacientes com diagnósticos recentes, com ênfase na categorização dos elementos estromais e tumorais. Para isso, foi realizado um estudo transversal de casos diagnosticados com CEC, no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2021 de três laboratórios de patologia da cidade de Manaus.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Câncer de boca: Carcinoma de células escamosas

No cenário mundial o câncer de cavidade oral, em conjunto com os cânceres de lábio e orofaringe representam um importante problema de saúde e constituem a oitava neoplasia maligna mais comum (LOUREDO et al., 2022; PERDOMO et al., 2016). No Brasil são observadas as maiores taxas de incidência de câncer de boca e orofaringe, principalmente no sexo masculino, que chegam a ser três vezes maiores do que em outros países da América Central e do Sul e mais de 90% dos casos são representados pelo CEC (LOUREDO et al., 2022; PERDOMO et al., 2016; SUNG et al., 2021).

O carcinoma espinocelular, epidermoide ou de células escamosas oral é uma neoplasia maligna com diferenciação escamosa que se origina do epitélio da mucosa (NEVILLE et al., 2016; WHO, 2022). A etiologia dessa neoplasia está frequentemente associada ao tabagismo, etilismo, principalmente quando há exposição prolongada a esses fatores durante o envelhecimento, e com a ação do Vírus do Papiloma Humano (HPV), em populações mais jovens (LEITE et al., 2018; PLZÁK et al., 2019). A interação entre tabaco e álcool contribui significativamente para o aumento da incidência de diversas neoplasias malignas aerodigestivas, principalmente os cânceres de cabeça e pescoço (LEITE et al., 2018; ZYGOGIANNI et al., 2011). Um estudo realizado por Znaor et al. em (2003) mostrou que homens que fumam e bebem são quase 38 vezes mais propensos a desenvolver câncer de cabeça e pescoço do que homens que não fazem nenhum dos dois.

O CEC acomete preferencialmente o gênero masculino e principalmente em indivíduos a partir de 40 anos de idade, com taxas aumentadas entre as pessoas de 50 a 79 anos (ELLINGTON et al., 2020; LEITE et al., 2018). Pode ocorrer em pacientes de todas as etnias, que podem influenciar as taxas de prevalência devido a prática sociocultural (JADHAV; GUPTA, 2013).

Quanto à localização, o CEC pode se desenvolver em qualquer região da cavidade oral, mas existem locais que são mais comumente afetados destacando-se borda lateral de língua e assoalho bucal, outros locais como gengiva/mucosa alveolar, mucosa jugal e o palato duro, também podem ser acometidos (HOWARD; AGRAWAL; GOOI, 2021; LEITE et al., 2018; LOUREDO

et al., 2022). O carcinoma espinocelular de boca possui uma apresentação clínica variável, incluindo as formas leucoplásica, eritroplásica, eritroleucoplásica e úlceras nos padrões de crescimento exofítico e endofítico (DEUSDEDIT et al., 2016; LEITE et al., 2018; NEVILLE et al., 2016).

Leite et al. em (2018) revisaram os arquivos do Laboratório de Patologia Bucal da Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil, entre 2000 e 2015. Os dados demográficos e os aspectos clínicos das lesões, incluindo sexo, idade, procedência do paciente, ocupação do paciente, sintomas relatados pelo paciente na consulta inicial, duração das queixas, localização do tumor, apresentação clínica da lesão, tamanho do tumor, primeira hipótese diagnóstica e presença de hábitos deletérios (tabagismo, etilismo ou ambos) foram revistos. De 4.727 lesões bucais diagnosticadas em um período de 15 anos, 250 eram malignas (5,28%). Destes, 194 casos (77,6%) eram carcinomas espinocelulares. A maioria dos casos ocorreu em homens, com 118 casos (60,8%), e a faixa etária mais acometida foi a sétima e oitava décadas de vida (51,9%). A borda da língua foi o local mais comum (51 casos; 26,7%), seguido do assoalho da boca/ventral da língua (36 casos; 18,8%). Clinicamente, lesões ulceradas (76 casos; 46,3%) foram as mais comumente observadas, seguidas de leucoplasia (30 casos; 18,3%) e leucoeritroplasia (20 casos; 12,2%). A maioria das lesões (76 casos; 76,0%) era de tamanho menor que 4 cm; dessas, 38 (38%) eram lesões menores que 2,0 cm e as 38 (38%) restantes eram lesões entre 2,1 e 4,0 cm. Lesões acima de 4,0 cm estiveram presentes em 24 casos (24,0%).

Histopatologicamente, o CEC é caracterizado como uma proliferação de células epiteliais malignas que invadem o tecido conjuntivo subjacente, as células podem estar dispostas isoladamente ou em grupos celulares, podendo formar alguns padrões arquiteturais, como cordões, ninhos e lençóis. As células neoplásicas exibem hiperchromatismo, pleomorfismo nuclear e celular e aumento do número de figuras de mitoses típicas ou atípicas em diferentes graus de apresentação (BATISTA et al., 2010; LIBÓRIO et al., 2011).

As células epiteliais neoplásicas podem ainda circundar e invadir o interior do lúmen de vasos sanguíneos e linfáticos. Frequentemente, é possível observar uma significativa resposta inflamatória às células em invasão e áreas focais de necrose que podem estar presentes. As células epiteliais malignas são capazes

de induzir a formação de novos e pequenos vasos sanguíneos (angiogênese) e, ocasionalmente, a formação de fibrose (desmoplasia) (NEVILLE et al., 2016).

O planejamento do tratamento e o prognóstico para pacientes com CEC são baseados principalmente na classificação TNM, um sistema internacional de estadiamento de malignidade que mede 3 parâmetros principais de um câncer: tamanho T ou extensão do tumor primário; N–número de linfonodos envolvidos; M – presença ou ausência de metástases (LINDENBLATT et al., 2012). Por muito tempo, esse sistema foi usado para estimar tanto a resposta clínica a terapia quanto o resultado de sobrevida, mas alguns pacientes com CEC oral morrem apesar de terem neoplasias que foram consideradas clinicamente como estágio I ou II e tratadas de acordo (ANNEROTH; BATSAKIS; LUNA, 1987; LINDENBLATT et al., 2012).

Em 2017, foi lançada a 8ª edição do manual de estadiamento International Union Against Cancer (UICC) American Joint Committee on Cancer (AJCC), onde foram introduzidas duas mudanças importantes para o CEC oral, a saber, a incorporação da profundidade de invasão do tumor (depth of invasion - DOI) no estágio T e a incorporação da disseminação extracapsular (extracapsular spread - ECS) no estágio N (AMIN et al., 2017). Vários estudos examinaram o desempenho da 8ª edição da AJCC em coortes independentes de CEC oral e a necessidade de mais desenvolvimento é reconhecida, pois esse sistema sozinho nem sempre prediz o resultado clínico, indicando que outros fatores relacionados ao paciente ou às características histopatológicas ou moleculares do tumor devem ser investigados, assim como outros critérios morfológicos devem ser aplicados(ALMANGUSH et al., 2020; LINDENBLATT et al., 2012).

2.2 Sistemas de classificação histopatológica

As classificações histopatológicas para CEC Oral foram desenvolvidas na tentativa de explicar o comportamento biológico discrepante de tumores com características clínicas aparentemente semelhantes(LINDENBLATT et al., 2012).

Broders em (1920) propôs o primeiro sistema de graduação histopatológica de malignidade dos carcinomas espinocelulares de lábio, baseado no grau de diferenciação celular e independente da história clínica, o qual se deu a partir da observação da acentuada tendência das células a se diferenciarem, produzindo

um crescimento semelhante ao normal, a exemplo das formações de pérolas córneas. Nesse sistema, os carcinomas foram divididos em quatro graus; grau 1 – carcinomas com tendência marcante para se diferenciar onde até 25% de células apresentam-se indiferenciadas; grau 2 – carcinomas que possuíam de 25% a 50% de células indiferenciadas; grau 3 – apresentavam células indiferenciadas ocupando de 50% a 75% do tumor; e grau 4 – indiferenciação de 75% a 100% do tumor. Para esse sistema se destacava ainda a importância do número de figuras mitóticas e o número de células com nucléolos evidentes.

Anneroth et al. em (1987) publicaram um sistema multifatorial de gradação histopatológica de malignidade para os carcinomas de cavidade oral, que não se restringia apenas à avaliação das células tumorais, como a classificação de Broders, o que, segundo os autores, apresentava um significado limitado e, em muitos casos, insuficiente para ser utilizado como base para prognóstico e tratamento. Esse sistema teve como base outra classificação multifatorial para carcinomas de laringe, que abordava oito parâmetros morfológicos, considerando tanto a população celular tumoral quanto a interface entre as células tumorais e o tecido hospedeiro (relação tumor/ hospedeiro). De acordo com este sistema, os parâmetros morfológicos relativos à população celular do tumor que recebem pontuações de 1 a 4 são: Grau de queratinização (1 - altamente queratinizada (>50%); 2 - moderadamente queratinizada (20%-50%); 3 - queratinização mínima (5%-20%); e 4 - Sem queratinização (0%-5%)); pleomorfismo nuclear (1 - Presente em menos de 25% das células; 2 - presente em 25%-50% das células; 3 - Presente 50% -75% das células; e 4 - Presente em mais de 75% das células); e número de mitoses (1 - 0-1 mitose/campo; 2 - 2-3 mitoses/campo; 3 - 4-5 mitoses/campo; e 4 - >5 mitoses/campo). Relativo a relação tumor/ hospedeiro, também recebem pontuação de 1 a 4, os parâmetros morfológicos são: Padrão de invasão (1 - Bordas bem delineadas, empurrando a frente a área de infiltração; 2 - Cordões, bandas e/ou cordões sólidos e infiltrantes; 3 - Pequenos grupos de células ou cordões infiltrantes finos, não < 15 células; e 4 - Invasão celular difusa e disseminada em células neoplásicas únicas ou em pequenos grupos de células, não > 15 células); estágio de invasão (1 - Carcinoma in situ e/ou invasão questionável; 2 - Invasão distinta, mas envolvendo lâmina própria apenas; 3 - Invasão abaixo da lâmina própria adjacente aos músculos, tecidos da glândula salivar e periósteo; e 4 - Invasão

extensa e profunda substituindo a maior parte do tecido estromal e infiltrando o osso da mandíbula); e Infiltração linfoplasmocitária (1 - marcante; 2 - moderado; 3 - leve; e 4 - ausente).

Bryne et al., em (1989) introduziram o conceito de que as áreas mais invasivas do tumor, conhecidas como “frente invasiva”, seriam as mais relevantes para o prognóstico e baseado em modificações do sistema de graduação de malignidade recomendado por Anneroth, publicaram uma nova gradação histopatológica de malignidade para o carcinoma de células escamosas de cavidade oral. Nessa classificação foi proposto a remoção do parâmetro estágio de invasão, já que, em muitos casos, uma quantidade inadequada de tecido proveniente de biópsias impedia a avaliação da profundidade de invasão das células tumorais no tecido conjuntivo, e a avaliação dos critérios sendo realizada apenas nas áreas mais anaplásicas dos sítios de maior invasividade dos tumores. Ao final na análise histopatológica, todos os cinco escores são somados, fornecendo o grau de malignidade do tumor, onde casos com alto escore (>10 pontos) indicam um tumor pouco diferenciado, e casos com escore 5-10, na pontuação dos critérios de malignidade, apresentaram prognóstico significativamente melhor.

Bryne et al. em (1992) publicaram uma nova atualização no sistema de gradação de malignidade, com seus estudos demonstraram que a reprodutibilidade do sistema poderia ser melhorada excluindo a contagem mitótica do sistema enquanto o valor prognóstico permaneceu altamente significativo. Além disso, foi realizado a divisão em do score de malignidade, quanto ao prognóstico, em três grupo de acordo com a soma da pontuação: bom (4-8 pontos); moderado (9-12 pontos); pobre (13-16 pontos). Costa et al. em (2005) realizou um estudo com 38 casos de CEC oral, utilizando os parâmetros propostos por Bryne em 1992, no entanto para avaliação da pontuação, utilizou os escores médios totais da gradação histológica de malignidade, que foram obtidos pela somatória dos pontos (escores) atribuídos a cada parâmetro morfológico dividido pelo número de parâmetros utilizados, com o intuito de minimizar possíveis distorções na contagem final, portanto foram definidos como baixos escores de malignidade aqueles que apresentaram variação entre 1,0 a 2,5 e como altos escores àqueles que variaram entre 2,6 a 4,0.

Em (2005), Brandwein-Gensler e colaboradores propuseram uma nova avaliação histopatológica de risco para o carcinoma de células escamosas de cavidade oral, relatando ser esta fortemente preditiva de sobrevida. Nessa avaliação, foram atribuídos valores numéricos a cada uma das três variáveis histopatológicas de significância e, ao final da análise, cada paciente recebeu uma pontuação de risco, baseada na soma dos pontos atribuídos a cada característica. Os pacientes foram classificados em baixo, intermediário e alto risco para o desenvolvimento de recorrência e probabilidade de sobrevida. Os parâmetros avaliados foram: Invasão perineural (0 – nenhuma; 1 – pequenos nervos; e 3 – grandes nervos); infiltrado linfocítico (0 – contínuo; 1 – grandes agregados; e 3 – pouco ou nenhum); pior padrão de invasão (0 – padrão 1, 2 ou 3; 1 – padrão 4; e 3 – padrão 5). Quanto a pontuação de risco foi definida para: risco de recorrência local (0 – baixo; 1 ou 2 – intermediário; e 3-9 – alto); Probabilidade de sobrevida total (0 – boa; 1 ou 2 – intermediária; e 3-9 – pobre); e por fim indicação para radioterapia adjuvante (local (0 – não; 1 ou 2 – não; e 3-9 – sempre).

A OMS não endossou os sistemas multifatoriais nem os conjuntos mínimos de dados ou relatórios histopatológicos padronizados (ALMANGUSH et al., 2020). A edição atual da Classificação de Tumores de Cabeça e Pescoço apoia um sistema de classificação simples, baseado nos critérios de Broders e apenas reconhece variantes bem, moderadamente e pouco diferenciadas de CEC convencionais e classificam as outras variantes histopatológicas que podem ser: CEC acantolítico, CEC basalóide, carcinoma adenoescamoso, CEC papilar, carcinoma linfoepitelial, CEC de células fusiformes (sarcomatoide), carcinoma cuniculatum e CEC verrucoso (WHO, 2022). Para o CEC convencional, baseou-se no grau de diferenciação celular e permitiu o agrupamento dessa neoplasia maligna em três categorias: os bem diferenciados se assemelham ao epitélio escamoso normal; o CEC moderadamente diferenciado contém atividade pleomorfica e mitótica nuclear distinta, incluindo mitoses anormais e menos queratinização; os tumores pouco diferenciados, predominam células imaturas, com numerosas mitoses típicas e atípicas e mínima queratinização (WAGNER et al., 2017).

As abordagens tradicionais na classificação histopatológica são centradas nas características do tumor, como diferenciação, atividade mitótica,

profundidade de invasão,) em vez de estroma e respostas do hospedeiro (ALMANGUSH et al., 2020). Os sistemas multifatoriais tentaram fazer melhorias com a abordagem de outras características, além de estudo recentes mostrarem a importância da utilização de outros elementos, como os brotamentos tumorais, a relação tumor-estroma e categorizações do estroma tumoral (ALMANGUSH et al., 2020, 2021b; HEIKKINEN et al., 2019; MOHAN; SHARIEF; C., 2019; VAN PELT et al., 2018).

2.3 Elementos histológicos do tumor e do estroma do CEC como fatores prognósticos

Como sugerido por algumas classificações histopatológicas e estudos realizados sobre a região de frente invasiva do tumor, as células localizadas são mais agressivas em termos de potencial metastático (BRYNE et al., 1992; WANG et al., 2011). “Tumor budding” ou “brotamento tumoral” é definido como a presença de células únicas isoladas ou pequenos aglomerados de até quatro células espalhadas no estroma à frente da região invasiva do tumor (UENO et al., 2002). O brotamento representa duas características malignas: discoesão celular e invasão ativa; e a presença de brotos tumorais tem sido considerada característica de câncer agressivo, sendo demonstrado como um marcador prognóstico valioso para pacientes com câncer colorretal e outras localizações (UENO et al., 2002; WANG et al., 2011).

Em uma meta-análise realizada por Almangush, Pirinen, et al. em (2018a) avaliou o valor prognóstico do brotamento tumoral no carcinoma espinocelular oral, em um total de 16 estudos. A meta-análise mostrou que o brotamento tumoral foi significativamente associado à metástase linfonodal (odds ratio = 7,08, IC 95% = 1,75–28,73), sobrevida livre de doença (taxa de risco = 1,83, IC 95% = 1,34–2,50) e sobrevivência global (razão de risco = 1,88, IC 95% = 1,25–2,82). Esse estudo concluiu então que o brotamento tumoral é um marcador prognóstico simples e confiável para CEC oral.

A análise de marcadores prognósticos expressos no estroma tumoral recebeu mais atenção durante a última década, entre eles relação tumor-estroma (RTE), que é definida como a proporção de tecido tumoral em relação ao tecido estromal circundante, foi recentemente introduzido como um recurso prognóstico valioso em muitos tumores sólidos (ALMANGUSH et al., 2021b; VAN

PELT et al., 2018). A revisão sistemática e meta-análise realizada por Almangush, Alabi et al. em 2021 avaliou a RTE em câncer de cabeça e pescoço em nove estudos de diferentes subsítios (incluindo coortes de carcinomas nasofaríngeo, oral, laríngeo e faríngeo). Em todos os estudos, a RTE foi avaliada pela coloração de hematoxilina e eosina, sendo a classificação divididas em categorias de alto risco (>50%) e baixo risco (<50%) de acordo com a quantidade de estroma tumoral. Essa meta-análise mostrou que a RTE está significativamente associada à mortalidade relacionada ao câncer (HR 2,10, IC 95% 1,56–2,84) e à sobrevida livre de doença (HR 1,84, IC 95% 1,38–2,46) (Almangush, Alabi, et al., 2021). A RTE também foi examinada no estágio inicial do CEC oral da língua e pode ter um significado prognóstico útil e em associação com a avaliação dos brotamentos tumorais, mostrou correlação significativa (ALMANGUSH et al., 2018b).

Outra avaliação sugerida por estudos recentes é a análise dos linfócitos infiltrantes de tumor estromal (stromal tumor-infiltrating lymphocytes – TILs), como um fator determinante da biologia do tumor com foco no seu valor prognóstico/preditivo (DIECI et al., 2018). Heikkinen et al. em (2019) avaliaram o valor prognóstico dos TILs em uma coorte multicêntrica de carcinoma espinocelular precoce de língua, utilizando o método introduzido pelo International Immuno-Oncology Biomarker Working Group, de avaliação de TILs em percentual, que mostrou resultados importantes quanto a sobrevida global, sobrevivência específica da doença e sobrevida livre de doença, concluindo que essa avaliação pode auxiliar na identificação de casos de alto risco de CEC em estágio inicial.

Uma nova proposta de categorização de elementos estromais foi realizada por Almangush, Bello, et al. em 2021 para CEC de língua, incluindo a avaliação da reação desmoplásica, já utilizada em carcinoma de outras localizações, a ser definido como estroma imaturo, intermediário e maduro, e propondo a avaliação dos TILs em três categorias: categoria estromal I, II e III. Os resultados desse estudo, a partir da análise de 308 casos, mostrou que a categoria III, uma grande quantidade de estroma com infiltração fraca de linfócitos, teve associação estatisticamente significativa a uma pior sobrevida livre de doença com uma taxa de risco de 2,68 (95% IC 1,26 5,69), pior sobrevida geral (HR 2,95, 95 % IC 1,69–5,15), baixa sobrevida específica da doença (HR 2,66, 95% IC 1,11 6,33) e alta

taxa de recorrência local (HR 4,13, 95% CI 1,67–10,24), mas nenhuma associação significativa foi encontrada com metástases linfonodais (HR 1,27, IC 95% 0,37–4,35). Já categorização do estroma com base na reação desmoplásica mostrou um baixo valor prognóstico para CEC precoce em todas as análises de sobrevida ($p > 0,05$) (ALMANGUSH et al., 2021a).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

- Caracterizar o perfil clínico-patológico do carcinoma escamocelular (CEC) primário de boca em pacientes recém-diagnosticados, com ênfase na categorização morfológica dos elementos tumorais e estromais.

3.2 Objetivos específicos

- Caracterizar o perfil epidemiológico de pacientes com CEC primário de boca
- Graduar o CEC primário de boca segundo a classificação da OMS, bem como estratificar suas variantes histológicas.
- Categorizar **seis elementos tumorais** do CEC convencional, considerando: 1. Presença e grau de queratinização; 2. Padrão de invasão; 3. Disposição de arranjos celulares; 4. Presença de brotamentos tumorais; 5. Pleomorfismo nuclear; e 6. Quantidade de mitoses por campo.
- Avaliar a relação **tumor-estroma**.
- Categorizar **três elementos estromais** do CEC convencional, considerando: 1 Perfil de maturação do estroma; 2. Perfil de linfócitos infiltrantes do estroma tumoral e 3 Perfil celular do infiltrado inflamatório peritumoral.
- Categorizar os achados morfológicos de acordo com os **critérios de Bryne** para escore de malignidade;
- Associar os elementos estromais e tumorais entre si (isoladamente e de forma combinada), bem com os diferentes subtipos histológicos do CEC.
- Associar os achados clínicos e morfológicos dos pacientes com CEC primário de boca.

4. METODOLOGIA

4.1 Desenho do estudo

O estudo consiste de uma pesquisa observacional transversal descritiva/analítica e retrospectiva. A recomendação *Strengthening the Reporting of Observational studies in Epidemiology* (STROBE), que constitui um conjunto de itens para estudos observacionais, foi utilizada para conduzir esta pesquisa ((CUSCHIERI, 2019).

4.2 Aspectos éticos

O trabalho foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEP) da Universidade Federal do Amazonas e foi aprovado com o número CAAE 65678222.0.0000.5020, número do parecer: 5.861.203.

4.3 Local do estudo

A pesquisa foi realizada em 3 laboratórios de anatomia patológica da cidade de Manaus/AM, sendo eles: Laboratório de Anatomia Patológica do DPML/UFAM, localizado na avenida Afonso Pena, 1053 – Praça 14; Laboratório de Anatomia Patológica da Fundação Centro de Controle de Oncologia do Amazonas (FCECON), localizado na Avenida Francisco Orellana, 215 – Planalto; e no Centro de Procedimentos Diagnósticos da Amazônia (CPDA), localizado na Av. Ramos Ferreira, 1075 – Centro.

4.4 Amostra de estudo

A amostragem foi por **conveniência** constituída de pacientes adultos recém-diagnosticados com CEC primário de boca, aqueles virgem de tratamento quimioterápico e radioterápico, no período entre janeiro de 2012 e dezembro de 2021, que obedeceram aos critérios de inclusão e exclusão. Para isso foram consideradas informações de prontuários, requisições de exames histopatológicos e amostras histopatológicas (lâminas histológicas) provenientes de três laboratórios de patologia, dos pacientes diagnosticados com CEC primário de boca, que assinaram o TCLE e os abrangidos pelo TCUD. Neste estudo foram utilizadas lâminas histopatológicas localizadas após a identificação dos casos, a partir dos dados de prontuário e requisições de exames histopatológicos, a qual o material encontrado para avaliação constituía-se de produtos de **peças cirúrgicas**, ou seja, materiais histológicos dos casos tratados primariamente com cirurgia de remoção total da lesão neoplásica. As lâminas

foram avaliadas quanto a sua qualidade para serem incluídas ou não no estudo, conforme os critérios de elegibilidade.

4.5 Critérios de Inclusão

- Prontuário/Requisição de exames histopatológico de pacientes, de ambos os sexos, com idade acima de 18 anos, diagnosticados com CEC primário de boca mediante laudo histológico da peça cirúrgica, podendo ser o CEC convencional ou suas variantes, no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2021;
- Pacientes em acompanhamento na FCECON com diagnóstico de CEC primário de boca, no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2021;
- Requisições, laudos histopatológicos e respectivas lâminas histológicas, referentes a peça cirúrgica de pacientes avaliados nos laboratórios de Patologia da FCECON, DPML/UFAM e CPDA, com diagnóstico de CEC primário de boca, diagnosticados no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2021;
- Lâminas e/ou blocos de materiais obtidos da peça cirúrgica apresentando áreas histopatológicas representativas da neoplasia, dos elementos tumorais, estromais, transição estroma-tumor e inter-relação entre eles, independentemente do tamanho geral da amostra.
- Lâminas histopatológicas ou blocos de parafina de pacientes diagnosticados com CEC no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2021

4.6 Critérios de exclusão

- Prontuário/ Requisição de exame histopatológico com informações incompletas do paciente ou do espécime.
- Material mal processado, com coloração inadequada, artefatos de inclusão ou quaisquer outros que dificultem a análise histológica.
- Material histopatológico referente a pacientes com histórico de tratamento neoadjuvante, visto que o tratamento pode provocar alterações celulares tumorais e de estroma.

4.7 Coleta de dados clínicos

Para caracterizar o perfil epidemiológico e clínico de pacientes, as informações foram extraídas de prontuários médicos/requisição de exame histopatológico, a partir do levantamento junto ao Serviço de Arquivo Médico e Estatísticas (SAME), Registro Hospitalar do Câncer (RHC), sistema eletrônico iDoctor e laboratório de patologia do FCECON e aos serviços de patologia do DPML/UFAM e CPDA. Para coleta dos dados foi construído um formulário de coleta (APÊNDICE A), onde foram preenchidos os seguintes dados:

- Condições sociodemográficas: idade, sexo, estado civil, escolaridade, ocupação, naturalidade e cor da pele.
- História médica: Tabagismo, etilismo, sinais e sintomas.
- Características clínicas e anatomopatológicas: data do diagnóstico, tipo de procedimento cirúrgico, grau histopatológico ou variante histológica do CEC, sítio anatômico da lesão, estadiamento patológico, tratamento e tempo de vida após o diagnóstico.

4.8 Treinamento da equipe para a avaliação histopatológica

Para minimizar possíveis vieses de mensuração da avaliação histológica e categorização dos dados, foi realizado, inicialmente um treinamento para avaliação dos parâmetros da seleção dos campos analisados. Esse processo foi realizado com avaliações de imagens histológicas, retiradas de estudos encontrados na literatura e inseridas em uma apresentação em *PowerPoint*, em reuniões com a equipe para o reconhecimento de cada categoria dos parâmetros histológicos a serem avaliados, técnica “*in lux*” (SB BRASIL, 2010). O treinamento prático se deu com uma amostra aleatória, no qual a análise histopatológica por meio de microscópio óptico foi realizada por três patologistas da equipe, foi realizada a avaliação de todos os elementos morfológicos, seguindo a ordem descrita na metodologia. Posteriormente, para 6 lâminas histológicas de peças cirúrgicas de CEC convencional, do laboratório de patologia do DPML/UFAM, foi estabelecido a estratégia de avaliação que os elementos morfológicos em grupos, para a análise, onde primeiro foram avaliados elementos tumorais, em todos os casos, e posteriormente a avaliação da relação tumor/estroma seguido dos elementos estromais. A contagem do número de mitoses também se deu em um momento separado para os casos, pela sua complexidade e tempo de trabalho da análise.

4.9 Análise histopatológica

As lâminas histológicas coradas em Hematoxilina e Eosina (H&E), dos casos referentes à peça cirúrgica dos casos de CEC, foram examinadas microscopicamente, em cada local de origem, suas características histopatológicas, foram inseridas em um formulário (APÊNDICE C), com as informações dos elementos tumorais e estromais do CEC primário de boca. A leitura das lâminas histológicas foi realizada, em um local da pesquisa (DPML/UFAM), por pelo menos 2 patologistas previamente treinados quantos aos parâmetros da avaliação histopatológica de cada elemento, para os outros dois locais, a coleta foi realizada por um único patologista. Primeiramente foi identificado a Classificação histopatológica do CEC, segundo a OMS (2022) em:

- CEC Convencional:
 - Bem diferenciado
 - Moderadamente diferenciado
 - Pouco diferenciado
- Variantes histopatológicas do CEC:
 - Acantolítico;
 - Basalóide;
 - Adenoescamoso;
 - Papilar;
 - Linfoepitelial;
 - Células fusiformes (sarcomatoide);
 - Cuniculatum;
 - Verrucoso.

A avaliação histopatológica detalhada foi realizada somente para os casos definido como CEC Convencional. Para iniciar a avaliação das lâminas histológicas, foi mensurado o tamanho da área de tecido presente na lâmina a ser avaliada, com o auxílio de uma régua milimetrada. Foram avaliados os itens que compõem as recomendações do guia elaborado pelo Colégio Americano de Patologistas, de acordo com a AJCC/UICC 8^a edição, coletadas a partir das informações do laudo histológico e confirmadas com a análise histopatológica, a qual inclui as dimensões máximas do tumor, profundidade de invasão (DOI), invasão linfática e / ou vascular, infiltração perineural, status das margens do

tumor, status de linfonodos regionais e o estadiamento patológico. O DOI foi definido como a distância máxima da membrana basal até a margem mais profunda do tumor, esse parâmetro foi medido com precisão micrométrica, com auxílio de uma régua para microscópio, quando disponível no local, quando está não estava disponível foi realizada uma marcação com pincel de ponta fina, na lâmina histológica, na região correspondente a margem da membrana basal e na margem mais profunda do tumor durante a visualização ao microscópio, e depois foi realizado a mensuração da distância entre as duas marcações com uma régua milimetrada. Posteriormente, foram avaliados os outros aspectos histológicos descritos a seguir e resumidas no **Quadro 1**.

Quadro 1. Critérios e parâmetros de categorização dos elementos histológicos

ELEMENTOS HISTOLÓGICOS	CATEGORIAS				
Elementos tumorais					
<i>Presença e grau de queratinização* - 40x (Anneroth et al.; (1987) e Bryne et al.; (1992))</i>	Grau 1: Altamente queratinizada (>50%)		Grau 2: Moderadamente queratinizada (20%-50%)	Grau 3: Queratinização mínima (5%-20%)	Grau 4: Sem queratinização (0%-5%)
<i>Padrão de invasão* - 40x e 100x (Anneroth et al.; (1987) e Bryne et al.; (1992))</i>	Grau 1: Bordas bem delineadas, empurrando a frente a área de infiltração;		Grau 2: Cordões, bandas e/ou cordões sólidos e infiltrantes	Grau 3: Pequenos grupos de células ou cordões infiltrantes finos, não < 15 células;	Grau 4: Invasão celular difusa e disseminada em células neoplásicas únicas ou em pequenos grupos de células, não > 15 células
<i>Disposição de arranjo celular - 40x e 100x (Libório et al.; 2011)</i>	Lençóis	Ilhas	Cordões	Ninhos	células isoladas
<i>Brotamentos tumorais – 200x (Wang et al.; 2011)</i>	Alta intensidade de brotamento tumoral: 5 ou mais buds em um campo de 200x			Baixa intensidade de brotamento tumoral: < 5 buds ou ausência em um campo de 200x	
<i>Pleomorfismo nuclear* - 100x (Anneroth et al.; (1987) e Bryne et al.; (1992))</i>	Grau 1: Presente em menos de 25% das células		Grau 2: presente em 25%-50% das células	Grau 3: Presente 50% -75% das células	Grau 4: Presente em mais de 75% das células
<i>Pleomorfismo nuclear – 100x e 200x (van Dooijeweert et al.; 2022)</i>	Escore 1: Tamanho semelhante às células epiteliais normais		Escore 2: núcleos 1,5 a 2 vezes maiores que as células epiteliais e com pleomorfismo moderado	Escore 3: os núcleos de pontuação 3 são mais de 2 × maiores, que variam consideravelmente em tamanho.	
<i>Quantidade de mitoses por campo - 400x (van</i>	Escore 1: ≤12 mitoses/10 campos		Escore 2: 13-25 mitoses/10 campos	Escore 3: ≥25 mitoses/10 campos	

<i>Dooijeweert et al.; 2022)</i>			
Características intermediárias			
<i>Relação tumor-estroma - 40x e 100x (van Pelt et al.; 2018)</i>	RTE alta: > 50% da área do estroma	RTE baixa: ≤ 50% da área do estroma	
Elementos Estromais			
<i>Perfil de maturação do estroma – 100x (Almangush et al.; 2021)</i>	Estroma maduro: Colágeno fino em camadas, sem alteração mixóide ou queuloide	Estroma intermediário: Colágeno tipo queuloide misturado ao estroma maduro, sem alteração mixóide	Estroma imaturo: Estroma fibrótico com alteração mixóide, completando um aumento 40x.
<i>Perfil de TILs – 100x (Almangush et al.; 2021)</i>	Categoria estromal I: Conteúdo estromal < 50% e TILs > 20%	Categoria estromal II: conteúdo estromal ≥ 50% com TILs altos > 20% ou conteúdo estromal < 50% com TILs < 20%	Categoria estromal III: conteúdo estromal ≥ 50% e TILs < 20%
<i>Infiltrado linfoplasmocitário peritumoral* - 100x (Anneroth et al.; (1987) e Bryne et al.; (1992))</i>	Grau 1: Marcado;	Grau 2: Moderado;	Grau 3: Discreto; Grau 4: Ausente.
<i>Classificação de Bryne (Costa et al.; 2005)</i>	Baixos escores de malignidade: Pontuação entre 1,0 a 2,5;		Altos escores de malignidade: Pontuação entre 2,6 a 4,0
<i>* Características histopatológicas que compõem a avaliação do Escore de Bryne</i>			

4.9.1 Elementos tumorais do CEC

Os seguintes elementos tumorais foram avaliados e categorizados:

- Grau de queratinização (GC)

. Para avaliação da queratinização, foram considerados os critérios utilizados por Anneroth et al., (1987) e Bryne et al.; (1992):

- Grau 1: Neoplasia altamente queratinizada, onde mais de 50% das células exibem queratinização;
- Grau 2: Moderadamente queratinizado (20%-50% das células);
- Grau 3: Queratinização mínima (5%-20% das células);
- Grau 4: Sem queratinização (0%-5% das células).

A classificação da queratinização foi mensurada independente se a queratina aparecia como células queratinizadas individualmente ou na forma de pérolas de queratina dentro da população de células tumorais. Para essa avaliação foi realizada uma estimativa do percentual da presença de queratina, na área de tumor presente na lâmina avaliada, com a objetiva 4x do microscópio óptico.

- Padrão de invasão (PI)

As informações das características infiltrativas do tumor foram coletadas em cada caso, seguindo os critérios de Anneroth et al.; (1987) e Bryne et al.; (1992):

- Grau 1: Bordas bem delineadas, empurrando a frente a área de infiltração;
- Grau 2: Cordões, bandas e/ou cordões sólidos e infiltrantes;
- Grau 3: Pequenos grupos de células ou cordões infiltrantes finos, sendo o número de células, em cada grupo, não inferior a 15 células;
- Grau 4: Invasão celular difusa e disseminada da neoplasia em células neoplásicas únicas ou em pequenos grupos de células, onde o número correspondente de células não excede 15 células.

Utilizando a objetiva de 4x e 10x do microscópio óptico foi observado o PI considerando o arranjo das células do CEC presentes nas áreas de invasão do tumor.

- Disposição de arranjos celulares (DAC)

Considerando que as células escamosas do CEC podem estar arranjadas em diferentes padrões, a análise histopatológica para este item foi avaliada e indicado o padrão predominante utilizando a objetiva de 4x e 10x, do microscópio óptico, de acordo com características observadas em Libório et al., (2011):

- Lençóis: Para esse padrão foram considerados as áreas com grandes grupamentos de células escamosas, com ou sem área de queratinização, sem muitas áreas de estroma permeando a área do tumor.
 - Ilhas: Esse padrão compreendeu os casos em que as células se encontravam arranjadas em grupo, e permeados de estroma, lembrando ilhas ou ilhotas de células, com ou sem presença de queratinização.
 - Cordões: Padrão em que as células escamosas estavam arranjadas em grupos, com disposição enfileiradas, com ou sem presença de queratinização, e permeados de estroma.
 - Ninhos: Pequenos grupamentos de células escamosas, com ou sem presença de queratinização, e permeados de estroma.
 - Células isoladas
- Brotamentos tumorais (BT)

São representados por células tumorais isoladas ou agrupadas em ninhos de até 4 células tumorais na frente invasiva do tumor, que têm a capacidade de se destacar do epitélio neoplásico e migrar para um estroma distante, conferindo agressividade ao tumor. Esses foram categorizados segundo os critérios propostos por Wang et al (2011):

- Alta intensidade de Brotamento tumoral: Presença de 5 ou mais brotamentos em um campo de 200x, na frente invasiva.
- Baixa intensidade de Brotamento Tumoral ou ausência: presença de menos de 5 brotamentos ou ausência de brotamentos em um campo de 200x, na frente invasiva.

As amostras foram inicialmente avaliadas usando a lente objetiva de menor aumento (4x) para selecionar as áreas com maior intensidade de brotamentos tumorais. Posteriormente, foi utilizada a lente objetiva de 20x, o número de brotamentos tumorais foi medido em um único campo de aumento selecionado de 200x.

- Pleomorfismo nuclear (PN)

Para avaliação dessa característica, em percentual, foram utilizados os critérios de Bryne et al., (1992):

- Grau 1: Representa células com pouco pleomorfismo nuclear em uma população de células relativamente homogênea. Mais de 75% das células parecem maduras;
- Grau 2: Exibe pleomorfismo nuclear moderado. Entre 50 e 75% da população de células tumorais consiste em células maduras;
- Grau 3: Corresponde a uma população de celular com pleomorfismo nuclear abundante. Entre 25 e 50%, da população de células tumorais consiste em células maduras;
- Grau 4: está presente um pleomorfismo nuclear extremo e 0-25% das células estão maduras.

Para avaliação do pleomorfismo nuclear incluiu-se variações no número, tamanho e forma dos núcleos das células tumorais, aumento da relação núcleo-citoplasma e a presença de núcleos hiper cromáticos e múltiplos nas áreas do tumor em aumento de 100x (objetiva 10x).

O pleomorfismo foi avaliado ainda quanto a caracterização celular, utilizando os parâmetros do Sistema de Classificação de Nottingham, estudado

inicialmente por Bloom & Richardson (1957), usado para avaliação em câncer de mama, relatados por van Dooijeweert et al.; (2022), o qual foi adaptado nesse estudo para avaliação de pleomorfismo dos casos de CEC convencionais de boca, definidos em três categorias:

- Escore 1: atribuído às células tumorais que são semelhantes em tamanho às células epiteliais normais, que mostram apenas pleomorfismo mínimo e cujos nucléolos e padrão de cromatina são no máximo imperceptíveis.
 - Escore 2: As células tumorais com núcleos 1,5 a 2 vezes maiores que as células epiteliais e com pleomorfismo moderado e nucléolos ainda inconspícuos recebem pontuação 2.
 - Escore 3: Em contraste, os núcleos de pontuação 3 são mais de 2 x maiores em tamanho, que variam consideravelmente em tamanho e que mostram cromatina vesicular e frequentemente nucléolos proeminentes
- Mitoses por campo (MC)

O índice mitótico foi examinado através da contagem do número de figuras de mitose em 10 campos de grande aumento (*high-power fields* – HPFs) consecutivos, na área mais mitoticamente ativa do tumor, e realizado a somatórias das figuras de mitoses encontradas. Apenas figuras de mitose inequívocas foram contabilizadas. Devido às variações no diâmetro do campo de grande aumento, para essa análise foram considerados os escores para 10 campos de 0.65 mm², utilizando a objetiva de 40x do microscópio óptico, baseado nos parâmetros do Sistema de Classificação de Nottingham, usado para câncer de mama, conforme descrito por van Dooijeweert et al.;em (2022), nesse estudo adaptado ao CEC convencional de boca, dividido em três categorias:

- Escore 1: ≤ 12 mitoses/10 HPF;
- Escore 2: 13-24 mitoses/10 HPF;
- Escore 3: ≥25 mitoses/10 HPF;

4.9.2 Relação tumor-estroma (RTE)

A RTE é definida como a proporção de tecido tumoral em relação ao tecido estromal circundante e é considerada uma característica prognóstica valiosa em

muitos tumores sólidos. Para sua avaliação foram utilizados os critérios propostos por Van Pelt et al., (2018):

- RTE alta: > 50% da área do estroma;
- RTE baixa: ≤ 50% da área do estroma.

A área com maior quantidade de estroma tumoral, das áreas mais invasivas do tumor foram selecionadas em baixa ampliação (objetiva 4x). Após a identificação do campo de avaliação, foi utilizado a objetiva de 10x para a avaliação da RTE, que deveria conter grupamentos de células tumorais em todas as bordas do campo, para definição do percentual de estroma.

4.9.3 Elementos estromais

- Perfil de maturação do estroma (ME)

O estroma foi observado e categorizado de acordo com seu perfil de maturação, seguindo as categorias propostas por Almangush et al.; (2021):

- Estroma maduro: Refere-se ao colágeno maduro fino que é estratificado em múltiplas camadas e não contém nenhum estroma mixóide ou colágeno tipo queloide.
- Estroma intermediário: Refere-se ao estroma que contém colágeno tipo queloide que é misturado com o estroma maduro. Não há alteração mixóide nesta categoria.
- Estroma imaturo: Refere-se ao estroma fibrótico que contém alteração mixóide conforme determinado em um campo microscópico de objetiva 40x.

- Perfil de linfócitos infiltrantes do estroma tumoral (TILs)

O estroma da lesão foi categorizado ainda com base na razão de estroma e TILs estromais, adaptado aos critérios descritos por Almangush et al.; (2021):

- Categoria estromal I: Baixa quantidade de estroma altamente infiltrado com TILs. Os tumores nesta categoria são considerados de baixo risco e não apresentam características estromais adversas.
- Categoria estromal II: Baixa quantidade de estroma com TILs baixos ou alta quantidade de estroma com TILs altos. A categoria II é considerada de risco intermediário e inclui tumores que apresentam

apenas uma característica estromal adversa. Assim, são incluídas combinações formadas por apenas uma das características estromais adversas (ou conteúdo estromal alto $\geq 50\%$ com TILs altos $> 20\%$ ou quantidade baixa de estroma $< 50\%$ com baixa infiltração de TILs $< 20\%$). A razão para tais agrupamentos é diferenciar a categoria II da categoria I. Também é importante diferenciar a categoria II da categoria III.

- Categoria estromal III: Tumores com grande quantidade de estroma com pouco ou nenhum TILs. Os tumores nesta categoria são considerados de alto risco e mostraram duas características estromais adversas (ou seja, alto conteúdo estromal $\geq 50\%$ e baixa infiltração de TILs $< 20\%$).

- Perfil celular do infiltrado inflamatório peritumoral (IIP)

O infiltrado inflamatório peritumoral de plasmócitos e linfócitos, foi categorizado de acordo com os critérios utilizados por Anneroth et al (1987) e Bryne et al (1992) para infiltrado linfoplasmocitário:

- Grau I: Marcado;
- Grau 2: Moderado;
- Grau 3: Discreto;
- Grau 4: Ausente.

4.9.4 Classificação de Bryne

A classificação segundo Bryne et al. (1992) considera a avaliação de quatro características morfológicas descritas anteriormente (grau de queratinização, pleomorfismo nuclear, padrão de invasão e infiltrado linfoplasmocitário), os escores médios totais da gradação histológica de malignidade foram obtidos pela somatória dos pontos (escores) atribuídos a cada parâmetro morfológico dividido pelo número de parâmetros utilizados (ou seja, por 4), de acordo com o estudo realizado por (Costa et al., 2005), os quais foram ser interpretados como:

- Baixos escores de malignidade: variação entre 1,0 a 2,5;
- Altos escores àqueles que variaram entre 2,6 a 4,0.

4.10 Análise dos dados

Os dados foram tabulados em um banco de dados no software Excel

Microsoft® para Microsoft 365 MSO (Versão 2402 Build 16.0.17328.20124) 64 bits. Foi realizada inicialmente a análise descritiva das variáveis utilizadas no estudo, tais como frequência absoluta e percentual de frequência para as variáveis qualitativas.

Quando a variável era quantitativa foi utilizado como estatística descritiva a média ou mediana e as medidas de dispersão desvio padrão ou intervalo interquartílico composto pelo primeiro quartil (Q1) e terceiro quartil (Q3). As tabelas cruzadas foram descritas por meio de frequência e percentual. As estatísticas das análises inferenciais, foram oriundas do teste Exato de Fisher e apresentadas como tabelas cruzadas. O software estatístico utilizado foi o R na versão 4.3.1, no ambiente de desenvolvimento (IDE) Rstudio versão 2023.06.1 Build 524 com pacotes diversos (tidyverse, gtsummary e etc). O nível de significância utilizado foi de 0.05.

5. RESULTADOS

5.1 Seleção da amostra e caracterização da população

Ao longo dos 10 anos foram obtidos um total de 428 casos diagnosticados como CEC primário de boca, nos três laboratórios, dos quais 121 realizaram o tratamento cirúrgico, porém apenas 30 obedeceram os critérios de elegibilidades.

Na coleta de dados dos casos do FCECON, a partir das informações do SAME e RHC, foram encontrados 298 registros de casos de CEC primário de boca, após acesso à lista, foi identificado que 102 pacientes realizaram procedimento cirúrgico como tratamento primário, sendo solicitado ao SAME a liberação dos prontuários desses pacientes. Os prontuários estiveram na forma física ou digital, este último acessado pelo sistema interno eletrônico *iDoctor*. Os casos que constavam de peças cirúrgicas enviadas para laboratórios externos ao do hospital FCECON e com materiais histológicos insatisfatórios ou ausentes no laboratório, no momento da pesquisa, foram excluídos pela impossibilidade de o setor de arquivo do hospital FCECON recrutá-los para a coleta pelos pesquisadores, o que totalizou 11 casos elegíveis para a pesquisa. O método para essa busca foi realizada em ordem decrescente, iniciando dos prontuários mais recentes, aqueles datados de dezembro de 2021 até os mais antigos, datados de janeiro de 2012.

Para a coleta de dados dos casos de CEC, no DPML/UFAM, foi realizada uma busca ativa em pastas disponíveis no arquivo do laboratório. Foram analisados 30.959 laudos, os quais corresponderam a todo material recebido pelo DPML durante o período da pesquisa (entre 2021 e 2012). Por meio dessa busca, foram obtidos um quantitativo de 7 laudos de peças cirúrgicas de CEC, incluídos no estudo.

No CPDA, foram selecionados previamente 64 laudos a partir de uma busca eletrônica efetuada com os responsáveis pelo laboratório e uma busca ativa nos livros de registro, onde 12 laudos de peça cirúrgica de CEC foram selecionados atendendo aos critérios de inclusão e exclusão. Após a coleta, os laudos dos laboratórios (DPML e CPDA) com os prontuários do FCECON foram agrupados, resultando em 11 casos do FCECON, 7 casos do DPML e 12 casos do CPDA, com o total de 30 amostras (Figura 1).

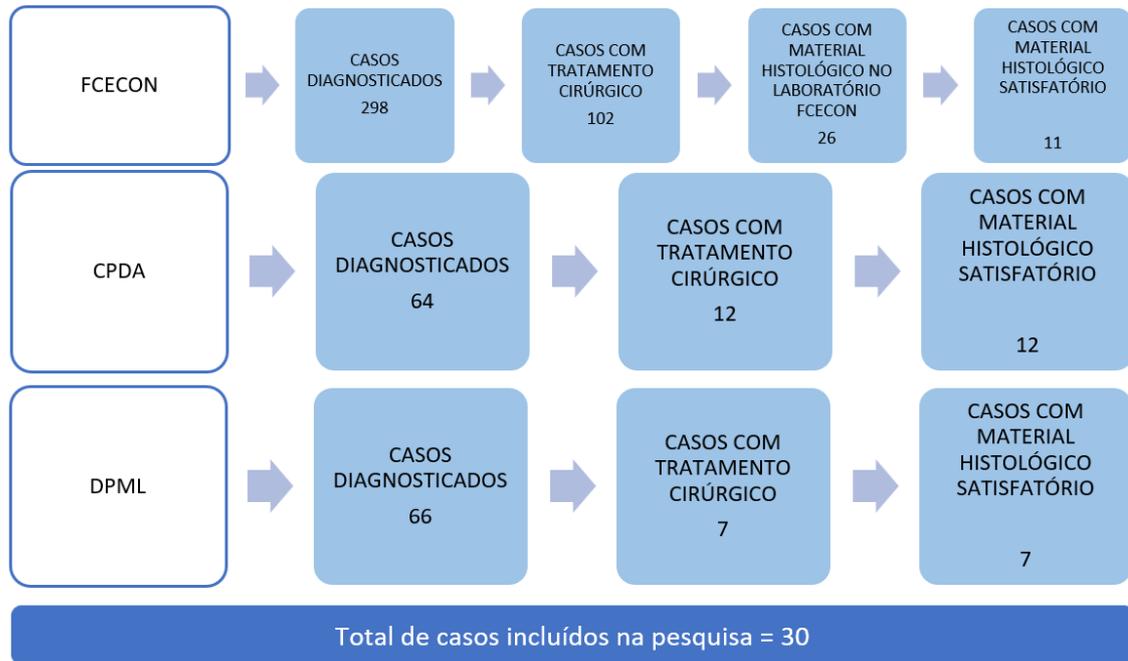


Figura 1. Fluxograma para a coleta dos casos nos três Laboratórios de patologia entre os anos 2012-2021

Foram obtidos dados de **30 prontuários/requisições** de exames histopatológicos **de peças cirúrgicas** de pacientes com CEC entre os anos de 2012 e 2021 nos três laboratórios de patologia, sendo 40% dos casos coletados no CPDA, 36,67% FCECON, e 23,33% no DPML/ UFAM. Nesse estudo não foi incluído nenhum caso diagnosticado no de 2013 (Tabela 1) e nem biópsias incisionais.

Tabela 1. Casos por ano nos três locais da pesquisa (n=30)

Ano/Local	FCECON	DPML/UFAM	CPDA	Total
2021	4	0	3	7
2020	0	0	3	3
2019	2	0	2	4
2018	1	0	0	1
2017	2	2	0	4
2016	1	2	0	3
2015	0	0	2	2
2014	0	2	1	3
2013	0	0	0	0
2012	1	1	1	3
Total (%)	11(36.67)	7(23.3)	12(40%)	30(100%)

A população do estudo constituiu-se de 73% de pacientes do sexo masculino e 27% do sexo feminino. A idade variou entre 27 e 83 anos, a média de idade foi de 59 anos, para esses pacientes a faixa etária apresentou predominância de pacientes maiores de 60 anos (47%). A maioria dos pacientes com diagnóstico de CEC e com

dados disponíveis sobre a escolaridade informaram ter ensino fundamental incompleto (30%). Em relação a naturalidade 43,3 % dos pacientes eram provenientes do interior do Amazonas. Existem inúmeras ausências de preenchimento destas nos documentos em arquivo, o que implica na dificuldade de caracterização, mas as características gerais detalhadas estão apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2. Características gerais dos pacientes com diagnóstico de CEC (n= 30)

Variável	N = 30¹
Sexo	
Masculino	22 / 30 (73%)
Feminino	8 / 30 (27%)
Idade	
Média (Desvio padrão)	59 (14)
Mediana	59,5
Intervalo dos dados	27; 83
Faixa etária	
20 até 40 anos	3 / 30 (10%)
>40 até 50 anos	6 / 30 (20%)
>50 até 60 anos	7 / 30 (23%)
>60 anos	14 / 30 (47%)
Estado Civil	
Solteiro (a)	7 / 30 (23%)
Casado (a)	6 / 30 (20%)
União Estável	5 / 30 (17%)
Divorciado (a)	3 / 30 (10%)
Viúvo (a)	1 / 30 (3%)
Não informado	8 / 30 (27%)
Escolaridade	
Ensino fundamental completo	2 / 30 (6.7%)
Ensino fundamental incompleto	9 / 30 (30%)
Ensino médio completo	6 / 30 (20%)
Ensino superior completo	1 / 30 (3.3%)
Ensino superior incompleto	1 / 30 (3.3%)
Nunca estudou	1 / 30 (3.3%)
Não informado	10 / 30 (33.3%)
Ocupação	
Trabalha	15 / 30 (50%)
Desempregado	2 / 30 (6.7%)
Aposentado	5 / 30 (16.7%)
Não informado	8 / 30 (26.7%)
Cor da pele	
Pardo (a)	19 / 30 (63.3%)
Preto (a)	1 / 30 (3.3%)
Branco (a)	1 / 30 (3.3%)
Não informado	9 / 30 (30%)
Naturalidade	
Capital	4 / 30 (13.3%)
Interior do Amazonas	13 / 30 (43.3%)
Capital de outros Estados	2 / 30 (6.7%)
Interior de outros Estados	4 / 30 (13.3%)
Não informado	7 / 30 (23.3%)
Tabagista	

Sim	17 / 30 (57%)
Não	4 / 30 (13%)
Não informado	9 / 30 (30%)
Etilista	
Sim	12 / 30 (40%)
Não	6 / 30 (20%)
Não informado	12 / 30 (40%)
Localização da lesão	
Língua	21 / 30 (70%)
Assoalho bucal	6 / 30 (20%)
Palato	1 / 30 (3.3%)
Gengiva	1 / 30 (3.3%)
Rebordo alveolar	1 / 30 (3.3%)
Procedimento cirúrgico	
Glossectomia parcial	17 / 30 (57%)
Pelveglossectomia	4 / 30 (13%)
Pelveglossomandibulectomia	7 / 30 (23%)
Maxilectomia parcial	2 / 30 (7%)

¹ n/N (%)

Quanto ao tabagismo, 57% do pacientes eram tabagistas, enquanto 13% eram não tabagistas e para 30% dos casos a informação não estava disponível. As informações sobre etilismo estavam disponíveis apenas em 18 casos, dos quais 12 deles (40%) eram etilistas e 13% não etilistas, sendo 40% com ausência de informações (Tabela 2). A localização da lesão seguiu a seguinte distribuição 70% em língua, 20% em assoalho bucal, 3,3% em palato, 3,3% em gengiva e 3,3% em rebordo alveolar. Quanto ao tratamento de escolha para esses casos, o procedimento cirúrgico realizado foi glossectomia parcial (57%), pelveglossectomia (13%), pelveglossomandibulectomia (23%) e maxilectomia parcial (7%) (Tabela 2).

O tempo de vida coletado (contando em meses desde a data do diagnóstico até o último acompanhamento) variou de 2 meses a 95 meses, em 8 casos (26,7%) esses dados estavam ausentes. A média de tempo que o paciente continuou vivo após o diagnóstico foi de 24 meses e mediana de 13 meses. Foi indicando, ainda, se o paciente continuava vivo (20%), se havia registro de óbito (10%), perda de acompanhamento (43.3%), por falta de registro, ou se está informação não estava disponível (26.7%) (Tabela 3). Pelo alto número de informações não disponíveis ou perda de acompanhamento, por falta de registro dos dados no prontuário, não foi possível realizar outras análises com o tempo de vida para esses casos, pois esses dados se traduziriam em alto número de censuras estatísticas (43,3%), inviabilizando dados de sobrevida confiáveis, o aceitável seria apenas 10% de censuras.

Tabela 3. Informações de tempo de vida após o diagnóstico (n = 30)

Variável	N = 30 ¹
Tempo de vida (meses)	
Valores ausentes	8 / 30 (26.7%)
Média (Desvio padrão)	24 (25.7)
Mediana	13
Intervalo dos dados	2; 95
Status do paciente	
Vivo	6 / 30 (20%)
Óbito	3 / 30 (10%)
Perda de acompanhamento (falta de registro)	13 / 30 (43.3%)
Informação não disponível	8 / 30 (26.7%)

¹ n / N (%)

5.2 Achados histopatológicos

Foi verificado que 60% dos casos foram classificados como CEC Bem diferenciado, 30% como CEC Moderadamente diferenciado, 3,3% como CEC Pouco diferenciado e 6,7% como a variante Cuniculatum do CEC (Tabela 4).

Tabela 4. Casos de CEC primário de boca segundo a Classificação da OMS (n=30)

Classificação histopatológica (OMS)	Frequência absoluta	%
CEC Bem diferenciado	18	60
CEC Moderadamente diferenciado	9	30
CEC Pouco diferenciado	1	3,3
CEC variante Cuniculatum	2	6,7

A avaliação histopatológica aprofundada foi realizada **somente para os casos convencionais do CEC primário de boca**, totalizando 28 casos para coleta dos dados histopatológicos (APÊNDICE D). A média da área de tecido presente nas lâminas histológicas, das peças cirúrgicas avaliadas, foi de 313 mm², que comportavam campos representativos da neoplasia, incluindo os elementos tumorais, estromais e inter-relação entre eles, independentemente do tamanho geral da amostra. Os dados coletados inicialmente foram os itens que compõem a padronização do CAP para estadiamento do CEC de boca, que estavam disponíveis no laudo anatomopatológico e confirmados nas lâminas analisadas. A presença de invasão linfática e / ou vascular foi observada em 64% dos casos, enquanto que invasão perineural foi vista em 36% dos casos e não identificada em 39% dos casos avaliados. Para a profundidade de invasão, foi realizado um agrupamento dos dados

e feito uma divisão, na qual foi observado que em 57% o DOI era >10 mm e em 43% dos casos o DOI foi <10mm. Em 72% dos casos, as margens apresentavam-se livres de comprometimento neoplásico. Linfonodos positivos para o tumor foram encontrados em 50% dos casos (Tabela 5).

Tabela 5. Área de tecido avaliada e itens da padronização do CAP para CEC de boca convencional (n=28)

Variável	N = 28[†]
Área de tecido presente na lâmina histológica em mm²	
Média (desvio padrão)	313 (119)
Intervalo dos dados	40; 532
Invasão linfática e / ou vascular	
Presente	18 / 28 (64%)
Não identificada	9 / 28 (32%)
Não pode ser determinada	1 / 28 (4%)
Invasão Perineural	
Presente	10 / 28 (36%)
Não identificada	11 / 28 (39%)
Não pode ser determinada	7 / 28 (25%)
Profundidade de invasão - DOI	
<10 mm	12 / 28 (43%)
>10 mm	16 / 28 (57%)
Status da margem do tumor	
Margens livres	20 / 28 (72%)
Limites cirúrgicos comprometidos	6 / 28 (21%)
Não pode ser determinada	2 / 28 (7%)
Status de linfonodos regionais	
Positivo para tumor	14 / 28 (50%)
Negativo para tumor	9 / 28 (32%)
Não pode ser determinado	5 / 28 (18%)

[†] n / N (%)

As informações histopatológicas de estadiamento patológico, das peças cirúrgicas, foram extraídas do laudo anatomopatológico e confirmado na leitura das lâminas histológicas, as informações de estadiamento encontram-se na Tabela 6.

Tabela 6. Estadiamento patológico dos casos de CEC Convencional (n = 28)

Estadiamento patológico	N = 28[†]
pT1N0	2 / 28 (7.1%)
pT1pN1	4 / 28 (14%)
pT1pNx	1 / 28 (3.6%)
pT2pN0	3 / 28 (11%)
pT2pN2b	2 / 28 (7.1%)
pT2pNx	4 / 28 (14%)
pT3pN0	1 / 28 (3.6%)

pT3pN1	2 / 28 (7.1%)
pT3pN2b	2 / 28 (7.1%)
pT3pN2c	2 / 28 (7.1%)
pT4apN0	2 / 28 (7.1%)
pT4apN2b	1 / 28 (3.6%)
pT4bpN1	1 / 28 (3.6%)
pT4pN0	1 / 28 (3.6%)
<hr/>	
¹ n / N (%)	

Para os elementos morfológicos tumorais os dados estão detalhados na Tabela 7, que mostra que 35,7% dos casos foram categorizados com o Grau 2. Para a presença e grau de queratinização. A maioria dos casos foram categorizados nos Grau 3 (46,4%) e Grau 4 (35,7%), quanto ao padrão de invasão (Figura 2).

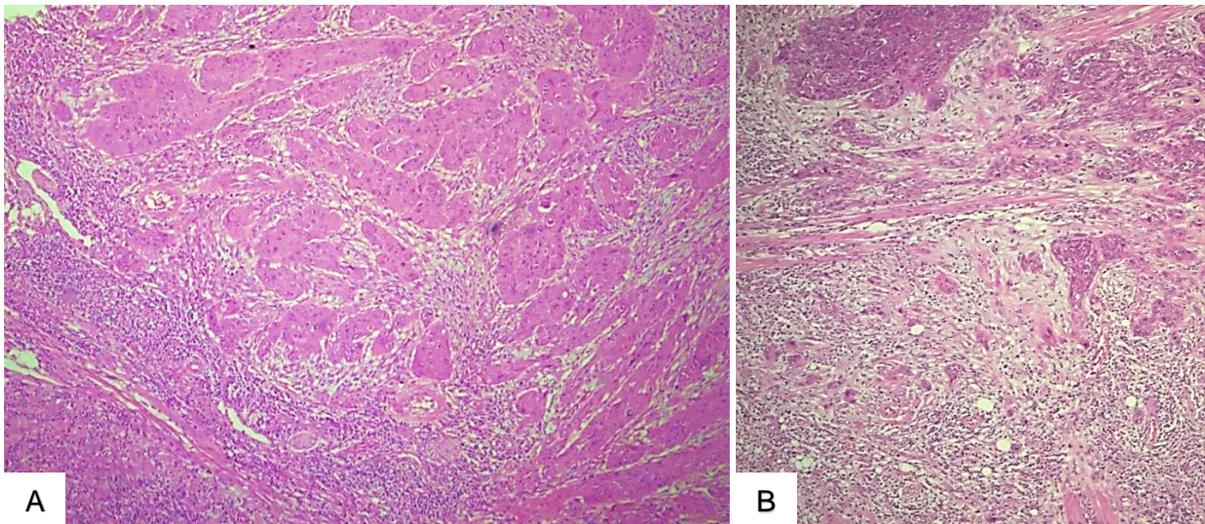


Figura 2. A- Padrão de invasão definido como Grau 3, em que são encontrados pequenos grupos de células ou cordões infiltrantes finos, não < 15 células (H&E 100X); B – Padrão de invasão definido com Grau 4, representado pela invasão celular difusa e disseminada em células neoplásicas únicas ou em pequenos grupos de células, não > 15 células (H&E 100X).

Houve uma distribuição aproximada para as disposições de arranjo celulares predominante descritas como ilhas (35,8%), cordões (32,1%) e ninhos (25%), um menor percentual para a disposição celular em lençóis (7,1%) e a predominância de células isoladas não foi encontrada em nenhum dos casos (Figura 3).

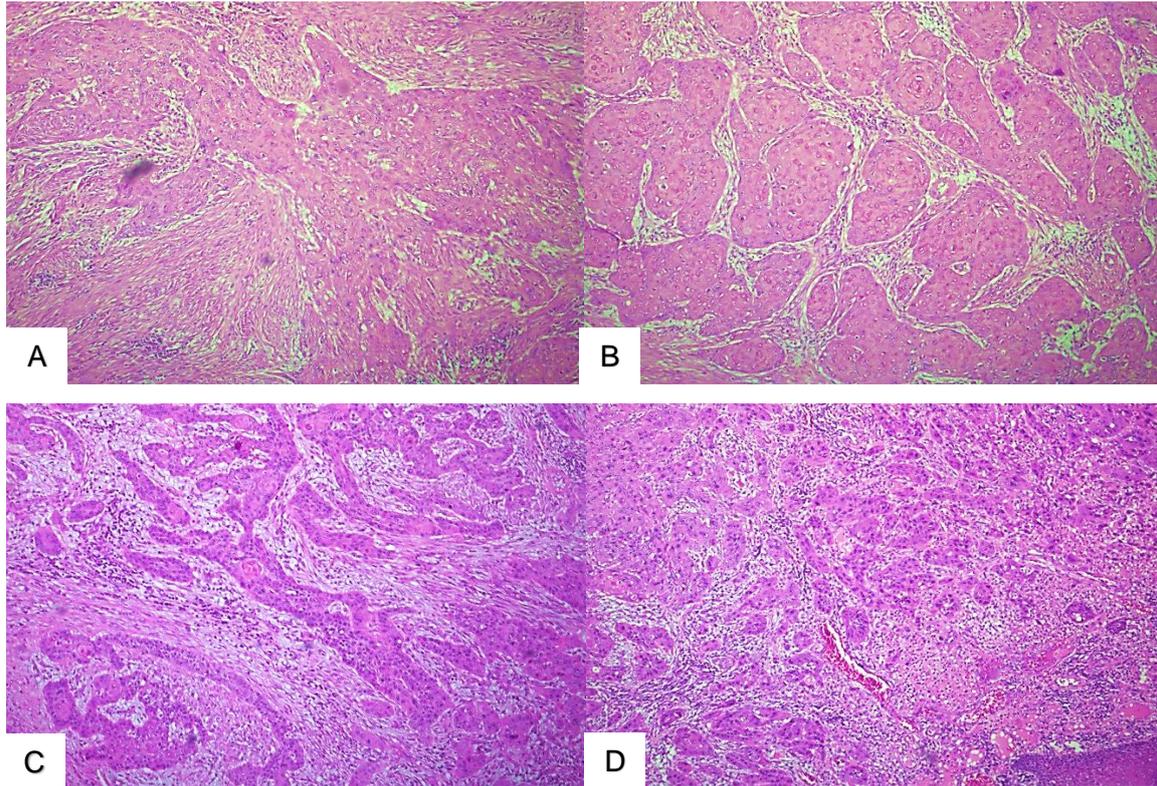


Figura 3. Disposição do arranjo celular predominante. A- Células tumorais dispostas em padrão de Lençóis (H&E – 40x); B- Células tumorais dispostas em padrão de ilhas (H&E – 40x); C- Células tumorais dispostas em padrão de cordões (H&E – 40x); D- Células tumorais dispostas em padrão de ninhos (H&E – 40x).

Em relação aos brotamentos tumorais, 71% apresentou-se com baixa intensidade ou ausência dos brotamentos e 29% com alta intensidade de brotamentos tumorais na área de invasão do tumor (Figura 4).

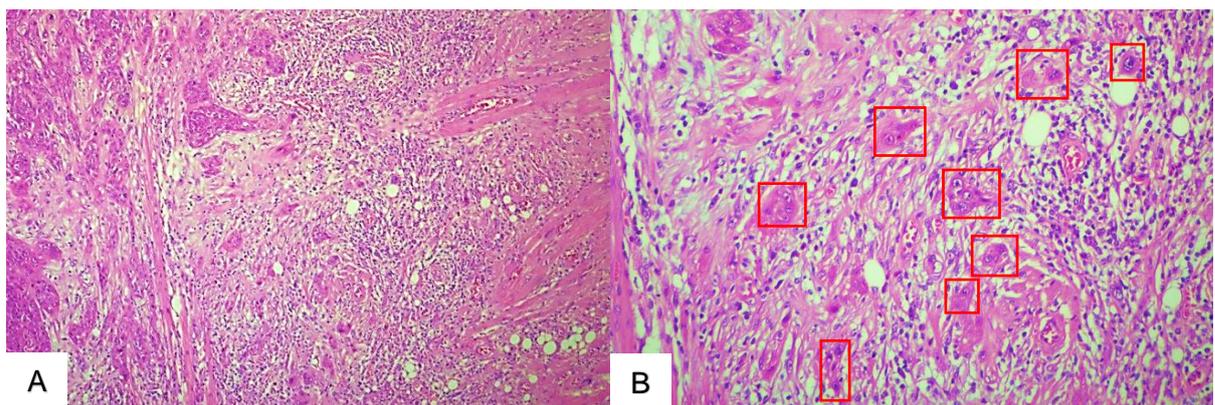


Figura 4. A- Imagem da seleção de campo para avaliação da intensidade de brotamentos tumorais (H&E- 40X); B- Alta intensidade de brotamentos tumorais (5 ou mais brotamentos – destaque em vermelho) (H&E - 200X);

Tabela 7. Avaliação histopatológica dos elementos tumorais dos casos de CEC Convencional (n = 28)

Elementos tumorais	N = 28 ¹
1. Presença e grau de queratinização (Anneroth et al. 1987; Bryne et al. 1992)	
Grau 1: Altamente queratinizada (>50%)	8 / 28 (28.6%)
Grau 2: Moderadamente queratinizada (20%-50%)	10 / 28 (35.7%)
Grau 3: Queratinização mínima (5%-20%)	8 / 28 (28.6%)
Grau 4: Sem queratinização (0%-5%)	2 / 28 (7.1%)
2. Padrão de invasão (Anneroth et al. 1987; Bryne et al. 1992)	
Grau 1: Bordas bem delineadas, empurrando a frente a área de infiltração	1 / 28 (3.6%)
Grau 2: Cordões, bandas e/ ou cordões sólidos infiltrantes	4 / 28 (14.3%)
Grau 3: Pequenos grupos de células ou cordões infiltrantes finos, não < 15 células	13 / 28 (46.4%)
Grau 4: Invasão celular difusa e disseminada em células neoplásicas únicas ou em pequenos grupos de células, não > 15 células	10 / 28 (35.7%)
3. Disposição do arranjo celular predominante (Libório et al. 2011)	
Lençóis	2 / 28 (7.1%)
Ilhas	10 / 28 (35.8%)
Cordões	9 / 28 (32.1%)
Ninhos	7 / 28 (25%)
4. Brotamentos tumorais (Wang et al. 2011)	
Baixa intensidade de brotamento tumoral (menos de 5 buds ou ausência)	20 / 28 (71%)
Alta intensidade de brotamento tumoral (5 ou mais buds)	8 / 28 (29%)
5. Pleomorfismo nuclear	
<i>Semi-quantitativo em percentual (Anneroth et al. 1987; Bryne et al. 1992)</i>	
Grau 1: Presente em menos de 25% das células	0 / 28 (0%)
Grau 2: presente em 25%-50% das células	1 / 28 (3.6%)
Grau 3: Presente 50% -75% das células	17 / 28 (60.7%)
Grau 4: Presente em mais de 75% das células	10 / 28 (35.7%)
<i>Caracterização baseado no Grau de Nottingham (van Dooijeweert et al. 2022)</i>	
Escore 1	10 / 28 (35.7%)
Escore 2	15 / 28 (53.6%)
Escore 3	3 / 28 (10.7%)
6. Quantidade de mitoses / 10 campos (Aumento 400x e diâmetro 0.65mm) - Grau de Nottingham (van Dooijeweert et al. 2022)	
Escore 1: ≤12 mitoses/10 HPF;	11 / 28 (39.3%)
Escore 2: 13-24 mitoses/10 HPF;	10 / 28 (35.7%)
Escore 3: ≥ 25 mitoses/10 HPF;	7 / 28 (25%)

¹ n / N (%)

O pleomorfismo nuclear foi avaliado em duas categorias, quanto ao percentual, seguindo os critérios de Anneroth et al. 1987 e Bryne et al. 1992, para o qual nenhum caso foi categorizado como Grau 1, em contrapartida a maioria se concentrou nos Grau 3 (60,7%) e Grau 4 (35,7%). Quanto a caracterização celular, seguindo os parâmetros do Grau de Nottingham (Figura 5), 53,6% dos casos foram categorizados com o escore 2, 35,7% com o escore 1 e 10,7% com o escore 3. Em relação a

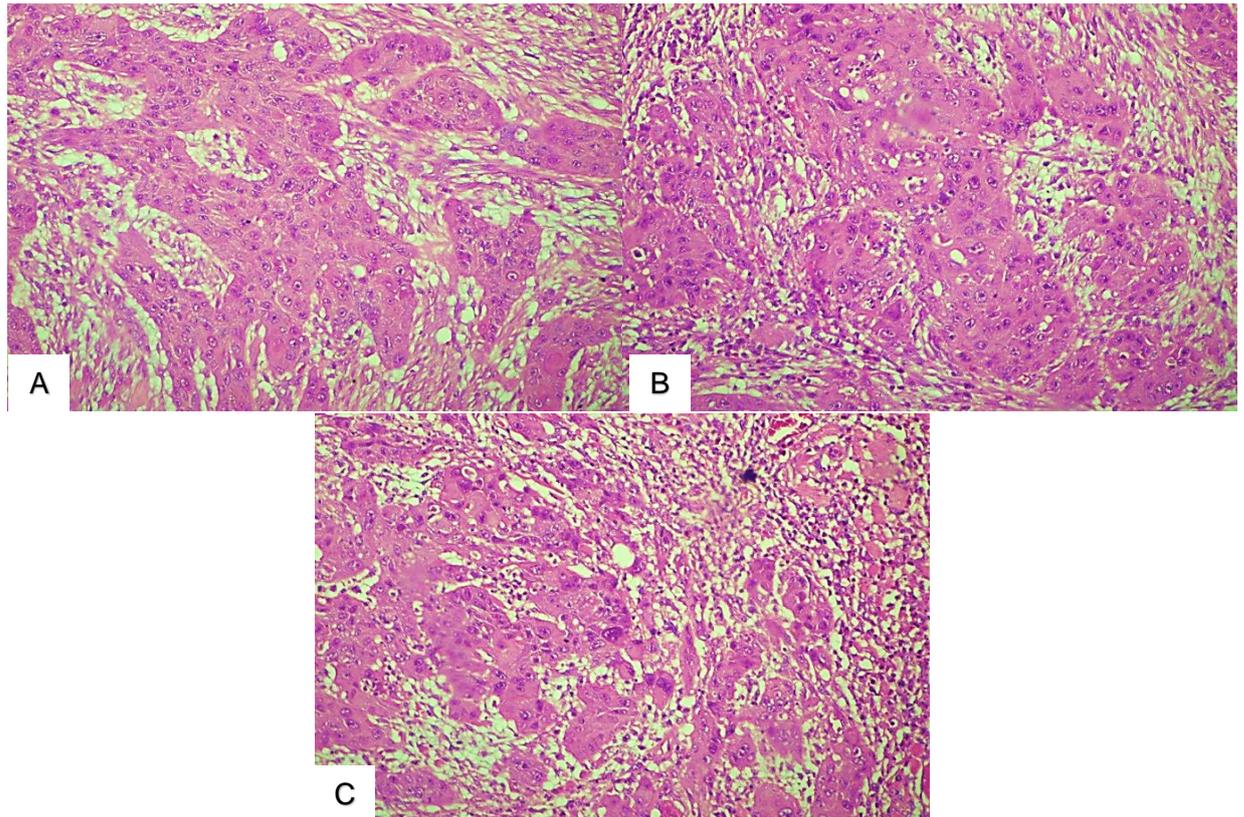


Figura 5. Pleomorfismo baseado no Grau de Nottingham. A- Escore 1, as células apresentam pleomorfismo mínimo e, cujos nucléolos e padrão de cromatina são no máximo imperceptíveis (H&E - 200X). B- Escore, as células tumorais com núcleos 1,5 a 2 vezes maiores que as células epiteliais normais (H&E - 200X). C- Escore 3, os núcleos são mais de 2x maiores em tamanho, que variam consideravelmente em tamanho e que mostram cromatina vesicular e frequentemente nucléolos proeminentes (H&E - 200X).

quantidade de mitoses (Figura 6), 39,3% foram categorizadas com o escore 1, 35,7% com o escore 2 e 25% com o escore 3 (Tabela 7).

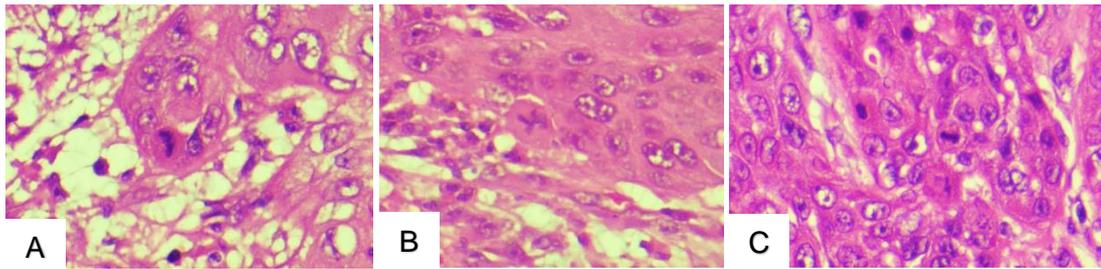


Figura 6. A, B e C- Exemplos de figuras de mitoses (H&E 400X)

O GQ, mostrou associação significativa com a atual Classificação da OMS (p valor = 0.013). Inferências estatísticas significativas onde os casos que apresentaram Grau 1 e 2, classificados com o maior percentual de queratina, também se apresentaram como CEC bem ou moderadamente diferenciado (Tabela 8).

Tabela 8. Estatística entre GQ e Classificação da OMS para CEC Convencional (n = 28)

Presença e grau de queratinização (Anneroth et al. 1987; Bryne et al. 1992)	Classificação histopatológica do CEC Baseada na OMS 2022.			p-valor ²
	Bem diferenciado, N = 17 ¹	Moderadamente diferenciado, N = 10 ¹	Pouco diferenciado, N = 1 ¹	
				0.013
Grau 1: Altamente queratinizada (>50%)	8 / 17 (47%)	0 / 10 (0%)	0 / 1 (0%)	
Grau 2: Moderadamente queratinizada (20%-50%)	6 / 17 (35%)	3 / 10 (30%)	1 / 1 (100%)	
Grau 3: Queratinização mínima (5%-20%)	3 / 17 (18%)	5 / 10 (50%)	0 / 1 (0%)	
Grau 4: Sem queratinização (0%-5%)	0 / 17 (0%)	2 / 10 (20%)	0 / 1 (0%)	

¹ n / N (%)

² Teste Exato de Fisher

O PI associado a DAC mostrou estatística significativa (p valor = 0.003), resultado que permite a inferência estatística de que quando os casos apresentam os padrões de invasão dispostos em menores grupamentos há também predominância desses arranjos na área tumoral (Tabela 9). Da mesma forma, o PI quando associado BT apresentou significância estatística (p valor <0.001), quando observado os casos de alta intensidade de BT, o PI foi definido também como Grau 3 ou Grau 4, que comportam as disposições celulares da invasão em menores grupamentos e quando baixa intensidade de BT a definição para o PI foi de Grau 1 ou Grau 2 (Tabela 9).

Tabela 9. Estatística das associações de Padrão de invasão e 2 elementos tumorais (n = 28)

Elementos tumorais	Padrão de invasão (Anneroth et al. 1987; Bryne et al. 1992)				p-valor ²
	Grau 1, N = 1 ¹	Grau 2, N = 4 ¹	Grau 3, N = 13 ¹	Grau 4, N = 10 ¹	
Disposição do arranjo celular predominante (Libório et al. 2011)					0.003
Cordões	0 / 1 (0%)	0 / 4 (0%)	7 / 13 (54%)	2 / 10 (20%)	
Ilhas	0 / 1 (0%)	4 / 4 (100%)	4 / 13 (31%)	2 / 10 (20%)	
Lençóis	1 / 1 (100%)	0 / 4 (0%)	1 / 13 (7.7%)	0 / 10 (0%)	
Ninhos	0 / 1 (0%)	0 / 4 (0%)	1 / 13 (7.7%)	6 / 10 (60%)	
Brotamentos tumorais (Wang et al. 2011)					<0.001
Alta intensidade de brotamento tumoral	0 / 1 (0%)	1 / 4 (25%)	0 / 13 (0%)	7 / 10 (70%)	
Baixa intensidade de brotamento tumoral	1 / 1 (100%)	3 / 4 (75%)	13 / 13 (100%)	3 / 10 (30%)	

¹ n / N (%)² Teste Exato de Fisher

Houve também associação estatisticamente significativa entre os elementos BT e DAC (p valor = 0.008) (Tabela 10).

Tabela 10. Estatística das associações de brotamentos tumorais e DAC (n = 28)

Brotamentos tumorais (Wang et al. 2011)	Disposição do arranjo celular predominante (Libório et al. 2011)				p-valor ²
	Cordões, N = 9 ¹	Ilhas, N = 10 ¹	Lençóis, N = 2 ¹	Ninhos, N = 7 ¹	
Alta intensidade de brotamento tumoral	0 / 9 (0%)	3 / 10 (30%)	0 / 2 (0%)	5 / 7 (71%)	0.008
Baixa intensidade de brotamento tumoral	9 / 9 (100%)	7 / 10 (70%)	2 / 2 (100%)	2 / 7 (29%)	

¹ n / N (%); ² Teste Exato de Fisher

Outra associação estatisticamente significativa encontrada foi entre PN, segundo Anneroth et al. 1987; Bryne et al. 1992, e BT (Tabela 11). Embora a estatística seja significativa esses dados precisam ser melhor esclarecido, pois há possibilidade de que esse resultado seja influenciado pelo desequilíbrio da casuística entre os grupo, o que pode impactar em sua estatística.

Tabela 11. Estatística de associação entre PN e BT (n = 28)

Características	Brotamentos tumorais (Wang et al. 2011)		p-valor ²
	Alta intensidade de brotamento tumoral, N = 8 ¹	Baixa intensidade de brotamento tumoral (, N = 20 ¹	
Pleomorfismo nuclear (Anneroth et al. 1987: Bryne et al. 1992)			0.036
Grau 2: presente em 25%-50% das células	1 / 8 (13%)	0 / 20 (0%)	
Grau 3: Presente 50% -75% das células	2 / 8 (25%)	15 / 20 (75%)	
Grau 4: Presente em mais de 75% das células	5 / 8 (63%)	5 / 20 (25%)	

¹ n / N (%); ² Teste Exato de Fisher

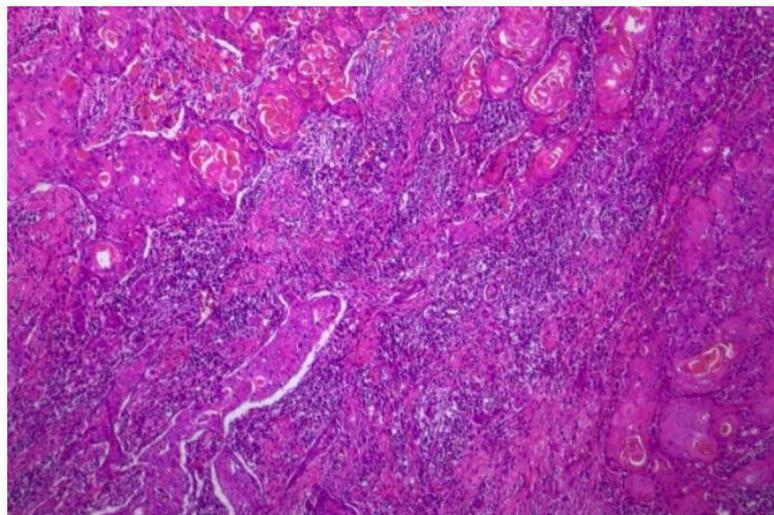
A avaliação da RTE mostrou que 68% dos casos apresentou-se com RTE baixa e 32% com RTE alta (Tabela 12).

Tabela 12. Avaliação histopatológica da RTE dos casos de CEC Convencional (n = 28)

Relação Tumor estroma (Van Pelt et al. 2018)	N = 28 ¹
RTE alta: > 50% da área do estroma	9 / 28 (32%)
RTE baixa: ≤ 50% da área do estroma	19 / 28 (68%)

¹ n / N (%)

Os resultados das avaliações dos elementos estromais encontram-se detalhados na Tabela 13. Para o perfil de maturação estroma mostra que 46% dos casos apresentavam estroma imaturo, quanto ao perfil de TILs 46% foram categorizados na Categoria estromal I (Figura 7).

**Figura 7.** TILs categoria que mostra conteúdo estromal < 50% e TILs > 20% (H&E – 100x)

Para o perfil do infiltrado inflamatório peritumoral 50% dos casos foram descritos com o Grau 2, definido como moderado (Figura 8).

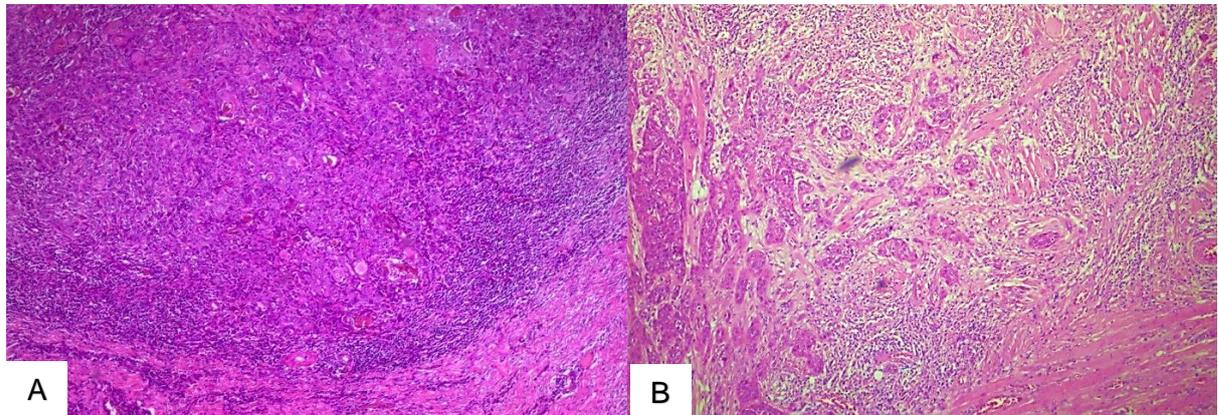


Figura 8. A- Infiltrado peritumoral intenso (H&E - 40x). B- Infiltrado inflamatório peritumoral moderado (H&E - 40x)

Tabela 13. Avaliação histopatológica dos elementos estromais dos casos de CEC Convencional (n = 28)

Categorizar três elementos estromais do CEC convencional	N = 28¹
1. Perfil de maturação do estroma (Almangush et al. 2021)	
Estroma imaturo	13 / 28 (46%)
Estroma intermediário	7 / 28 (25%)
Estroma maduro	8 / 28 (29%)
2. Perfil de TILs (Almangush et al. 2021)	
Categoria estromal I: conteúdo estromal < 50% e TILs > 20%	13 / 28 (46%)
Categoria estromal II: conteúdo estromal ≥ 50% com TILs altos > 20% ou conteúdo estromal < 50% com TILs < 20%	11 / 28 (39%)
Categoria estromal III: conteúdo estromal ≥ 50% e TILs < 20%	4 / 28 (14%)
3. Perfil do infiltrado inflamatório peritumoral (Anneroth et al. 1987; Bryne et al. 1992)	
Grau 1: Marcado	6 / 28 (21.4%)
Grau 2: Moderado	14 / 28 (50%)
Grau 3: Discreto	7 / 28 (25%)
Grau 4: Ausente	1 / 28 (3.6%)

¹ n / N (%)

O perfil de TILs e RTE apresentaram significância estatística no teste de associação (p valor = 0.008) (Tabela 14). Tendo em vista que para avaliação das categorias de TILs é considerado o percentual de estroma no campo avaliado, a inferência estatística pode ser estabelecida, já que para serem considerados como categoria I, na avaliação de TILs, o campo de avaliação deve ter um percentual inferior

a 50% de estroma e para Categoria III superior a 50% de área de estroma, que é o critério para a definição em alta ou baixa RTE.

Tabela 14. Estatística das associações de Perfil de TILs e RTE (n=28)

Perfil de TILs (Almangush et al. 2021)	Relação Tumor estroma (Van Pelt et al. 2018)		p-valor ²
	RTE alta: > 50% da área do estroma, N = 9 ¹	RTE baixa: ≤ 50% da área do estroma, N = 19 ¹	
			0.008
Categoria estromal I: conteúdo estromal < 50% e TILs > 20%	0 / 9 (0%)	11 / 19 (58%)	
Categoria estromal II: conteúdo estromal ≥ 50% com TILs altos > 20% ou conteúdo estromal < 50% com TILs < 20%	3 / 9 (33%)	8 / 19 (42%)	
Categoria estromal III: conteúdo estromal ≥ 50% e TILs < 20%	6 / 9 (67%)	0 / 19 (0%)	

¹ n / N (%)

² Teste Exato de Fisher

Os testes estatísticos também mostraram associação significativa entre TILs e perfil do infiltrado inflamatório peritumoral (p valor = 0.028), permitindo a inferência estatística ao ser observado que para os casos em que há infiltrado peritumoral, marcado ou moderado, a presença do TILs, que consiste na avaliação intratumoral, é definido como categoria I ou II (Tabela 15).

Tabela 15. Estatística das associações de Perfil de TILs e IIP (n=28)

Perfil de TILs (Almangush et al. 2021)	Perfil do infiltrado inflamatório peritumoral (Anneroth et al. 1987; Bryne et al. 1992)				p-valor ²
	Grau 1: Marcado, N = 6 ¹	Grau 2: Moderado, N = 14 ¹	Grau 3: Discreto, N = 7 ¹	Grau 4: Ausente, N = 1 ¹	
					0.028
Categoria estromal I: conteúdo estromal < 50% e TILs > 20%	4 / 6 (67%)	8 / 14 (57%)	1 / 7 (14%)	0 / 1 (0%)	
Categoria estromal II: conteúdo estromal ≥ 50% com TILs altos > 20% ou conteúdo estromal < 50% com TILs < 20%	2 / 6 (33%)	6 / 14 (43%)	3 / 7 (43%)	0 / 1 (0%)	
Categoria estromal III: conteúdo estromal ≥ 50% e TILs < 20%	0 / 6 (0%)	0 / 14 (0%)	3 / 7 (43%)	1 / 1 (100%)	

¹ n / N (%)

² Teste Exato de Fisher

O perfil do infiltrado inflamatório peritumoral e o DOI também apresentaram associação significativa (p valor = 0.014), inferência estatística que mostra os casos definidos no Grau I ou II, para o PIIP, os quais são considerados com infiltrado marcado e moderado, respectivamente, também são os casos que apresentam o DOI <10 mm (Tabela 16).

Tabela 16. Estatística das associações entre IIP e DOI (n = 28)

Perfil do infiltrado inflamatório peritumoral (Anneroth et al. 1987; Bryne et al. 1992)	Profundidade de Invasão (DOI - CAP)		p-valor ²
	<10 mm, N = 12 ¹	>10 mm, N = 16 ¹	
			0.014
Grau 1: Marcado	3 / 12 (25%)	3 / 16 (19%)	
Grau 2: Moderado	9 / 12 (75%)	5 / 16 (31%)	
Grau 3: Discreto	0 / 12 (0%)	7 / 16 (44%)	
Grau 4: Ausente	0 / 12 (0%)	1 / 16 (6.3%)	

¹ n / N (%)

² Teste Exato de Fisher

Os testes estatísticos mostraram ainda uma tendência de associação entre GQ e RTE (p valor = 0,056), que precisa melhor ser estabelecida e entre DAC e RTE (p valor = 0,058), inferência estatística que mostra indícios de associação, podendo haver possibilidade de influência do tamanho da amostra (Tabela 17). Com os resultados foi observado que os casos que apresentavam RTE alta, a DAC apresentava tendência a se concentrar nos menores grupamentos celulares, que permite a maior visualização de estroma tumoral, já os casos de baixa RTE apresentaram a tendência de associação aos casos que apresentavam a DAC em maiores grupamentos. Os resultados dos testes estáticos dessa pesquisa estão reunidos no APÊNDICE E.

Tabela 17. Estatísticas de associação de dois elementos tumorais com RTE (n=28)

Características	Relação Tumor estroma (Van Pelt et al. 2018)		p-valor ²
	RTE alta: > 50% da área do estroma, N = 9 ¹	RTE baixa: ≤ 50% da área do estroma, N = 19 ¹	
Presença e grau de queratinização (Anneroth et al. 1987; Bryne et al. 1992)			0.056
Grau 1: Altamente queratinizada (>50%)	2 / 9 (22%)	6 / 19 (32%)	
Grau 2: Moderadamente queratinizada (20%-50%)	1 / 9 (11%)	9 / 19 (47%)	

Grau 3: Queratinização mínima (5%-20%)	4 / 9 (44%)	4 / 19 (21%)	
Grau 4: Sem queratinização (0%-5%)	2 / 9 (22%)	0 / 19 (0%)	
Disposição do arranjo celular predominante (Libório et al. 2011)			0.058
Cordões	3 / 9 (33%)	6 / 19 (32%)	
Ilhas	1 / 9 (11%)	9 / 19 (47%)	
Lençóis	0 / 9 (0%)	2 / 19 (11%)	
Ninhos	5 / 9 (56%)	2 / 19 (11%)	

¹ n / N (%)

² Teste Exato de Fisher

Quanto a classificação de Bryne, 64% os casos foram categorizados com altos escores de malignidade e 36% com baixos escores de malignidade (Tabela 18).

Tabela 18. Classificação de Bryne para malignidade de acordo com Costa et al. 2005

Classificação de Bryne	N = 28¹
Baixos escores de malignidade: 1,0 a 2,5	10 / 28 (36%)
Altos escores de malignidade: 2,6 a 4,0	18 / 28 (64%)

¹ n / N (%)

6. DISCUSSÃO

Neste estudo foi realizada a caracterização do perfil clínico e epidemiológico de 30 dos casos de CEC de boca, diagnosticados num período de dez anos, e a caracterização de achados histológicos, referentes a **peça cirúrgica**, que foi realizada em 28 casos, os classificados como CEC convencional. A avaliação histopatológica envolveu a categorização de seis elementos tumorais, três elementos estromais, um elemento da relação tumor e estroma, além da classificação de Bryne adaptada aos escores médios de malignidade.

6.1 Dados sociodemográficos e clínicos

Os dados sociodemográficos e características clínicas e de histórico médico foram coletados para os 30 casos de CEC primário de boca, a partir de informações contidas no prontuário e requisições de exame histopatológico das peças cirúrgicas, que em sua maior parte corroboraram com a literatura. Nesse estudo, a maioria dos pacientes era do sexo masculino, com média de idade maior que 50 anos e predominância de pacientes com mais de 60 anos, como visto em estudos anteriores (EMERICK et al., 2020; LEITE et al., 2018; LOUREDO et al., 2022).

A maioria dos pacientes declarou ser da cor parda (63,3%), o que diferiu do estudo de Emerick et al., (2020) em que 71,25% dos pacientes declararam cor branca, assim como o estudo de Moro et al., (2018) esse fato pode estar relacionado a uma maior presença de pardos na região amazônica (60,5%), segundo a Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios (PNAD) do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) (IBGE, 2023). Em relação à escolaridade, a maioria dos pacientes incluídos nesse estudo possuía o ensino fundamental incompleto, conforme mostra um estudo de caso controle realizado em 2015, após análise multivariada, a menor escolaridade esteve associada ao CEC de boca OR: 2,42 (IC 95%: 1,18 – 4,91)(ANDRADE; SANTOS; OLIVEIRA, 2015). Isso reforça a influência da determinação social na saúde dessa população, uma vez que a baixa escolaridade está relacionada a menor procura dos serviços de saúde e constitui, juntamente com a baixa renda e cor da pele, fatores sociais relacionados ao câncer bucal não somente no Brasil como também no mundo (GBD, 2016; MARTINS et al., 2014).

A associação entre tabaco e o álcool com CEC estão estabelecidos na literatura (MELLO et al., 2019; NEVILLE et al., 2016; ZNAOR et al., 2003). Em relação aos tabagistas e etilistas desse estudo, os resultados foram semelhantes ao estudo de Leite et al., (2018), que avaliou 194 casos de CEC em Recife- PE, desses houve 28 casos de tabagistas, 1 de etilista, 29 casos expostos a ambos os fatores, porém em 70,1% (n=136) essa informação não esteve presente. Estudos com dados retrospectivos, com coleta a partir de dados de prontuários, as informações nem sempre estão completos, o que dificulta a caracterização e compromete a análise dos resultados. Desse modo, revela-se a necessidade da alimentação integral desses dados nos prontuários. Ademais, a literatura afirma que os fumantes acometidos com CEC se encontram com estadiamento mais avançado e características patológicas mais agressivas que os pacientes com CEC e sem histórico de tabagismo (AL FEGHALI et al., 2019).

Em relação à localização da lesão, a maioria dos casos foi descrito na língua, seguida do assoalho bucal. Os dados são congruentes com o que descreve a epidemiologia brasileira sobre a localização mais frequente do CEC (ANDRADE; SANTOS; OLIVEIRA, 2015; LEITE et al., 2018; LOUREDO et al., 2022). No entanto, havia uma escassez de informações no prontuário quanto a característica clínica da lesão, irritações crônicas e sintomas gerais, como dificuldade de movimentar a língua e perda de fonação. Com isso, a maioria dos casos foi tratado cirurgicamente pelo procedimento de glossectomia parcial, para os casos de lesão localizada em língua, seguido de pelveglossectomia parcial, para os casos de lesões localizadas no assoalho bucal.

6.2 Avaliação histopatológica

O detalhamento dos aspectos morfológicos do CEC de boca pode ser útil na explicação do comportamento biológico do tumor e trazer pistas de seu prognóstico, Neste sentido, o presente trabalho avaliou 28 casos referentes a CEC de boca convencional, e tem o diferencial de ser baseado exclusivamente em peças cirúrgicas, portanto com boa representatividade, além de análise de uma gama de elementos tumorais e estromais, já que grande parte dos estudos é baseada em biópsias incisionais e com foco em elementos histológicos isolados.

Posto isto, no presente estudo foi observado que o grau de queratinização, que segundo Anneroth et al.; (1987) é um dos parâmetros que indicam a diferenciação da população de células tumorais, mostrou associação significativa com o grau de diferenciação da Classificação da OMS para CEC de boca convencional, o que leva a inferir que há uma boa reprodutibilidade da avaliação para este item, avaliado em uma amostra pequena, visto que esse elemento é um importante fator para caracterização quanto a diferenciação do CEC e, também, um dos principais componentes para a definição da classificação histopatológica da OMS, que é a classificação mais comum e usada rotineiramente como base para o diagnóstico do CEC convencional. Nesse contexto, Woolgar et al. em (1995), para aumentar a reprodutibilidade desse parâmetro, modificaram a forma como o grau de queratinização era avaliado, onde os tumores com alta queratinização foram classificados de acordo com o número e aparência das pérolas de queratina, enquanto os menos queratinizados foram classificados de acordo com a queratinização celular individual. Os resultados do estudo de Woolgar et al. em 1995, que envolveu a análise histopatológica de 45 peças cirúrgicas de pacientes com CEC de língua / assoalho bucal, apontaram que o grau de queratinização pode ter um valor prognóstico independente e o refletiram com uma variável útil dos sistemas de classificação do risco histológico. No entanto, outros estudos não encontraram valor preditivo do grau de queratinização mais elevado que outros elementos histológicos ou associações com recidivas locais, apesar de considerarem esse parâmetro como um dos mais reprodutíveis (SAHAIR et al., 2003; WEIJERS et al., 2009). No presente estudo o grau de queratinização apresentou ainda uma tendência de associação com a relação tumor estroma, para o qual os resultados precisam ser esclarecidos, visto que o tamanho da amostra nesse estudo pode impactar em sua estatística.

O padrão de invasão, descrito também nos sistemas de Anneroth et al. (1987) e Bryne et al. (1992) também aplicado às áreas de invasão do tumor nesse estudo, a disposição de arranjo celular predominante, que seguiu os padrões avaliados no estudo de Libório et al., (2011), mostrou associação estatisticamente significativa e com os brotamentos tumorais. Considerando que esses elementos correspondem à disposição das células escamosas tumorais avaliada em parâmetros diferentes, a inferência estatística mostra-se coerente do ponto de vista da avaliação

histopatológico. O padrão de invasão é mostrado na literatura como um importante fator associado a metástase local e à distância e sobrevida global, como mostra o estudo realizado por Arora et al.; (2017) que avaliou o padrão de invasão como parâmetro histopatológico preditor de metástase linfonodal em pacientes com CEC oral. Os resultados encontrados nesse estudo revelavam que padrão de invasão se correlacionava significativamente com os linfonodos metastáticos, semelhantes aos resultados do estudo de Selvaraj et al. (2023) aponta também o padrão de invasão como importante fator prognóstico. Dessa forma, esse importante fator prognóstico mostrou associação significativa com a disposição do arranjo celular predominante, que foi avaliado de forma particular primariamente nesse estudo, e intensidade de brotamentos tumorais, o que pode indicar uma importante forma de reprodutibilidade para sua avaliação, quando avaliado também em conjunto com outros elementos referentes a disposição das células tumorais na neoplasia.

No presente estudo, os brotamentos tumorais foram avaliados nas lâminas coradas em H&E, a avaliação manual de H&E é o método mais comumente relatado na literatura, e utilizado em vários estudos, inclusive alguns estudos de meta-análise indicam que o papel prognóstico do brotamento tumoral não muda entre a avaliação convencional e a imuno-histoquímica (ALMANGUSH et al., 2018a; SHIMIZU et al., 2018; TOGNI et al., 2022). No entanto, segundo Joshi et al.; (2020) o infiltrado peritumoral, os fibroblastos associados ao câncer e outras células estromais reativas, poderiam impedir sua identificação, isso porque os brotamentos possuem bordas imperceptíveis nas lâminas H&E. Nesse contexto, o trabalho realizado por Leão et al.; (LEÃO et al., 2017) que comparou a dificuldade e reprodutibilidade entre os métodos de coloração H&E e a imunohistoquímica, relatou um tempo de trabalho mais curto e melhor reprodutibilidade para avaliação dos brotamentos tumorais com a imunocoloração. Os brotamentos tumorais foram associados a metástases para linfonodos locorregionais em diversos estudos, a meta-análise realizada por Almangush et al., (2018a) mostrou que o brotamento tumoral estava significativamente associado à metástase linfonodal (odds ratio=7,08, IC 95%=1,75–28,73), sobrevida livre de doença (hazard ratio=1,83, IC 95%=1,34–2,50) e global sobrevivência (taxa de risco = 1,88, IC 95% = 1,25–2,82). De acordo com Almangush et al.; 2017 a simplicidade, reprodutibilidade e baixo custo são características

importantes quando se considera um novo marcador para aplicação clínica, essas vantagens são relatadas em outros estudos (ALMANGUSH et al., 2021a; GRAHAM et al., 2015; WANG et al., 2011). Neste estudo, a **intensidade de brotamento, mostrou associação com o padrão de invasão e a disposição de arranjo celular predominante**, que pode indicar que avaliação desse parâmetro prognóstico, em H&E, foi relevante, podendo indicar ainda, potencial fator preditivo de malignidade.

Nesse estudo o pleomorfismo nuclear e quantidade de mitoses foram avaliados baseados no Sistema de Classificação de Nottingham, no qual o grau histológico representa o grau de diferenciação (BLOOM; RICHARDSON, 1957). Esse sistema refere-se a uma avaliação semiquantitativa de três características morfológicas, sendo formação de túbulos/glândulas, pleomorfismo nuclear e frequência mitótica. No geral, os valores dos três componentes da nota são somados, resultando em uma pontuação total entre 3 e 9 e depois categorizados na nota final, onde são classificados em grau I, II e III, que se constitui como fator prognóstico importante e de longo prazo em todos os subtipos de câncer de mama, sendo igualmente importante como o status dos linfonodos, mais importante que o tamanho do tumor, e tendo influência prognóstica específica em diferentes subgrupos (VAN DOOIJEWERT; VAN DIEST; ELLIS, 2022). Quanto à contribuição prognóstica relativa dos três constituintes do grau, vários estudos mostraram que a contagem mitótica é a variável mais importante seguida pelo pleomorfismo nuclear e depois pela formação de túbulos (VAN DOOIJEWERT; VAN DIEST; ELLIS, 2022). Não foram encontrados, na literatura, estudos que utilizaram esse parâmetro de avaliação para os casos de CEC em boca, normalmente são usados os parâmetros de Anneroth et al. (1987) e Bryne et al. (1992) para avaliação do pleomorfismo do CEC de boca (POOTHAKULATH KRISHNAN et al., 2023; UR RAHAMAN; MUJIB, 2014; WAGNER et al., 2017). Os parâmetros do grau de Nottingham constituem importantes fatores prognósticos nos cânceres de mama, e fornecem informações mais detalhadas da característica do pleomorfismo, o que não encontrado no outro sistema utilizado nos casos de CEC de boca, esse maior detalhamento das características me permitiu a melhor observação do elemento pleomorfismo e do quantitativo de mitoses para o presente estudo, fornecendo uma otimização avaliação desses parâmetros, que os leva a ser considerado para as investigações de elementos prognóstico para o CEC de boca em estudos futuros.

A relação tumor-estroma avaliada nesse estudo, foi classificada em duas categorias, alta ou baixa, de acordo com as orientações do estudo de van Pelt et al.; (2021), que estabelecia a padronização de avaliação desse parâmetro para os casos de carcinoma colorretal. Os resultados estatísticos mostram associação significativa desse elemento com o perfil de TILs, visto que, o percentual de estroma tumoral no campo de avaliação é considerado para a categorização desses dois elementos histológicos, esse resultado pode indicar uma melhor reprodutibilidade da técnica avaliação desses elementos, que são considerados fatores prognósticos podem representar importantes constituintes do laudo histopatológico do CEC convencional de boca. Uma revisão sistemática realizada por Moraes et al. (2022), que avaliou o significado prognóstico e clínico patológico da relação tumor-estroma no CEC de cabeça e pescoço, revelou que a análise histopatológica da relação tumor-estroma pode otimizar a análise do prognóstico dos casos diagnosticados com CEC, na região de cabeça e pescoço. Os resultados evidenciaram para os CEC esofágico e oral, os tumores ricos em estroma foram associados a uma sobrevida significativamente menor quando comparados aos tumores pobres em estroma. A relação tumor-estroma foi considerada um fator prognóstico independente para sobrevida livre de doença no CEC de esôfago e foi associada a altas taxas de recorrência locorregional no CEC oral. Além disso, os resultados dessa revisão sistemática, mostrou ainda que a relação tumor-estroma é um parâmetro confiável e simples, que apresenta alta concordância inter e intraobservador, podendo ser avaliado em lâminas coradas com H&E durante exames laboratoriais de rotina.

Para a avaliação de TILs nesse estudo foi utilizado a proposta de categorização de elementos estromais realizada por Almangush, Bello, et al. em 2021, em um estudo multiinstitucional que incluiu 308 casos de CEC de língua, onde o sistema de classificação dos TILs, foi dividido em três categorias: categoria estromal I, II e III. Os resultados desse estudo revelaram que uma grande quantidade de estroma com uma infiltração fraca de linfócitos foi associada de forma estatisticamente significativa a uma pior sobrevida livre de doença, com uma taxa de risco (HR) de 2,68 (IC 95% 1,26–5,69), pior sobrevida global (HR 2,95, IC 95% 1,69–5,15) e baixa sobrevida específica da doença (HR 2,66, IC 95% 1,11–6,33). Para os tumores com grande quantidade de estroma com infiltração fraca de linfócitos também houve associação

significativa a uma alta taxa de recorrência local (HR 4,13, IC 95% 1,67–10,24), quanto às metástases linfonodais, nenhuma associação estatisticamente significativa foi encontrada (HR 1,27, IC 95% 0,37–4,35). Heikkinen et al. em 2019 avaliaram o valor prognóstico dos TILs em uma coorte multicêntrica de carcinoma espinocelular precoce de língua, utilizando o método introduzido pelo *International Immuno-Oncology Biomarker Working Group*, de avaliação de TILs em percentual, que mostrou resultados importantes quanto a sobrevida global, sobrevivência específica da doença e sobrevida livre de doença, concluído que essa avaliação pode auxiliar na identificação de casos de alto risco de CEC em estágio inicial.

O perfil do infiltrado inflamatório peritumoral mostrou associação significativa com a profundidade de invasão-DOI, inferência estatística que pode ser estabelecida, ao observar que os casos que apresentam o DOI < 10 mm em seu maior percentual também são os casos com o infiltrado peritumoral marcado ou moderado, o que pode ser indicativo de indícios da capacidade de resposta do hospedeiro influenciar na profundidade de invasão desses casos CEC de boca, resultados esses que precisam ser melhor esclarecidos. Nesse cenário, um estudo sobre o infiltrado inflamatório peritumoral foi encontrado na literatura, o mesmo foi realizado por Affonso et al. (2015), e avaliou, em uma coorte retrospectiva de base hospitalar, a correlação entre o processo inflamatório peritumoral e as características clínicas de pacientes com CEC oral, bem como a sobrevida e o intervalo livre de doença, considerou o infiltrado inflamatório peritumoral como sendo quantificado em 4 categorias (Grau 0- ausente; Grau 1- leve; Grau 2- moderado; Grau 3- intenso). Os resultados não mostraram estatísticas significativas que quanto ao crescimento (classificação TNM), mas uma tendência de associação em que o infiltrado inflamatório tende a aumentar junto com o crescimento da massa tumoral. Considerando que esse estudo foi realizado anteriormente a instituição do DOI para a avaliação TNM, e não o considerou como parâmetro de avaliação não é possível realizar uma comparação equivalente, por essas diferenças de metodologia. Não foram encontrados, na literatura outros estudos avaliando a associação desses parâmetros.

Bryne et al., 1992 publicaram uma atualização no sistema de gradação de malignidade, com seus estudos demonstraram que a reprodutibilidade do sistema poderia ser melhorada excluindo a contagem mitótica do sistema enquanto o valor

prognóstico permaneceu altamente significativo. Além disso, foi realizado a divisão em do escore de malignidade, quanto ao prognóstico, em três grupo de acordo com a soma da pontuação: bom (4-8 pontos); moderado (9-12 pontos); pobre (13-16 pontos). Costa et al. em 2005 realizou um estudo com 38 casos de CEC oral, utilizando os parâmetros propostos por Bryne et al., 1992, no entanto para avaliação da pontuação, utilizou os escores médios totais da gradação histológica de malignidade, que foram obtidos pela somatória dos pontos (escores) atribuídos a cada parâmetro morfológico dividido pelo número de parâmetros utilizados. Wagner et al. 2017 fizeram uma comparação de sistemas de classificação em peças cirúrgicas e o sistema de classificação histológica descrito por Bryne et al. (1992) foi o único sistema associado aos resultados dos pacientes (vivos ou falecidos) ($p = 0,01$). Outros resultados mostraram que a especificidade dos graus I e II para predizer sobrevida foi de 96,3% e a sensibilidade do grau III para predizer óbito foi de 23,3%. O valor preditivo positivo foi de 77,77%. Este estudo ressaltou que estratégia de padronização não requer nenhum equipamento ou material adicional além da coloração H&E de rotina usada para diagnóstico. No presente estudo, foram utilizados os escores médios totais, dos Critérios de Bryne, para gradação histológica de malignidade, que mostraram que a maioria dos casos estavam classificados na categoria de altos escores de malignidade, que, de forma geral, mostrou resultados diferentes quando comparados aos resultados de outros elementos morfológicos, como baixa intensidade de brotamentos tumorais, escore 1 para a contagem de mitoses, baixa relação tumor-estroma e categoria estromal I de TILs.

No presente estudo, não foi possível realizar a análise dos elementos morfológicos com dados de sobrevida pela falta de informações de registro, para esse dado nos prontuários, podendo ser estabelecidos novos resultados em investigações futuras. Outras investigações dos elementos morfológicos, tanto tumorais quanto estromais, incluindo uma amostra maior, podem elucidar as associações estatisticamente significativas encontradas nesse estudo. Da mesma forma, existem elementos com plausibilidade biológica de associação, porém não mostram resultados estatísticos significativos, provavelmente pelo baixo poder estatístico, em relação a casuística desse estudo.

7. CONCLUSÃO

O perfil clínico e epidemiológico dos pacientes diagnosticados com CEC primário de boca da região Amazônica é caracterizado por pacientes de sexo masculino, acima dos 60 anos, com lesões em língua.

Neste estudo foi verificado, que o grau de diferenciação histológica do CEC está diretamente associado ao grau de queratinização celular, apesar deste último não ser isoladamente suficiente para o estabelecimento da graduação histológica do CEC. Deve-se considerar de maneira combinada os diversos elementos histológicos, sejam eles tumorais e/ou estromais, na interpretação do impacto prognóstico do CEC de boca. Dentre eles, reforçamos que o brotamento tumoral é um importante indicador de prognóstico, considerando sua associação significativa tanto com o padrão de invasão celular, quanto com a disposição dos arranjos celulares e com pleomorfismo celular em peças cirúrgicas de CEC de boca.

Estudos adicionais envolvendo casuística multicêntrica, sobrevida (relacionadas a óbito, metástase linfonodal e outros), biomarcadores (proteicos e moleculares) e uso da inteligência artificial são necessários para avaliar com exatidão o poder preditivo dos variados elementos tumorais e estromais presentes no CEC de boca, já que podem indicar potenciais sinalizadores prognósticos a serem futuramente incluídos na rotina do patologista.

REFERÊNCIAS

- AFFONSO, V. R. et al. Peritumoral infiltrate in the prognosis of epidermoid carcinoma of the oral cavity. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, v. 81, n. 4, p. 416–421, 1 jul. 2015.
- AL FEGHALI, K. A. et al. Impact of smoking on pathological features in oral cavity squamous cell carcinoma. **Journal of cancer research and therapeutics**, v. 15, n. 3, p. 582–588, 2019.
- ALMANGUSH, A. et al. Tumour budding in oral squamous cell carcinoma: a meta-analysis. **British journal of cancer**, v. 118, n. 4, p. 577–586, 20 fev. 2018a.
- ALMANGUSH, A. et al. Prognostic impact of tumour–stroma ratio in early-stage oral tongue cancers. **Histopathology**, v. 72, n. 7, p. 1128–1135, 1 jun. 2018b.
- ALMANGUSH, A. et al. Staging and grading of oral squamous cell carcinoma: An update. **Oral Oncology**, v. 107, p. 104799, 2020.
- ALMANGUSH, A. et al. Stromal categorization in early oral tongue cancer. **Virchows Archiv : an international journal of pathology**, v. 478, n. 5, p. 925–932, maio 2021a.
- ALMANGUSH, A. et al. Clinical significance of tumor-stroma ratio in head and neck cancer: a systematic review and meta-analysis. **BMC Cancer**, v. 21, n. 1, 1 dez. 2021b.
- AMIN, M. et al. **AJCC Cancer Staging Manual (8th Edition)**. New York: [s.n.].
- ANDRADE, J. O. M.; SANTOS, C. A. DE S. T.; OLIVEIRA, M. C. Fatores associados ao câncer de boca: Um estudo de caso-controle em uma população do Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 18, n. 4, p. 894–905, 2015.
- ANNEROTH, G.; BATSAKIS, J.; LUNA, M. Review of the literature and a recommended system of malignancy grading in oral squamous cell carcinomas. **European Journal of Oral Sciences**, v. 95, n. 3, p. 229–249, 1987.
- ARORA, A. et al. Development of a New Outcome Prediction Model in Early-stage Squamous Cell Carcinoma of the Oral Cavity Based on Histopathologic Parameters With Multivariate Analysis: The Aditi-Nuzhat Lymph-node Prediction Score (ANLPS) System. **The American Journal of Surgical Pathology**, v. 41, n. 7, 2017.
- BATISTA, A. C. et al. Distinctive clinical and microscopic features of squamous cell carcinoma of oral cavity and lip. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology**, v. 109, n. 3, p. e74–e79, 2010.
- BLOOM, H. J.; RICHARDSON, W. W. Histological grading and prognosis in breast cancer; a study of 1409 cases of which 359 have been followed for 15 years. **British journal of cancer**, v. 11, n. 3, p. 359–377, set. 1957.
- BRANDWEIN-GENSLER, M. et al. Oral Squamous Cell Carcinoma: Histologic Risk Assessment, but Not Margin Status, Is Strongly Predictive of Local Disease-free and Overall Survival. **The American Journal of Surgical Pathology**, v. 29, n. 2, 2005.
- BRODERS, A. C. Squamous-Cell Epithelioma of the Lip. **Journal of the American Medical Association**, v. 74, n. 10, p. 656, 1920.

- BRYNE, M. et al. New malignancy grading is a better prognostic indicator than Broders' grading in oral squamous cell carcinomas. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, v. 18, n. 8, p. 432–437, 1989.
- BRYNE, M. et al. Malignancy grading of the deep invasive margins of oral squamous cell carcinomas has high prognostic value. **The Journal of Pathology**, v. 166, n. 4, p. 375–381, 1992.
- CHANG, W.-C. et al. A histopathological evaluation and potential prognostic implications of oral squamous cell carcinoma with adverse features. **Oral Oncology**, v. 95, p. 65–73, 2019.
- COSTA, A. DE L. L.; JÚNIOR, R. F. DE A.; RAMOS, C. C. F. Correlation between TNM classification and malignancy histological feature of oral squamous cell carcinoma. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, v. 71, n. 2, p. 181–187, 2005.
- CUSCHIERI, S. The STROBE guidelines. **Saudi Journal of Anaesthesia**, v. 13, n. 5, p. S31–S34, 2019.
- DEUSDEDIT, M. B. et al. Análise da prevalência de carcinoma de células escamosas da cavidade bucal no Serviço de Estomatologia do Hospital Metropolitano Odilon Behrens em Belo Horizonte, Minas Gerais TT - Analysis of the prevalence of squamous cell carcinoma of the oral cavity . **Arq. odontol**, v. 52, n. 4, p. 182–187, 2016.
- DIECI, M. V. et al. Update on tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer, including recommendations to assess TILs in residual disease after neoadjuvant therapy and in carcinoma in situ: A report of the International Immuno-Oncology Biomarker Working Group on Bre. **Seminars in Cancer Biology**, v. 52, p. 16–25, 2018.
- DIK, E. A. et al. The value of histological grading of biopsy and resection specimens in early stage oral squamous cell carcinomas. **Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery**, v. 46, n. 6, p. 1001–1006, 2018.
- DOLENS, E. DA S. et al. The Impact of Histopathological Features on the Prognosis of Oral Squamous Cell Carcinoma: A Comprehensive Review and Meta-Analysis. **Frontiers in oncology**, v. 11, p. 784924, 10 nov. 2021.
- ELLINGTON, T. D. et al. Morbidity and Mortality Weekly Report Trends in Incidence of Cancers of the Oral Cavity and Pharynx-United States 2007-2016. **Centers for Disease Control and Prevention**, v. 69, n. 15, 2020.
- EMERICK, C. et al. Perfil sociodemográfico e clinicopatológico de 80 casos de carcinoma de células escamosas de boca. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 56, n. 1, p. 1–6, 2020.
- GBD. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 310 diseases and injuries, 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. **Lancet (London, England)**, v. 388, n. 10053, p. 1545–1602, out. 2016.
- GRAHAM, R. P. et al. Tumor Budding in Colorectal Carcinoma: Confirmation of Prognostic Significance and Histologic Cutoff in a Population-based Cohort. **The**

American journal of surgical pathology, v. 39, n. 10, p. 1340–1346, out. 2015.

HEIKKINEN, I. et al. Assessment of Tumor-infiltrating Lymphocytes Predicts the Behavior of Early-stage Oral Tongue Cancer. **American Journal of Surgical Pathology**, v. 43, n. 10, p. 1392–1396, 2019.

HOWARD, A.; AGRAWAL, N.; GOOI, Z. Lip and Oral Cavity Squamous Cell Carcinoma. **Hematology/Oncology Clinics of North America**, v. 35, n. 5, p. 895–911, 2021.

JADHAV, K. B.; GUPTA, N. Clinicopathological prognostic implicators of oral squamous cell carcinoma: Need to understand and revise. **North American Journal of Medical Sciences**, v. 5, n. 12, p. 671–679, 2013.

JOSHI, P. et al. Tumor budding - A promising prognostic histopathological parameter in oral squamous cell carcinoma - A comparative immunohistochemical study. **Journal of oral and maxillofacial pathology : JOMFP**, v. 24, n. 3, p. 587, 2020.

LEÃO, P. L. R. et al. Reproducibility, repeatability, and level of difficulty of two methods for tumor budding evaluation in oral squamous cell carcinoma. **Journal of Oral Pathology and Medicine**, v. 46, n. 10, p. 949–955, 2017.

LEITE, A. A. et al. Oral squamous cell carcinoma: A clinicopathological study on 194 cases in northeastern Brazil. A cross-sectional retrospective study. **Sao Paulo Medical Journal**, v. 136, n. 2, p. 165–169, 2018.

LIBÓRIO, T. N. et al. In situ hybridization detection of homeobox genes reveals distinct expression patterns in oral squamous cell carcinomas. **Histopathology**, v. 58, n. 2, p. 225–233, 1 jan. 2011.

LINDENBLATT, DE C. R. R. et al. Oral squamous cell carcinoma grading systems - Analysis of the best survival predictor. **Journal of Oral Pathology and Medicine**, v. 41, n. 1, p. 34–39, 2012.

LOUREDO, B. V. R. et al. Epidemiology and survival outcomes of lip, oral cavity, and oropharyngeal squamous cell carcinoma in a southeast Brazilian population. **Medicina Oral Patologia Oral y Cirugia Bucal**, v. 27, n. 3, p. e274–e284, 2022.

MARKWELL, S. M.; WEED, S. A. Tumor and stromal-based contributions to head and neck squamous cell carcinoma invasion. **Cancers**, v. 7, n. 1, p. 382–406, 27 fev. 2015.

MARTINS, J. D. et al. Determinantes sociais de saúde e a ocorrência de câncer oral: Uma revisão sistemática de literatura. **Revista de Salud Publica**, v. 16, n. 5, p. 786–798, 2014.

MELLO, F. W. et al. The synergistic effect of tobacco and alcohol consumption on oral squamous cell carcinoma: a systematic review and meta-analysis. **Clinical oral investigations**, v. 23, n. 7, p. 2849–2859, jul. 2019.

MOHAN, K. R.; SHARIEF, R. M.; C., R. Tumor budding and depth of invasion can be used as prognostic risk factors in determining treatment plan for early stage oral squamous cell carcinoma. **International Journal of Research in Medical Sciences**, v. 7, n. 10, p. 3854, 2019.

MORAIS, E.-F. et al. Prognostic and clinicopathological significance of tumor-stroma

- ratio in head and neck squamous cell carcinoma: A systematic review. **Medicina oral, patologia oral y cirugía bucal**, v. 27, n. 4, p. e301–e309, jul. 2022.
- MORO, J. DA S. et al. Oral and oropharyngeal cancer: epidemiology and survival analysis. **Einstein (Sao Paulo, Brazil)**, v. 16, n. 2, p. eAO4248, 2018.
- NEVILLE, B. W. et al. **Patologia Oral e Maxilofacial 4ed.** [s.l.] Elsevier, 2016.
- NIRANJAN, K. C.; SARATHY, N. A. Prognostic impact of tumor-stroma ratio in oral squamous cell carcinoma - A pilot study. **Annals of Diagnostic Pathology**, v. 35, p. 56–61, 1 ago. 2018.
- PERDOMO, S. et al. Head and neck cancer burden and preventive measures in Central and South America. **Cancer Epidemiology**, v. 44, p. S43–S52, 2016.
- PLZÁK, J. et al. The head and neck squamous cell carcinoma microenvironment as a potential target for cancer therapy. **Cancers**, v. 11, n. 4, 2019.
- POOTHAKULATH KRISHNAN, R. et al. Comparison of Clinico-Demographic and Histological Parameters Between Young and Old Patients With Oral Squamous Cell Carcinoma. **Cureus**, v. 15, n. 11, p. e48137, nov. 2023.
- RANI, P. et al. Clinicopathological correlation of tumor-stroma ratio and inflammatory cell infiltrate with tumor grade and lymph node metastasis in squamous cell carcinoma of buccal mucosa and tongue in 41 cases with review of literature. **Journal of Cancer Research and Therapeutics**, v. 16, n. 3, p. 445–451, 2020.
- SAHAIR, F. A. et al. Invasive front grading: reliability and usefulness in the management of oral squamous cell carcinoma. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, v. 32, n. 1, p. 1–9, 1 jan. 2003.
- SB BRASIL. **Manual de Calibração de Examinadores.** Brasília: [s.n.].
- SELVARAJ, F. M. et al. Significance of tumour budding and invasive characteristics in grading of oral squamous cell carcinoma. **Journal of oral and maxillofacial pathology : JOMFP**, v. 27, n. 4, p. 642–648, 2023.
- SETHI, S. et al. Histopathological Factors in Oral Squamous Cell Carcinoma—Should a Clinician Look Beyond Clinical Staging? **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 79, n. 8, p. 1694–1705, 2021a.
- SETHI, S. et al. Pattern of tumor invasion, stromal inflammation, angiogenesis and vascular invasion in oral squamous cell carcinoma – A prognostic study. **Current Problems in Cancer**, v. 45, n. 2, p. 100647, 2021b.
- SHAN, Q. et al. Stromal cells in the tumor microenvironment promote the progression of oral squamous cell carcinoma. **International journal of oncology**, v. 59, n. 3, p. 72, set. 2021.
- SHIMIZU, S. et al. Tumor budding is an independent prognostic marker in early stage oral squamous cell carcinoma: With special reference to the mode of invasion and worst pattern of invasion. **PLOS ONE**, v. 13, n. 4, p. e0195451, 19 abr. 2018.
- SUNG, H. et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 71, n. 3, p. 209–249, 2021.

- TOGNI, L. et al. The Emerging Impact of Tumor Budding in Oral Squamous Cell Carcinoma: Main Issues and Clinical Relevance of a New Prognostic Marker. **Cancers**, v. 14, n. 15, jul. 2022.
- UENO, H. et al. Tumour 'budding' as an index to estimate the potential of aggressiveness in rectal cancer. **Histopathology**, v. 40, n. 2, p. 127–132, 1 fev. 2002.
- UR RAHAMAN, S. M.; MUJIB, B. R. A. Histopathological correlation of oral squamous cell carcinoma among younger and older patients. **Journal of Oral and Maxillofacial Pathology**, v. 18, n. 2, p. 183–188, 2014.
- VAN DOOIJEWERT, C.; VAN DIEST, P. J.; ELLIS, I. O. Grading of invasive breast carcinoma: the way forward. **Virchows Archiv**, v. 480, n. 1, p. 33–43, 2022.
- VAN PELT, G. W. et al. Scoring the tumor-stroma ratio in colon cancer: procedure and recommendations. **Virchows Archiv**, v. 473, n. 4, p. 405–412, 1 out. 2018.
- WAGNER, V. P. et al. Bryne's grading system predicts poor disease-specific survival of oral squamous cell carcinoma: a comparative study among different histologic grading systems. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology**, v. 123, n. 6, p. 688–696, 1 jun. 2017.
- WANG, C. et al. Tumor budding correlates with poor prognosis and epithelial-mesenchymal transition in tongue squamous cell carcinoma. **Journal of oral pathology & medicine : official publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology**, v. 40, n. 7, p. 545, ago. 2011.
- WEIJERS, M. et al. Malignancy grading is no better than conventional histopathological grading in small squamous cell carcinoma of tongue and floor of mouth: retrospective study in 128 patients. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, v. 38, n. 4, p. 343–347, 1 abr. 2009.
- WHO, C. OF T. E. B. **Head and neck tumours [Internet; beta version ahead of print]**. 5th ed.; v ed. Lyon (France): [s.n.].
- WOOLGAR, J. A.; SCOTT, J. Prediction of cervical lymph node metastasis in squamous cell carcinoma of the tongue/floor of mouth. **Head & Neck**, v. 17, n. 6, p. 463–472, 1 nov. 1995.
- XU, B. et al. Histologic evaluation of host immune microenvironment and its prognostic significance in oral tongue squamous cell carcinoma: a comparative study on lymphocytic host response (LHR) and tumor infiltrating lymphocytes (TILs). **Pathology - Research and Practice**, v. 228, p. 153473, 2021.
- ZNAOR, A. et al. Independent and combined effects of tobacco smoking, chewing and alcohol drinking on the risk of oral, pharyngeal and esophageal cancers in Indian men. **International Journal of Cancer**, v. 105, n. 5, p. 681–686, 2003.
- ZYGOGIANNI, A. G. et al. Oral squamous cell cancer: Early detection and the role of alcohol and smoking. **Head and Neck Oncology**, v. 3, n. 1, p. 2, 2011.

ANEXO I – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



UNIVERSIDADE FEDERAL DO
AMAZONAS - UFAM



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: CARACTERIZAÇÃO CLÍNICO-PATOLÓGICA DO CEC PRIMÁRIO DE BOCA: UM ESTUDO TRANSVERSAL COM ÊNFASE NA CATEGORIZAÇÃO HISTOLÓGICA DOS ELEMENTOS TUMORAIS E ESTROMAIS

Pesquisador: TASSIA CAROLINE DA COSTA MENDES

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 65678222.0.0000.5020

Instituição Proponente: Faculdade de Odontologia

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.861.203

Apresentação do Projeto:

Segundo a pesquisadora responsável, no documento "PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2034063.pdf", anexado em 23/11/2022 12:02:32:

O carcinoma espinocelular (CEC) é a neoplasia maligna mais frequentemente ocorre em boca. Acomete preferencialmente pacientes adultos, do gênero masculino e está associada a fatores de risco como o tabagismo e etilismo. Esta pesquisa tem por objetivo caracterizar o perfil clínico- patológico do carcinoma escamocelular (CEC) primário de boca em pacientes recém-diagnosticados, com ênfase na categorização morfológica dos elementos tumorais ("buddings" tumorais; padrão de invasão; quantidade de mitoses por campo; presença e grau de queratinização; disposição de arranjos celulares; e pleomorfismo nuclear) e estromais (Perfil celular do infiltrado inflamatório peritumoral; perfil de maturação do estroma e perfil de linfócitos infiltrantes do estroma tumoral). Para a realização deste estudo serão incluídos prontuários, requisição de exame histopatológico e lâminas histológicas e/ou blocos de parafina de casos de pacientes diagnosticados com CEC de boca, provenientes de três laboratórios de patologia: Laboratório de Anatomia Patológica do DPML/UFAM; Laboratório de Anatomia Patológica da Fundação Centro de Controle de Oncologia do Amazonas (FCECON); e Centro de Procedimentos Diagnósticos da Amazônia (CPDA). A coleta dos dados, clínicos e epidemiológicos, e dados para

Endereço: Rua Teresina, 4950

Bairro: Adrianópolis

UF: AM

Município: MANAUS

Telefone: (92)3305-1181

CEP: 69.057-070

E-mail: cep.ufam@gmail.com



UNIVERSIDADE FEDERAL DO
AMAZONAS - UFAM



Continuação do Parecer: 5.861.203

análise das características histopatológicas será realizada com auxílio de formulários construídos na plataforma Google Forms. Para a análise estatística serão realizados teste de normalidade, além de testes para testar associações entre as variáveis categóricas serão utilizados e dados quantitativos. A fim de avaliar os possíveis associações entre os elementos histológicos estromais e tumorais do CEC serão realizadas análises univariadas e multivariadas será efetuada uma regressão múltipla de cox.

Palavras-chave: Carcinoma de células escamosas; câncer bucal; patologia bucal.

Hipótese:

Hipótese nula (H0)

As características histológicas do CEC primário de boca não evidenciam alteração celular dos elementos prognósticos, tumorais e estromais, distintos nos diferentes graus de classificação histológica.

Hipótese alternativa (H1)

Alterações celulares de tumor e estroma do CEC primário de boca são diferentes em cada grau de classificação histológica, de modo que dependendo do grau de malignidade, os elementos histológicos prognósticos, tanto estromais quanto tumorais podem ser categorizados em níveis de maiores riscos.

Metodologia Proposta:

A pesquisa será realizada em 3 laboratórios de anatomia patológica da cidade de Manaus/AM, sendo eles: Laboratório de Anatomia Patológica do DPML/UFAM, localizado na avenida Afonso Pena, 1053 – Praça 14; Laboratório de Anatomia Patológica da Fundação Centro de Controle de Oncologia do Amazonas (FCECON), localizado na Avenida Francisco Orellana, 215 – Planalto; e no Centro de Procedimentos Diagnósticos da Amazônia (CPDA), localizado na Av. Ramos Ferreira, 1075 – Centro. A coleta será realizada durante um período de 10 meses, em todos os laboratórios haverá consulta prévia nos registros dos laudos histopatológicos para identificar casos de pacientes diagnosticados com CEC primário de boca, e então serão selecionadas as amostras para serem incluídos na pesquisa. A amostra será por conveniência, estimando-se 139 prontuários/ laudos de pacientes adultos com diagnóstico de CEC no período entre janeiro de 2012 e dezembro de 2021, considerando o estudo epidemiológico realizado por Mizobe-Ono em 2011, no qual foi encontrado um total de 215 casos de CEC diagnosticados no hospital FCECON, de um total de 276

Endereço: Rua Teresina, 4950

Bairro: Adrianópolis

UF: AM

Telefone: (92)3305-1181

Município: MANAUS

CEP: 69.057-070

E-mail: oep.ufam@gmail.com



UNIVERSIDADE FEDERAL DO
AMAZONAS - UFAM



Continuação do Parecer: 5.861.203

neoplasias malignas de boca em um período de 12 anos. Para a realização dos procedimentos amostrais foi utilizado o site https://openepi.com/Menu/OE_Menu.htm, considerando uma proporção de 230 casos em 10 anos, frequência de 78%, com um nível de confiança de 95%, erro amostral de 5% e tamanho do efeito 0,8, resultando em uma estimativa de 99 pacientes a serem recrutados no hospital FCECON. Considerando essas informações, foi estimado a identificação 30 casos de diagnóstico de CEC no DPML e 10 casos de diagnósticos de CEC de boca no CPDA, totalizando a amostra final. Entrarão no estudo prontuários, requisições de exames histopatológicos e amostras histopatológicas (lâminas histológicas), provenientes de três laboratórios, de todos os pacientes diagnosticados com CEC primário de boca, que assinarem o TCLE e os abrangidos pelo TCUD, no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2021, que atenderem aos critérios de inclusão (item 5.6). Neste estudo serão utilizadas lâminas histopatológicas, localizadas após a identificação dos casos a partir dos dados de prontuário e requisições de exames histopatológicos. A depender do material encontrado para avaliação, cada caso deverá estar constituído por uma ou mais lâminas histológicas de biópsias representativas e/ou peças cirúrgicas. Essas lâminas serão avaliadas quanto a sua qualidade para serem incluídas ou não no estudo, conforme os critérios de elegibilidade. Para os casos em que a lâmina histológica estiver em condições inadequadas para análise, serão recuperados os blocos de parafina arquivados, exclusivamente daqueles pacientes que assinaram o TCLE, para confecção de novas lâminas coradas em Hematoxilina e Eosina (HE), desde que haja material suficiente que permita novos recortes, sem causar a inutilização dos blocos, por esgotamento do material. Vale ressaltar que as lâminas não serão retiradas do seu local de origem e a equipe do projeto deverá ir pessoalmente em cada um dos locais para a realização da análise histopatológica.

Critério de Inclusão:

- Prontuário/Requisição de exames histopatológico de pacientes, de ambos os sexos, com idade acima de 18 anos, diagnosticados com CEC primário de boca mediante laudo histológico, podendo ser o CEC convencional ou suas variantes, no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2021;
- Pacientes em acompanhamento na FCECON com diagnóstico de CEC primário de boca, no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2021;
- Requisições, laudos histopatológicos e respectivas lâminas histológicas, referentes a pacientes avaliados nos laboratórios de Patologia da FCECON, DPML/UFAM e CPDA, com diagnóstico de CEC primário de boca, diagnosticados no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2021;

Endereço: Rua Teresina, 4950

Bairro: Adrianópolis

UF: AM

Município: MANAUS

Telefone: (92)3305-1181

CEP: 69.057-070

E-mail: cep.ufam@gmail.com



UNIVERSIDADE FEDERAL DO
AMAZONAS - UFAM



Continuação do Parecer: 5.861.203

- Lâminas e/ou blocos de materiais obtidos para diagnóstico (incisionais ou excisionais) apresentando áreas histopatológicas representativas da neoplasia, dos elementos tumorais, estromais, transição estroma-tumor e inter-relação entre os mesmos, independente do tamanho geral da amostra.
- Lâminas histopatológicas ou blocos de parafina de pacientes diagnosticados com CEC no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2021

Critério de Exclusão:

- Prontuário/ Requisição de exame histopatológico com informações incompletas do paciente ou do espécime.
- Material mal processado, com coloração inadequada, artefatos de inclusão ou quaisquer outros que dificultem a análise histológica.
- Material histopatológico referente a pacientes com histórico de tratamento neoadjuvante, visto que o tratamento pode provocar alterações celulares tumorais e de estroma

Metodologia de Análise de Dados:

Os dados serão tabulados em um banco de dados no software Excel Microsoft®. Será realizada análise descritiva das variáveis utilizadas no estudo, tais como frequência absoluta e percentual de frequência para as variáveis categóricas. As variáveis numéricas serão apresentadas por meio de gráficos e tabelas, em que se calculará a média e o desvio-padrão (Dp). Por meio do teste Shapiro-Wilk avaliaremos a normalidade dos dados, os que tiverem distribuição normal possuirá o p valor < 0,05, caso os dados tenham distribuição não normal serão apresentados na forma de medianas e intervalos interquartis (Q3 - Q1). Para testar associações entre as variáveis categóricas serão utilizados o teste Qui-Quadrado ou teste Exato de Fisher. Os dados quantitativos que apresentarem distribuição normal

será aplicado o teste t Student. Por outro lado, na comparação das medianas em relação às variáveis categóricas será aplicado o teste não paramétrico de Mann-Whitney. A fim de avaliar os possíveis associações entre os elementos histológicos estromais e tumorais do CEC serão realizadas análises univariadas e multivariadas será efetuada uma regressão múltipla de cox. Todas as análises serão realizadas utilizando o software SPSS 22.0 e o nível de significância a ser aplicado nos testes estatísticos será de 5%.

Endereço: Rua Teresina, 4950

Bairro: Adrianópolis

UF: AM

Telefone: (92)3305-1181

Município: MANAUS

CEP: 69.057-070

E-mail: cep.ufam@gmail.com



UNIVERSIDADE FEDERAL DO
AMAZONAS - UFAM



Continuação do Parecer: 5.861.203

Desfecho Primário:

Elementos histológicos tumorais e estromais do CEC primário de boca.

Desfecho Secundário:

classificações histopatológicas do CEC.

Tamanho da Amostra no Brasil: 139

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

• Caracterizar o perfil clínico-patológico do carcinoma escamocelular (CEC) primário de boca em pacientes recém-diagnosticados, com ênfase na categorização morfológica dos elementos tumorais e estromais.

Objetivo Secundário:

• Caracterizar o perfil epidemiológico de pacientes com CEC primário de boca • Graduar o CEC primário de boca segundo a classificação da OMS, bem como estratificar suas variantes histológicas. • Categorizar seis elementos tumorais do CEC convencional e suas variantes, considerando: 1. Presença de "buddings" tumorais (BT); 2. Padrão de invasão (PI); 3. Quantidade de mitoses por campo (MC); 4. Presença e grau de queratinização (GQ); 5. Disposição de arranjos celulares (DAC); e 6. Pleomorfismo nuclear (PN). • Avaliar a relação tumor-estroma (RTE) • Avaliar o perfil da transição epitélio-mesenquimal (TEM) • Categorizar três elementos estromais do CEC convencional e suas variantes, considerando: 1. Perfil celular do infiltrado inflamatório peritumoral (IIP); 2. Perfil de maturação do estroma (PME) e 3. Perfil de linfócitos infiltrantes do estroma tumoral (TILs). • Caracterizar os achados morfológicos, de acordo com os critérios de Bryne; • Associar os elementos estromais e tumorais entre si (isoladamente e de forma combinada), bem com os diferentes subtipos histológicos do CEC. • Associar os achados clínicos e morfológicos dos pacientes com CEC primário de boca.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Segundo a pesquisadora responsável, no documento "PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2034063.pdf", anexado em 23/11/2022 12:02:32:

Riscos:

Na presente pesquisa ocorrerá uma caracterização histológica mais aprofundada de laudos de biópsias com o diagnóstico de CEC primário de boca. Por tratar-se de uma pesquisa documental e

Endereço: Rua Teresina, 4950

Bairro: Adrianópolis

UF: AM

Município: MANAUS

CEP: 69.057-070

Telefone: (92)3305-1181

E-mail: oep.ufam@gmail.com



UNIVERSIDADE FEDERAL DO
AMAZONAS - UFAM



Continuação do Parecer: 5.861.203

retrospectiva, não será necessário o submeter a qualquer tipo de procedimento ou interferir no seu cotidiano, não havendo também mudança no seu diagnóstico inicial. Porém, segundo a Resolução N° 466, de 12 de dezembro de 2012, toda pesquisa envolve riscos. No caso da presente pesquisa, os riscos são: a quebra de sigilo das suas informações pessoais, no entanto, nós, da equipe de pesquisa, asseguramos a total confidencialidade e sigilo das informações que nos forem repassadas, pois utilizaremos codificação de registros em computadores e/ou planilhas de acesso exclusivo dos pesquisadores, protegidos por senha. Outro possível risco é a quebra de lâminas

histopatológicas durante a análise ao microscópio, visto que as mesmas são de vidro, mas garantimos que haverá extremo zelo e cuidado com a manipulação das mesmas. Com relação aos blocos de parafina que contenham amostras da lesão, também garantimos zelo e cuidado para manipulação e o não esgotamento das amostras, quando da confecção de novas lâminas. Também garantimos que o remanescente do(s) bloco(s) e a(s) lâmina(s) serão devolvidos para o armazenamento no arquivo do laboratório de origem. Dessa maneira garantimos que tomaremos todos os cuidados e medidas cabíveis para garantir o sigilo dos dados do paciente, seguindo também o que orienta a Carta Circular n°. 039/2011/CONEP/CNS/GB/MS (que trata especificamente sobre uso de prontuários, apesar de se tratar de laudos) e também a Resolução CFM N° 1.605/2000 e a CFM N° 1.931/2009 (Código de Ética Médica). Devido à impossibilidade de obtenção do TCLE de todos os participantes do estudo, os pesquisadores assinarão o Termo de Compromisso de Utilização de Dados (TCUD) e os dados serão expressos em termos de médias e proporções para o conjunto dos indivíduos, resguardando-se a confidencialidade dos dados utilizados

Benefícios:

Como benefícios, a pesquisa trará conhecimentos mais aprofundados da caracterização histológica das biópsias de CEC primário de boca a luz de parâmetros histológicos que visam o melhor conhecimento da doença e suas características, reforçando a aplicabilidade de inserção de características estromais e tumorais na rotina dos laboratórios de patologia e a importância da inserção de informações relevantes, nos laudos histopatológicos. Além disso, o estudo tem o benefício de obtenção de informações relevantes e esclarecedoras não somente pelos sinais clínicos e histológicos da doença como também pela forma que o CEC se distribui nos pacientes de acordo com as suas características sociodemográficas

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O estudo a ser realizado trata-se de uma pesquisa observacional transversal descritiva/analítica e

Endereço: Rua Teresina, 4950

Bairro: Adrianópolis

UF: AM

Telefone: (92)3305-1181

CEP: 69.057-070

Município: MANAUS

E-mail: oep.ufam@gmail.com



UNIVERSIDADE FEDERAL DO
AMAZONAS - UFAM



Continuação do Parecer: 5.861.203

retrospectiva.

Primeira submissão. Projeto de pesquisa apresentado ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade Federal do Amazonas.

Haverá uso de fontes secundárias de dados (prontuários, dados demográficos, etc)?

Sim

Detalhamento:

Para caracterizar o perfil epidemiológico e clínico de pacientes, as informações serão extraídas de prontuários médicos/requisição de exame histopatológico. Para os casos do hospital FCECON com diagnóstico de CEC em que o paciente encontra-se em acompanhamento na unidade de saúde, a partir da identificação junto ao Serviço de Arquivo Médico e Estatísticas (SAME), esses ou seus responsáveis serão abordados pelo pesquisador, mediante explicações acerca da natureza, dos objetivos, dos benefícios e possíveis riscos do estudo, afim de obter autorização para as coletas dos dados e caracterização das demais informações, através do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE (APÊNDICE A). Deve-se destacar que nenhum novo procedimento será realizado no paciente, sendo necessária exclusivamente a anuência do participante para utilização de seus dados e material histológico, como lâminas e blocos de parafina, já confeccionados no passado, em materiais que tiverem sido obtidos por procedimentos cirúrgicos visando o diagnóstico. Para a realização de cortes adicionais do material biológico em bloco de parafina, tendo em vista a confecção de novas lâminas, será garantido pelos pesquisadores que não haverá esgotamento do material biológico e que o remanescente será devolvido para o armazenamento no laboratório de origem, conforme a sessão de "Amostras oriundas de laboratórios de patologia (Portaria MS nº2.201 de 2011, Artigo 14º, Parágrafo 3º)" (CONEP, 2021). 2021) Para os casos mais antigos da FCECON, nos quais os pacientes já não estejam em

acompanhamento regular, quer seja por óbito, por abandono, ou por alta, e os casos diagnosticados pelos laboratórios de patologia do DPML/UFAM e CPDA será solicitada a Dispensa do TCLE, onde serão apresentadas justificativas plausíveis (dentre elas a dificuldade de acesso ao participante), sendo, para esses casos, utilizado o Termo de compromisso e utilização dos Dados – TCUD, para salvaguardar os direitos quanto à

confidencialidade das informações de dados pessoais e de revisão de lâminas dos participantes da pesquisa. É importante ressaltar que para esses casos não haverá recuperação de blocos para

Endereço: Rua Teresina, 4950

Bairro: Adrianópolis

UF: AM

Município: MANAUS

CEP: 69.057-070

Telefone: (92)3305-1181

E-mail: oep.ufam@gmail.com



UNIVERSIDADE FEDERAL DO
AMAZONAS - UFAM



Continuação do Parecer: 5.861.203

confeção de novas lâminas, somente a revisão das lâminas arquivadas nos laboratórios. Os dados serão levantados junto ao Serviço de Arquivo Médico e Estatísticas (SAME) da FCECON e aos Serviços de patologia do DPML/UFAM e CPDA. Para

a coleta de dados dos casos da FCECON será utilizado o Registro Hospitalar do Câncer (RHC), para acesso a lista de pacientes elegíveis para a pesquisa com o diagnóstico de CEC de boca. Após refinamento da lista, será solicitado ao SAME a liberação dos prontuários somente dos pacientes com CEC de boca. O SAME fornecerá e agendará o dia disponível para liberação dos prontuários. Os prontuários poderão estar na forma física ou digital, este último acessado pelo sistema interno eletrônico iDoctor. Os pacientes que ainda estiverem em tratamento no Hospital serão convidados a participar da pesquisa, mediante a apresentação do TCLE para a assinatura e serão encontrados através de uma busca dos prontuários médicos presentes no SAME dentro do período proposto no projeto. O método para essa busca é realizá-la em ordem decrescente, iniciando dos prontuários mais recentes, aqueles datados de dezembro de 2021 até os mais antigos, datados de janeiro de 2012, de modo a garantir a identificação dos prontuários cujos pacientes estejam ainda em tratamento no hospital. Nesses casos, o contato se dará por meio dos telefones disponíveis no prontuário.

Propõe dispensa do TCLE?

Sim

Justificativa:

Somente para os participantes provenientes do DPML e CPDA. Para os participantes da FCECON, o TCLE será obtido sempre que possível. Para os casos em que solicitamos dispensa, os motivos principais são: 1º - pela impossibilidade de contato com o paciente, visto que os laboratórios de patologia são unidades de realização de exames diagnósticos, ou seja não há acompanhamento do paciente em seu curso de tratamento, além disso, considerando o tempo de realização do exame, por se tratar de uma avaliação retrospectiva em um período de 10 anos. 2º - Considerando o diagnóstico de neoplasia maligna, em que o prognóstico do paciente é ruim, sendo assim um assunto delicado para familiares daqueles que foram a óbito, o que pode trazer à tona lembranças indesejadas a respeito do assunto, gerando desconfortos e sentimentos ruins aos envolvidos.

Lei Geral de Proteção de Dados (Redação dada pela Lei nº 13.853, de 2019)

Endereço: Rua Teresina, 4950

Bairro: Adrianópolis

UF: AM

Município: MANAUS

Telefone: (92)3305-1181

CEP: 69.057-070

E-mail: oep.ufam@gmail.com



UNIVERSIDADE FEDERAL DO
AMAZONAS - UFAM



Continuação do Parecer: 5.861.203

Coleta de dados a partir de fevereiro de 2023.

Financiamento próprio.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Folha de rosto: está preenchida e assinada corretamente. Documento "FolhadeRostoAssinada.pdf", 18/11/2022 18:06:08. ADEQUADA.

Termo de anuência: documento "ANUENCIA_CPDA.pdf", 22/11/2022 13:17:54. ADEQUADO.

Documento "Anuencia_DPML.pdf", 22/11/2022 13:17:54. ADEQUADO.

Documento "ANUENCIA_FCECON.pdf", 22/11/2022 13:17:05. ADEQUADO

TCLE: documento "TCLE.pdf", 22/11/2022 12:49:54, ADEQUADO

documento "Solicitacao_Dispenza_TCLE.pdf", 23/11/2022 12:02:00. ADEQUADO

documento "Declaracao_De_Manuseio_De_Material_Biologico.pdf", 22/11/2022 12:54:33. ADEQUADO

documento "TCUDAssinado.pdf", 22/11/2022 12:52:05, ADEQUADO

Recomendações:

"Vide campo de Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações"

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não foram observados óbices éticos nos documentos do estudo.

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa – CEP, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS n.º 466, de 2012, e na Norma Operacional n.º 001, de 2013, do CNS, manifesta-se pela aprovação do protocolo de pesquisa.

A pesquisadora deve enviar por Notificação os relatórios parciais e final. (item XI.d. da Res 466/2012-CNS), por meio da Plataforma Brasil e manter seu cronograma atualizado, solicitando por Emenda eventuais alterações antes da finalização do prazo inicialmente previsto.

Endereço: Rua Teresina, 4950

Bairro: Adrianópolis

CEP: 69.057-070

UF: AM

Município: MANAUS

Telefone: (92)3305-1181

E-mail: cep.ufam@gmail.com



UNIVERSIDADE FEDERAL DO
AMAZONAS - UFAM



Continuação do Parecer: 5.861.203

Considerações Finais a critério do CEP:

Este CEP analisa os aspectos éticos da pesquisa com base nas Resoluções 466/2012-CNS, 510/2016-CNS e outras complementares. A aprovação do protocolo neste Comitê NÃO SOBREPÕE eventuais restrições ao início da pesquisa estabelecidas pelas autoridades competentes, devido à pandemia de COVID-19. A pesquisadora deve analisar a pertinência do início, segundo regras de sua instituição ou instituições/autoridades sanitárias locais, municipais, estaduais ou federais.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2034063.pdf	23/11/2022 12:02:32		Aceite
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Solicitacao_Dispensa_TCLE.pdf	23/11/2022 12:02:00	TASSIA CAROLINE DA COSTA MENDES	Aceite
Outros	ANUENCIA_CPDA.pdf	22/11/2022 13:17:54	TASSIA CAROLINE DA COSTA MENDES	Aceite
Outros	Anuencia_DPML.pdf	22/11/2022 13:17:31	TASSIA CAROLINE DA COSTA MENDES	Aceite
Outros	ANUENCIA_FCECON.pdf	22/11/2022 13:17:05	TASSIA CAROLINE DA COSTA MENDES	Aceite
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_DETALHADO_CEC.pdf	22/11/2022 13:07:06	TASSIA CAROLINE DA COSTA MENDES	Aceite
Orçamento	ORCAMENTO.pdf	22/11/2022 13:05:07	TASSIA CAROLINE DA COSTA MENDES	Aceite
Cronograma	CRONOGRAMA.pdf	22/11/2022 12:59:09	TASSIA CAROLINE DA COSTA MENDES	Aceite
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Declaracao_De_Manuseio_De_Material_Biologico.pdf	22/11/2022 12:54:33	TASSIA CAROLINE DA COSTA MENDES	Aceite
Outros	TCUDAssinado.pdf	22/11/2022 12:52:05	TASSIA CAROLINE DA COSTA MENDES	Aceite
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	22/11/2022 12:49:54	TASSIA CAROLINE DA COSTA MENDES	Aceite
Folha de Rosto	FolhadeRostoAssinada.pdf	18/11/2022 18:06:08	TASSIA CAROLINE DA COSTA MENDES	Aceite

Endereço: Rua Teresina, 4950

Bairro: Adrianópolis

UF: AM

Telefone: (92)3305-1181

CEP: 69.057-070

Município: MANAUS

E-mail: cep.ufam@gmail.com



UNIVERSIDADE FEDERAL DO
AMAZONAS - UFAM



Continuação do Parecer: 5.861.203

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

MANAUS, 23 de Janeiro de 2023

Assinado por:
Eliana Maria Pereira da Fonseca
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Teresina, 4950

Bairro: Adrianópolis

UF: AM

Município: MANAUS

Telefone: (92)3305-1181

CEP: 69.057-070

E-mail: oep.ufam@gmail.com



APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – TCLE

O Senhor (a) está sendo convidado a participar deste estudo intitulado “CARACTERIZAÇÃO CLÍNICO-PATOLÓGICA DO CEC PRIMÁRIO DE BOCA: UM ESTUDO TRANSVERSAL COM ÊNFASE NA CATEGORIZAÇÃO HISTOLÓGICA DOS ELEMENTOS TUMORAIS E ESTROMAIS”, sob responsabilidade da pesquisadora Tássia Caroline da Costa Mendes. O objetivo de estudo é caracterizar o perfil clínico-patológico do carcinoma escamocelular (CEC) primário de boca, com ênfase na descrição das características e das relações entre as células alteradas e o que está ao seu redor, lhes dando sustentação (elementos tumorais celulares e estromais). Por favor, leia este documento com bastante atenção antes de assiná-lo. Caso haja alguma palavra ou frase que o senhor (a) não consiga entender, converse com o pesquisador responsável pelo estudo ou com um membro da equipe desta pesquisa para esclarecê-los.

O(A) Sr(a). tem de plena liberdade de recusar-se a participar ou retirar seu consentimento, em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma. Para participar deste estudo o (a) Sr. (a) não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. E se eventualmente houver danos decorrentes dos riscos desta pesquisa, o pesquisador assumirá a responsabilidade pelo ressarcimento e pela indenização.

A sua participação será voluntária e consiste em autorizar que possamos ter acesso às informações pessoais contidas em seu prontuário e ficha de requisição de biópsia, como: sexo, idade, localização da lesão, laudo anatomopatológico, informações do pré, trans e pós-cirúrgico, informações sobre a continuidade do tratamento. A outra parte de sua autorização diz respeito ao acesso a(s) lâmina(s) histológica(s) e/ou bloco(s) de parafina referente ao exame histopatológico. A autorização para o acesso às lâminas e/ou aos blocos de parafina, independentemente do laboratório onde o material tenha sido processado, se faz necessária para a realização de cortes adicionais do material biológico, em vista de confecção de novas lâminas para a análise dos parâmetros histopatológicos da



pesquisa, sendo garantido, pelos pesquisadores, que não haverá esgotamento do material biológico (lâminas e/ou blocos), e que o remanescente será devolvido para o armazenamento no arquivo do laboratório de origem, conforme a sessão de “Amostras oriundas de laboratórios de patologia (Portaria MS nº 2.201 de 2011, Artigo 14º, Parágrafo 3º)”.

Asseguramos que as suas informações pessoais sejam mantidas em sigilo e, para isso, serão acessadas exclusivamente pelos participantes da equipe de pesquisa. Asseguramos também que o uso dos seus dados pessoais não acarretará prejuízo algum ao senhor ou a sua imagem, comprometendo-nos ainda em manter a confidencialidade das informações compartilhadas pelo senhor aos pesquisadores.

Segundo a resolução do CNS 466/2012 toda pesquisa com seres humanos envolve riscos, porém no presente estudo, os riscos são: a quebra de sigilo das suas informações pessoais, no entanto, nós, da equipe de pesquisa, asseguramos a total confidencialidade e sigilo das informações que nos forem repassadas, pois utilizaremos codificação de registros em computadores e/ou planilhas de acesso exclusivo dos pesquisadores, protegidos por senha. Outro possível risco é a quebra de lâminas histopatológicas durante a análise ao microscópio, visto que as mesmas são de vidro, mas garantimos que haverá extremo zelo e cuidado com a manipulação das mesmas. Com relação aos blocos de parafina que contenham amostras da lesão, também garantimos zelo e cuidado para manipulação e o não esgotamento das amostras, quando da confecção de novas lâminas. Também garantimos que o remanescente do(s) bloco(s) e a(s) lâmina(s) serão devolvidos para o armazenamento no arquivo do laboratório de origem.

São esperados os seguintes benefícios com esta pesquisa: não haverá benefício direto para o participante desse estudo, porém o estudo irá contribuir para melhoria na compreensão do diagnóstico de carcinomas escamocelulares primário de boca, por meio de avaliação de elementos células e de sua sustentação nos tecidos (elementos tumorais e estromais) a serem considerados no exame histopatológico de outros pacientes que venham a ser acometidos por essa mesma neoplasia epitelial. A não aceitação deste termo, não irá, de forma alguma influenciar ou alterar o seu tratamento e nem o seu relacionamento com a equipe médica e de apoio.



Se julgar necessário, o(a) Sr(a) dispõe de tempo para que possa refletir sobre sua participação, consultando, se necessário, seus familiares ou outras pessoas que possam ajudá-los na tomada de decisão livre e esclarecida.

Garantimos ao(à) Sr(a), e seu acompanhante quando necessário, o ressarcimento das despesas devido sua participação na pesquisa, ainda que não previstas inicialmente. O ressarcimento será realizado por meio de acordo entre as partes, sem que o senhor seja prejudicado.

Também estão assegurados ao(à) Sr(a) o direito a pedir indenizações e a cobertura material para reparação a dano causado pela pesquisa ao participante da pesquisa.

Asseguramos ao(à) Sr(a) o direito de assistência integral gratuita devido a danos diretos/indiretos e imediatos/tardios decorrentes da participação no estudo ao participante, pelo tempo que for necessário.

Garantimos ao(à) Sr(a) a manutenção do sigilo e da privacidade de sua participação e de seus dados durante todas as fases da pesquisa e posteriormente na divulgação científica.

O(A) Sr(a). pode entrar em contato com a pesquisadora responsável Tássia Caroline da Costa Mendes, a qualquer tempo para informação adicional na Faculdade de Odontologia da Universidade Feral do Amazonas – UFAM, no endereço: Avenida Ayrão, 1539, Praça 14 de Janeiro, Manaus/AM, pelo telefone (92) 3305-4924 ou email: tassiamendes19@gmail.com.

O(A) Sr(a). também pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal do Amazonas (CEP/UFAM) e com a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), quando pertinente. O CEP/UFAM fica na Escola de Enfermagem de Manaus (EEM/UFAM) - Sala 07, Rua Teresina, 495 – Adrianópolis – Manaus – AM, Fone: (92) 3305-1181 Ramal 2004 / (92) 99171-2496, E-mail: cep.ufam@gmail.com. O CEP/UFAM é um colegiado multi e transdisciplinar, independente, criado para defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos. Este documento (TCLE) será elaborado em duas VIAS, que serão rubricadas em todas as suas páginas, exceto a com as assinaturas, e assinadas ao



seu término pelo(a) Sr(a)., ou por seu representante legal, e pelo pesquisador responsável, ficando uma via com cada um.

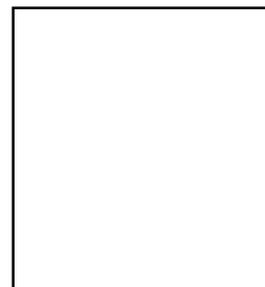
CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO

Li e concordo em participar da pesquisa.

Manaus, ____/____/____

Assinatura do Participante

Assinatura do Pesquisador Responsável



IMPRESSÃO DACTILOSCÓPICA



APÊNDICE B – FICHA DE COLETA DOS DADOS CLÍNICOS

1. Número do registro: _____ Data de Inclusão no projeto:
_____/_____/_____

2. Número do Prontuário: _____ Serviço de origem:

CONDIÇÕES SOCIOEDEMOGRÁFICAS

3. Idade do paciente: _____

4. Sexo do paciente: ____ Masculino ____ Feminino ____ Ignorado

5. Estado civil:

() Casado (a) () Divorciado (a) () Viúvo (a) () União estável () Solteiro (a)

6. Escolaridade:

- () Ensino fundamental incompleto
- () Ensino fundamental completo
- () Ensino médio incompleto
- () Ensino médio completo
- () Ensino superior incompleto
- () Ensino superior completo
- () Nunca estudou

7. Ocupação: () Trabalha () Não trabalha (desemprego) () Não trabalha (incapacitado)

8. Naturalidade: _____ Município onde reside: _____

9. Cor da pele

- () Leucoderma (branca)
- () Xantoderma (amarela)
- () Melanoderma (negra)
- () Feoderma (parda)
- () Não identificou

HISTÓRIA MÉDICA

10. Tabagismo: () Sim () Não

11. Etilista: () Sim () Não

12. Sinais e Sintomas

- () úlcera indolor
- () dor
- () dificuldade para mastigar
- () dificuldade para movimentar a língua
- () placas esbranquiçadas (gengiva, língua, palato e mucosa jugal)
- () não informado
- () Outro:

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E ANATOMOPATOLÓGICAS

13. Data do diagnóstico - Laudo anatomopatológico (ano): _____



14. Tipo de procedimento

cirúrgico: _____

15. Grau Histológico

- Bem diferenciado
- Moderadamente diferenciado
- Pouco diferenciado

16. Variante Histológica do CEC

- verrucoso
- basaloide
- fusiforme
- cuniculatum
- papilífero
- acantolítico
- adenoescamoso
- Linfoepitelial

17. Sítio anatômico da lesão

- lábio superior
- lábio inferior
- mucosa jugal
- língua
- gengiva
- assoalho bucal
- palato
- vestibulo
- orofaringe
- rebordo alveolar
- Outro:

18. Estadiamento patológico: pT_____ pN_____ pM_____

19. Tratamento solicitado no momento do diagnóstico

- radioterapia
- quimioterapia
- cirurgia
- cirurgia + radioterapia
- cirurgia + quimioterapia
- cirurgia + radioterapia + quimioterapia
- Outro:

20. Tempo de vida, após o diagnóstico, até a coleta dos dados (meses): _____

Continua vivo óbito Perda de acompanhamento Não disponível



APÊNDICE C – ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA DO CEC PRIMÁRIO DE BOCA

1. identificação

Número do registro: _____ Data de Inclusão no projeto: ____/____/____

Número do Prontuário: _____

Serviço de origem: _____

2. Características do Espécime

() Biopsia incisional () Biópsia excisional () Peça cirúrgica: _____

Localização da Lesão: _____

Estadiamento (CAP 2021) – Peças cirúrgicas

Procedimento: _____

Tamanho do tumor (Máximas dimensões em cm²): _____

Profundidade de Invasão (em mm) _____

Invasão Linfovascular:

() Não identificada () Presente () Não pode ser determinada

Invasão Perineural

() Não identificada () Presente () Não pode ser determinada

Pior Padrão de Invasão (WPOI)

() WPOI 5

() WPOI 1-4

Status das margens do tumor:

Linfonodos regionais (Número de linfonodos com tumor, lateralidade e tamanho do maior linfonodo):

Estadiamento patológico: _____

AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA

Área do tecido avaliado: _____



3. Classificação histopatológica do CEC (OMS)

Convencional

Grau histológico: () Bem diferenciado () Moderadamente diferenciado () Pouco diferenciado

Variante histológica:

- () verrucoso
- () basaloide
- () fusiforme
- () cuniculatum
- () papilífero
- () acantolítico
- () adenoescamoso
- () Linfoepitelial

ELEMENTOS TUMORAIS

4. Presença e grau de queratinização (Anneroth et al., (1987) e Bryne et al., (1992))

- () Grau 1: Altamente queratinizada (>50%)
- () Grau 2: Moderadamente queratinizada (20%-50%)
- () Grau 3: Queratinização mínima (5%-20%)
- () Grau 4: Sem queratinização (0%-5%)

Estimativa percentual: _____

5. Padrão de invasão (Anneroth et al., (1987) e Bryne et al.; (1992))

- () Grau 1: Bordas bem delineadas, empurrando a frente a área de infiltração
- () Grau 2: Cordões, bandas e/ou cordões sólidos e infiltrantes
- () Grau 3: Pequenos grupos de células ou cordões infiltrantes finos, não < 15 células
- () Grau 4: Invasão celular difusa e disseminada em células neoplásicas únicas ou em pequenos grupos de células, não > 15 células

6. Disposição do arranjo celular predominante (Libório et al., (2011))

- () Lençóis
- () Ilhas
- () Cordões
- () Ninhos
- () Células isoladas

7. Buddings tumorais (Wang et al (2011))

- () Alta intensidade de Budding tumoral
- () Baixa intensidade de Budding tumoral

Número de buds: _____

8. Pleomorfismo nuclear

8.1 Pleomorfismo nuclear em percentual (Anneroth et al., (1987) e Bryne et al., (1992))

- () Grau 1: Presente em menos de 25% das células
- () Grau 2: presente em 25%-50% das células
- () Grau 3: Presente 50% -75% das células



Grau 4: Presente em mais de 75% das células

Estimativa percentual: _____

8.2 Pleomorfismo nuclear quanto a caracterização (Grau de Nottingham (van Dooijeweert et al., 2016))

- Escore 1
- Escore 2
- Escore 3

9. Quantidade de mitoses por campo (400x) – (Grau de Nottingham (van Dooijeweert et al., 2016))

- Escore 1: ≤ 4 mitoses/10 HPF;
- Escore 2: 5-9 mitoses/10 HPF;
- Escore 3: ≥ 10 mitoses/10 HPF;

Número de Mitoses: _____

CARACTERÍSTICAS INTERMEDIÁRIAS

10. Relação Tumor-estroma (Van Pelt et al., (2018))

- RTE alta: $> 50\%$ da área do estroma
- RTE baixa: $\leq 50\%$ da área do estroma

Obs: (Relatar se há presença de agregados linfoides, musculatura estriada, presença de vasos, área de budding)

ELEMENTOS ESTROMAIS

11. Perfil de maturação do estroma (Almangush et al., (2021))

- Estroma maduro
- Estroma intermediário
- Estroma imaturo

12. Perfil de TILs (Almangush et al., (2021))

- Categoria estromal I: conteúdo estromal $< 50\%$ e TILs $> 20\%$
- Categoria estromal II: conteúdo estromal $\geq 50\%$ com TILs altos $> 20\%$ ou conteúdo estromal $< 50\%$ com TILs $< 20\%$
- Categoria estromal III: conteúdo estromal $\geq 50\%$ e TILs $< 20\%$



13. Perfil do infiltrado inflamatório peritumoral (Anneroth et al., (1987) e Bryne et al., (1992))

- Grau I - Marcado
- Grau 2: Moderado
- Grau 3: Discreto
- Grau 4: Ausente

CLASSIFICAÇÃO DE BRYNE

14. Escore de Bryne

Características Morfológicas/Escores	Pontuação
Grau de Queratinização	
Pleomorfismo nuclear	
Padrão de invasão	
Infiltrado linfoplasmocitário	
Somatória Geral _____ e divisão por 4 =	

- Baixos escores de malignidade: Pontuação entre 1,0 a 2,5;
- Altos escores de malignidade: Pontuação entre 2,6 a 4,0

APÊNDICE D - TABELA COM OS DADOS DE ELEMENTOS HISTOPATOLÓGICOS TUMORAIS E ESTROMAIS DOS 28 CASOS

Caso	Elementos tumorais						Característica intermediária	Elementos estromais			
	GC	PI	PN	DAC	BT	MC		RTE	ME	TIL's	IP
Paciente 1	Grau 1	Grau 4	Grau 4	Ilhas	Alta	Escore 3	Baixa	Intermediário	Categoria I	Grau 2	2,75 (Alto)
Paciente 2	Grau 2	Grau 4	Grau 3	Ninhos	Baixa	Escore 2	Baixa	Imaturo	Categoria I	Grau 2	2,75 (Alto)
Paciente 3	Grau 2	Grau 4	Grau 4	Cordões	Baixa	Escore 3	Baixa	Maduro	Categoria I	Grau 1	2,75 (Alto)
Paciente 4	Grau 3	Grau 2	Grau 4	Ilhas	Baixa	Escore 3	Baixa	Maduro	Categoria I	Grau 2	2,75 (Alto)
Paciente 5	Grau 2	Grau 3	Grau 4	Cordões	Baixa	Escore 3	Baixa	Intermediário	Categoria I	Grau 2	2,75 (Alto)
Paciente 6	Grau 1	Grau 2	Grau 2	Cordões	Alta	Escore 2	Baixa	Imaturo	Categoria II	Grau 1	1,5 (Baixo)
Paciente 7	Grau 2	Grau 3	Grau 3	Ilhas	Baixa	Escore 1	Baixa	Imaturo	Categoria I	Grau 2	2,5 (Baixo)
Paciente 8	Grau 2	Grau 2	Grau 3	Ilhas	Baixa	Escore 1	Baixa	Intermediário	Categoria I	Grau 3	2,5 (Baixo)
Paciente 9	Grau 2	Grau 3	Grau 4	Cordões	Baixa	Escore 2	Baixa	Imaturo	Categoria I	Grau 1	2,5 (Baixo)
Paciente 10	Grau 2	Grau 3	Grau 3	Cordões	Baixa	Escore 1	Alta	Imaturo	Categoria III	Grau 4	3 (Alto)
Paciente 11	Grau 1	Grau 4	Grau 3	Ilhas	Alta	Escore 1	Alta	Imaturo	Categoria II	Grau 3	2,75 (Alto)
Paciente 12	Grau 1	Grau 3	Grau 3	Ilhas	Baixa	Escore 1	Baixa	Imaturo	Categoria I	Grau 2	2,25 (Baixo)
Paciente 13	Grau 4	Grau 4	Grau 4	Ninhos	Alta	Escore 2	Baixa	Intermediário	Categoria I	Grau 2	3,5 (Alto)
Paciente 14	Grau 3	Grau 4	Grau 4	Ninhos	Alta	Escore 2	Baixa	Imaturo	Categoria I	Grau 1	3 (Alto)

Paciente 15	Grau 3	Grau 4	Grau 4	Ninhos	Alta	Escore 2	Alta	Imaturo	Categoria II	Grau 3	3,5 (Alto)
Paciente 16	Grau 3	Grau 3	Grau 4	Ilhas	Baixa	Escore 1	Alta	Imaturo	Categoria II	Grau 2	3 (Alto)
Paciente 17	Grau 3	Grau 3	Grau 3	Cordões	Baixa	Escore 1	Baixa	Maduro	Categoria I	Grau 2	2,75 (Alto)
Paciente 18	Grau 3	Grau 3	Grau 3	Cordões	Baixa	Escore 3	Alta	Maduro	Categoria II	Grau 2	2,75 (Alto)
Paciente 19	Grau 1	Grau 4	Grau 4	Ninhos	Alta	Escore 1	Alta	Imaturo	Categoria III	Grau 3	3 (Alto)
Paciente 20	Grau 3	Grau 1	Grau 3	Lençóis	Baixa	Escore 3	Baixa	Maduro	Categoria II	Grau 2	2,25 (Baixo)
Paciente 21	Grau 2	Grau 2	Grau 3	Ilhas	Baixa	Escore 2	Baixa	Intermediário	Categoria I	Grau 1	2 (Baixo)
Paciente 22	Grau 4	Grau 4	Grau 3	Cordões	Baixa	Escore 2	Alta	Maduro	Categoria III	Grau 3	3,5 (Alto)
Paciente 23	Grau 2	Grau 3	Grau 3	Cordões	Baixa	Escore 2	Baixa	Intermediário	Categoria II	Grau 1	2,25 (Baixo)
Paciente 24	Grau 2	Grau 4	Grau 3	Ninhos	Alta	Escore 2	Baixa	Imaturo	Categoria II	Grau 3	3 (Alto)
Paciente 25	Grau 3	Grau 3	Grau 3	Ninhos	Baixa	Escore 3	Alta	Maduro	Categoria III	Grau 3	3 (Alto)
Paciente 26	Grau 1	Grau 3	Grau 3	Cordões	Baixa	Escore 1	Alta	Intermediário	Categoria II	Grau 2	2,75 (Alto)
Paciente 27	Grau 1	Grau 3	Grau 3	Ilhas	Baixa	Escore 1	Baixa	Maduro	Categoria II	Grau 2	2,25 (Baixo)
Paciente 28	Grau 1	Grau 3	Grau 3	Lençóis	Baixa	Escore 1	Baixa	Imaturo	Categoria II	Grau 2	2,25 (Baixo)

APÊNDICE E – TABELAS CRUZADAS DA ANÁLISE ESTATÍSTICA

Tabela a. Estatística das associações entre elementos tumorais e Classificação histopatológica da OMS (n=28)

Elementos tumorais	Classificação histopatológica do CEC Baseada na OMS 2022.			p-valor ²
	Convencional: Bem diferenciado, N = 17 ¹	Convencional: Moderadamente diferenciado, N = 10 ¹	Convencional: Pouco diferenciado, N = 1 ¹	
Presença e grau de queratinização (Anneroth et al. 1987; Bryne et al. 1992)				0.013
Grau 1: Altamente queratinizada (>50%)	8 / 17 (47%)	0 / 10 (0%)	0 / 1 (0%)	
Grau 2: Moderadamente queratinizada (20%-50%)	6 / 17 (35%)	3 / 10 (30%)	1 / 1 (100%)	
Grau 3: Queratinização mínima (5%-20%)	3 / 17 (18%)	5 / 10 (50%)	0 / 1 (0%)	
Grau 4: Sem queratinização (0%-5%)	0 / 17 (0%)	2 / 10 (20%)	0 / 1 (0%)	
Padrão de invasão (Anneroth et al. 1987; Bryne et al. 1992)				0.12
Grau 1: Bordas bem delineadas, empurrando a frente a área de infiltração	0 / 17 (0%)	1 / 10 (10%)	0 / 1 (0%)	
Grau 2: Cordões, bandas e/ ou cordões sólidos infiltrantes	1 / 17 (5.9%)	2 / 10 (20%)	1 / 1 (100%)	
Grau 3: Pequenos grupos de células ou cordões infiltrantes finos, não < 15 células	10 / 17 (59%)	3 / 10 (30%)	0 / 1 (0%)	
Grau 4: Invasão celular difusa e disseminada em células neoplásicas únicas ou em pequenos grupos de células, não > 15 células	6 / 17 (35%)	4 / 10 (40%)	0 / 1 (0%)	
Disposição do arranjo celular predominante (Libório et al. 2011)				0.6
Lençóis	1 / 17 (5.9%)	1 / 10 (10%)	0 / 1 (0%)	
Ilhas	6 / 17 (35%)	3 / 10 (30%)	1 / 1 (100%)	
Cordões	7 / 17 (41%)	2 / 10 (20%)	0 / 1 (0%)	
Ninhos	3 / 17 (18%)	4 / 10 (40%)	0 / 1 (0%)	
Buddings tumorais (Wang et al. 2011)				0.8

Alta intensidade de Budding tumoral (5 ou mais buds)	6 / 17 (35%)	2 / 10 (20%)	0 / 1 (0%)	
Baixa intensidade de Budding tumoral (menos de 5 buds ou ausência)	11 / 17 (65%)	8 / 10 (80%)	1 / 1 (100%)	
Pleomorfismo nuclear (Anneroth et al. 1987; Bryne et al. 1992)				0.9
Grau 2: presente em 25%-50% das células	1 / 17 (5.9%)	0 / 10 (0%)	0 / 1 (0%)	
Grau 3: Presente 50% -75% das células	9 / 17 (53%)	7 / 10 (70%)	1 / 1 (100%)	
Grau 4: Presente em mais de 75% das células	7 / 17 (41%)	3 / 10 (30%)	0 / 1 (0%)	
Pleomorfismo nuclear Grau de Nottingham (van Dooijeweert et al. 2016)				>0.9
Escore 1	6 / 17 (35%)	4 / 10 (40%)	0 / 1 (0%)	
Escore 2	9 / 17 (53%)	5 / 10 (50%)	1 / 1 (100%)	
Escore 3	2 / 17 (12%)	1 / 10 (10%)	0 / 1 (0%)	
Quantidade de mitoses por campo - Aumento 400x diametro 0.65mm Grau de Nottingham (van Dooijeweert et al. 2016)				0.10
Escore 1: ≤12 mitoses/10 HPF;	9 / 17 (53%)	1 / 10 (10%)	1 / 1 (100%)	
Escore 2: 13-24 mitoses/10 HPF;	5 / 17 (29%)	5 / 10 (50%)	0 / 1 (0%)	
Escore 3: ≥ 25 mitoses/10 HPF;	3 / 17 (18%)	4 / 10 (40%)	0 / 1 (0%)	

¹ n / N (%)

² Teste Exato de Fisher

Tabela b. Estatística das associações de Pleomorfismo nuclear brotamentos tumorais (n=28)

Pleomorfismo nuclear (Anneroth et al. 1987; Bryne et al. 1992)	Brotamentos tumorais (Wang et al. 2011)		p-value ²
	Alta intensidade de Brotamento tumoral (5 ou mais buds), N = 8 ¹	Baixa intensidade de Brotamento tumoral (menos de 5 buds ou ausência), N = 20 ¹	
			0.036
Grau 2: presente em 25%-50% das células	1 / 8 (13%)	0 / 20 (0%)	
Grau 3: Presente 50% -75% das células	2 / 8 (25%)	15 / 20 (75%)	
Grau 4: Presente em mais de 75% das células	5 / 8 (63%)	5 / 20 (25%)	

¹ n / N (%)² Teste Exato de Fisher**Tabela c.** Estatística das associações de brotamentos tumorais e DAC (n=28)

Buddings tumorais (Wang et al. 2011)	Disposição do arranjo celular predominante (Libório et al. 2011)				p-valor ²
	Cordões, N =	Ilhas, N =	Lençóis, N =	Ninhos, N =	
	9 ¹	10 ¹	2 ¹	7 ¹	
Alta intensidade de Budding tumoral (5 ou mais buds)	0 / 9 (0%)	3 / 10 (30%)	0 / 2 (0%)	5 / 7 (71%)	0.008
Baixa intensidade de Budding tumoral (menos de 5 buds ou ausência)	9 / 9 (100%)	7 / 10 (70%)	2 / 2 (100%)	2 / 7 (29%)	

¹ n / N (%)² Teste Exato de Fisher**Tabela d.** Estatística das associações de Padrão de invasão e 2 elementos tumorais (n=28)

Elementos tumorais	Padrão de invasão (Anneroth et al. 1987; Bryne et al. 1992)				p-value ²
	Grau 1, N = 1 ¹	Grau 2, N = 4 ¹	Grau 3, N = 13 ¹	Grau 4, N = 10 ¹	
Disposição do arranjo celular predominante (Libório et al. 2011)					0.003
Cordões	0 / 1 (0%)	0 / 4 (0%)	7 / 13 (54%)	2 / 10 (20%)	
Ilhas	0 / 1 (0%)	4 / 4 (100%)	4 / 13 (31%)	2 / 10 (20%)	
Lençóis	1 / 1 (100%)	0 / 4 (0%)	1 / 13 (7.7%)	0 / 10 (0%)	
Ninhos	0 / 1 (0%)	0 / 4 (0%)	1 / 13 (7.7%)	6 / 10 (60%)	
Buddings tumorais (Wang et al. 2011)					<0.001
Alta intensidade de Budding tumoral (5 ou mais buds)	0 / 1 (0%)	1 / 4 (25%)	0 / 13 (0%)	7 / 10 (70%)	
Baixa intensidade de Budding tumoral (menos de 5 buds ou ausência)	1 / 1 (100%)	3 / 4 (75%)	13 / 13 (100%)	3 / 10 (30%)	

¹ n / N (%)² Teste Exato de Fisher

Tabela e. Estatística das associações de Perfil de TILs e PII (n=28)

Perfil de TILs (Almangush et al. 2021)	Perfil do infiltrado inflamatório peritumoral (Anneroth et al. 1987; Bryne et al. 1992)				p-value ²
	Grau 1: Marcado, N = 6 ¹	Grau 2: Moderado, N = 14 ¹	Grau 3: Discreto, N = 7 ¹	Grau 4: Ausente, N = 1 ¹	
					0.028
Categoria estromal I: conteúdo estromal < 50% e TILs > 20%	4 / 6 (67%)	8 / 14 (57%)	1 / 7 (14%)	0 / 1 (0%)	
Categoria estromal II: conteúdo estromal ≥ 50% com TILs altos > 20% ou Conteúdo estromal < 50% com TILs < 20%	2 / 6 (33%)	6 / 14 (43%)	3 / 7 (43%)	0 / 1 (0%)	
Categoria estromal III: conteúdo estromal ≥ 50% e TILs < 20%	0 / 6 (0%)	0 / 14 (0%)	3 / 7 (43%)	1 / 1 (100%)	

¹ n / N (%)² Teste Exato de Fisher**Tabela f.** Estatística das associações de Perfil de TILs e RTE (n=28)

Perfil de TILs (Almangush et al. 2021)	Relação Tumor estroma (Van Pelt et al. 2018)		p-valor ²
	RTE alta: > 50% da área do estroma, N = 9 ¹	RTE baixa: ≤ 50% da área do estroma, N = 19 ¹	
			0.008
Categoria estromal I: conteúdo estromal < 50% e TILs > 20%	0 / 9 (0%)	11 / 19 (58%)	
Categoria estromal II: conteúdo estromal ≥ 50% com TILs altos > 20% ou Conteúdo estromal < 50% com TILs < 20%	3 / 9 (33%)	8 / 19 (42%)	
Categoria estromal III: conteúdo estromal ≥ 50% e TILs < 20%	6 / 9 (67%)	0 / 19 (0%)	

¹ n / N (%); ² Teste Exato de Fisher