

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

REYDSON ALCIDES DE LIMA SOUZA

ANÁLISE PROTEÔMICA BASEADA EM ESPECTROMETRIA DE MASSAS NA TRANSFORMAÇÃO MALIGNA DO ADENOMA PLEOMÓRFICO

Piracicaba 2020

REYDSON ALCIDES DE LIMA SOUZA

ANÁLISE PROTEÔMICA BASEADA EM ESPECTROMETRIA DE MASSAS NA TRANSFORMAÇÃO MALIGNA DO ADENOMA PLEOMÓRFICO

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Estomatopatologia, na Área de Patologia.

Orientador: Prof^a Dr^a Fernanda Viviane Mariano Brum Corrêa

Este exemplar corresponde à versão final da dissertação defendida pelo aluno Reydson Alcides de Lima Souza e orientada pelo Profa. Dra. Fernanda Viviane Mariano Brum Corrêa.

> Piracicaba 2020

Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s): FAPESP, processo nº.: 2015/07304-0 FAPESP, processo nº.: 2019/06809-2

Ficha catalográfica Universidade Estadual de Campinas Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba Marilene Girello - CRB 8/6159

So89a	Souza, Reydson Alcides de Lima, 1994- Análise proteômica baseada em espectrometria de massas na transformação maligna do Adenoma Pleomórfico / Reydson Alcides de Lima Souza. – Piracicaba, SP : [s.n.], 2020.
	Orientador: Fernanda Viviane Mariano Brum Corrêa. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.
	1. Adenoma pleomorfo. 2. Neoplasias das glândulas salivares. 3. Proteômica. 4. Espectrometria de massa. 5. Carcinoma ex-adenoma pleomórfico. I. Mariano, Fernanda Viviane, 1984 II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Proteomic analysis based on mass spectrometry in the malignant transformation of Pleomorphic Adenoma Palavras-chave em inglês: Adenoma, pleomorphic Salivary gland neoplasms Proteomics Mass spectrometry Carcinoma ex pleomorphic adenoma Área de concentração: Patologia Titulação: Mestre em Estomatopatologia Banca examinadora: Fernanda Viviane Mariano Brum Corrêa [Orientador] Adriana Franco Paes Leme Cláudia Malheiros Coutinho Camillo Data de defesa: 27-07-2020 Programa de Pós-Graduação: Estomatopatologia

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a) - ORCID do autor: https://orcid.org/0000-0001-5045-6960 - Curriculo Lattes do autor: http://lattes.cnpq.br/4131092798683098



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS Faculdade de Odontologia de Piracicaba

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de Mestrado, em sessão pública realizada em 27 de julho de 2020, considerou o candidato REYDSON ALCIDES DE LIMA SOUZA aprovado.

PROF^a. DR^a. FERNANDA VIVIANE MARIANO BRUM CORRÊA

PROF^a. DR^a. CLÁUDIA MALHEIROS COUTINHO CAMILLO

PROF^a. DR^a. ADRIANA FRANCO PAES LEME

A Ata da defesa, assinada pelos membros da Comissão Examinadora, consta no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da Unidade.

Dedico esta dissertação à minha avó, **Severina Ferreira de Souza** que, durante o mestrado, virou minha anja da guarda. Em nossa despedida, a senhora falou que não me veria virar Doutor. Infelizmente a senhora não verá deste plano, mas aonde quer que eu vá, a senhora estará presente. A senhora existe em mim.

Te amo, Vovó!

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Deus,

Você que é fé, esperança e felicidade, obrigado por me guiar e nunca me abandonar. Por muitas vezes o caminho é árduo e sofrido, mas você tem o amor que preciso para superar qualquer adversidade. Eu sei que sempre poderei contar com você.

Gilvana de Lima Souza, Robson Alcides de Souza e Pamella de Lima Souza

Vocês são o motivo para eu continuar acreditando num futuro melhor. Vocês me dão força, alegria e esperança para seguir trilhando em busca dos meus sonhos. Obrigado por sempre me apoiarem e me incentivarem, independentemente das circunstâncias e por serem minha maior referência de amor. Obrigado por fazerem me sentir infinito. Amo vocês e tudo que fiz e tenho feito é por vocês.

Profa. Dra. Fernanda Viviane Mariano,

Palavras não são suficientes para expressar a admiração que tenho pela senhora. Um exemplo de pessoa e profissional além de ser uma fonte inesgotável de inspiração. É fascinante ver como a senhora dedica tanto amor e comprometimento por sua profissão. Sinto-me honrado em poder aprender e conviver com a senhora. Obrigado por todos os ensinamentos, conselhos, apoio e oportunidades. Obrigado por ter acreditado em mim mesmo nos momentos que não acreditei. Serei eternamente grato por ser professora, mãe acadêmica, amiga e família. Sou muito privilegiado em tê-la como orientadora e mais privilegiado ainda de tê-la em minha vida. Gratidão.

Maria Eduarda Pérez de Oliveira,

Dudão, eu sou muito privilegiado por ter você ao meu lado. Obrigado por me aceitar e me entender apesar de todas as minhas falhas. Você presenciou todas as minhas conquistas e derrotas e, em todos os momentos, me incentivou e me alegrou. Até mesmo quando estávamos a quilómetros de distância você se fez presente. Desde a UFPE seguimos de mãos dadas, o sucesso de um é o sucesso do outro. Obrigado por ser fonte de inspiração pessoal e profissional. Obrigado por ser amiga e confidente, obrigado por ser família. Eu te amo muito e sou muito grato por sua vida. Essa conquista é nossa.

Matheus Ferreira Linares,

Quem imaginaria que um simples conhecido da UFPE, se tornaria o irmão que nunca tive? Obrigado por toda preocupação, carinho e momentos de descontração. Obrigado por ser um ser humano cheio de luz, bondade e carisma. Sou muito grato por compartilhar os mais diversos momentos ao seu lado. Fico muito feliz em saber que essa irmandade vai além de Piracicaba. Obrigado por tudo, Matheus! Amo você.

Murilo Miranda Vasconcelos Viana,

Eu nunca conseguirei expressar o quanto você é especial para mim e o quanto sou grato por ter você em minha vida. Nos momentos de alegria e tristeza, você sempre esteve ao meu lado. Obrigado por nunca desistir de mim. Até mesmo quando tudo pareceu ficar estranho, você se fez presente. Eu já te disse várias vezes e direi novamente: Conta comigo! Independentemente de tempo ou distância, sempre estarei aqui. Amo você.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES)** - Código de Financiamento 001.

O presente trabalho foi realizado com apoio da **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)**, processos nº 2015/07304-0 e 2019/06809-2.

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, na pessoa de seu diretor, Prof. Dr. Francisco Haiter Neto.

À Coordenadoria de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, na pessoa da Profa. Dra. Karina Gonzales Silveiro Ruiz.

Ao **Programa de Pós-Graduação em Estomatopatologia**, pelo auxílio financeiro para realização deste trabalho, bem como todo suporte e acolhimento durante esses dois anos de Mestrado em nome do ex-coordenador Prof. Dr. **Márcio Ajudarte Lopes** e do atual coordenador, **Pablo Augustin Vargas**.

Aos Profs. Drs. Alan Roger dos Santos Silva, Edgard Graner, Jacks Jorge Júnior, Márcio Ajudarte Lopes, Pablo Augustin Vargas, Oslei Paes de Almeida e Ricardo Della Coletta, professores das áreas de Patologia e Semiologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba por todo suporte, comprometimento e ensinamentos.

Aos **Bruno Mariz**, **Débora Campanella Bastos** e **Renato Assis Machado** por todos esclarecimentos, sugestões e ajuda na elaboração deste trabalho.

À Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – FM-USP pela disponibilidade e prestação de serviços que tornaram este trabalho viável. Em especial à Natália Gomes Gonçalves, responsável pelo Laboratório de Patologia Molecular do Departamento de Patologia da FM-USP. Obrigado pela paciência e ensinamentos.

Ao **Laboratório Nacional de Biociências do Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais - LNBio - CNPEM** por tornarem este trabalho possível. Em especial à **Jamile Sá** por toda orientação e suporte durante todo o processamento. À **Romênia Domingues**, por toda paciência, suporte e esclarecimentos ao longo de toda a pesquisa. Sem sua ajuda, não conseguiria realizar este trabalho. Sou muito grato por toda dedicação e tempo disponibilizado a mim e ao projeto. À Dra. **Adriana Franco Paes Leme**, por toda disponibilidade e preocupação com a realização deste trabalho. Muito obrigado por me receberem tão bem, vocês foram fundamentais, gratidão!

Ao Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, que me recebeu de braços abertos. Obrigado por toda contribuição em minha formação. Agradeço também a todos os funcionários do Departamento, em especial à Ana Claudia Piaza, Ana Paula Godoy, Adilson Piaza, Arethuza Souza, Beth Giusti e Dario Bernardo Silva. Todos foram de fundamental importância para este trabalho e minha formação.

À professora **Albina Altemani** por ser um ser humano exemplar. Muito obrigado por todos os ensinamentos profissionais e pessoais. A senhora é uma referência e sou muito privilegiado e grato por poder aprender e conviver com a senhora.

À professora **Maria Letícia Cintra** por toda sua simpatia e doçura. Obrigado por todos os ensinamentos e pela oportunidade de trabalhar com a senhora. Ao professor **Fábio Rogério** por ser um exemplo de profissional e comprometimento. Muito obrigado por contribuírem em minha formação.

Ao Departamento de Oftalmologia e Otorrinolaringologia da FCM, em especial à equipe de Cabeça e pescoço. Ao prof. **Carlos Takahiro Chone** e aos residentes **Eduardo Couto, Jader Oliveira, Renato Caleffi** e **Gabriela Vallim** por todos os ensinamentos e pela experiência de acompanhar os atendimentos do Ambulatório de Otorrinolaringologia - Cabeça e Pescoço.

Aos colegas de turma que ingressaram no mestrado em 2018.2, Alexandro Azevedo, Ana Luiza Roza, Carolina Guimarães, Erison dos Santos, Joab Cabral, João Matheus e Pablyanne Guedes. Em especial à Ana Luiza Roza, Erison dos Santos e Joab Cabral, os quais tive mais contato e vínculo ao decorrer do mestrado. Obrigado por dividirem os mais variados momentos comigo.

A todos os alunos do Programa de Pós-Graduação em Estomatopatologia por esses dois anos de aprendizado e trocas de experiências. Em especial aos alunos que me receberam e acolheram tão bem quando ingressei na FOP, Amanda Leite, Anna Luiza Araújo, Bruno Mariz, Carla Rodrigues, Celeste Sánchez, Cinthia López, Ciro Dantas, Felipe Martins, Florence Cuadra, Gleyson Amaral, Iara Aquino, Jamile Sá, Jéssica Fonseca, João Scarini, Leonardo Reis, Luan César, Maria Eduarda Pérez, Paola Ariztizabal, Rachel Lamark, Raisa Sales Thayná Melo e Vivian Petersen e aos alunos que ingressaram depois de mim por toda parceria e cumplicidade desenvolvida, Alison Martelli, Brendo Louredo, Lauren Schuch, Lívia Crescencio e Matheus Linares.

À minha "Facção de Recife", Amanda Leite, Carla Rodrigues, Erison dos Santos, Gleyson Amaral, Maria Eduarda Pérez e Matheus Linares, e os demais vindos do "País Recife", Danielle Ferreira, Matheus Melo, Murilo Viana e Rafael Sales. Obrigado por serem um pedaço de Recife em Piracicaba.

Ao **João Scarini**, por ter me moldado e me ensinado toda a dinâmica da pós-graduação. Obrigado por ser colega de trabalho, amigo e irmão acadêmico. Sua garra e determinação me inspiram a ser um profissional melhor. Não sei o que seria de mim sem você nessa Pósgraduação, serei eternamente grato por tudo o que você fez e faz por mim. À **Lívia Crescencio**, minha irmã acadêmica que não foi tão desejada, na verdade não foi nada desejada. Entretanto, logo em nosso primeiro contato, uma bela irmandade se estabeleceu. Obrigado por toda amizade, confiança, motivação e por me colocar na linha sempre que necessário.

Eu nunca imaginei que ganharia irmãos na pós-graduação. Obrigado por todos os cafés, chocolates, dramas, surtos, brigas, risadas, aprendizado e cumplicidade. Amo vocês!

À **Anna Luiza Araújo**, por ter me recebido com tanto carinho ainda na seleção do mestrado. Desde então, uma bela amizade se estabeleceu. Obrigado por ter o melhor abraço da FOP e por ser esse ser humano que tanto admiro. À **Carla Rodrigues**, pela cumplicidade que começou na UFPE e nestes dois últimos anos, tal cumplicidade se transformou numa bela amizade. Obrigado por ser essa pessoa incrivelmente autêntica, engraçada e com um coração enorme. À **Cinthia López**, por toda sua doçura e sensatez. Obrigado por todas conversas, risadas e por encher nossas vidas com muita luz e energia positiva. À **Thayná Melo** por ser além de uma colega de trabalho, uma amiga que cativa todos ao seu redor com tamanha bondade e generosidade. Obrigado por todos os ensinamentos e sempre se mostrar presente. Vocês junto com a **Maria Eduarda Pérez** são as minhas 'beninas'. Obrigado por tornarem minha caminhada mais leve. Amo vocês!

Ao **Gleyson Amaral** e a **Danielle Ferreira**, por serem tão prestativos e carinhosos. Apesar de não termos contato direto na UFPE, vocês sempre foram referências. E aqui em Piracicaba, poder criar um laço de amizade com as pessoas que admirava desde a graduação é algo muito especial. Meu carinho e admiração por vocês cresce a cada dia. À **Amanda Leite**, uma amiga que fiz na UFPE e hoje tenho o prazer de conviver e ser colega de trabalho. Assim que entrei na monitoria Patologia Oral, vi que você era especial. Obrigado por ser fonte de inspiração desde a UFPE.

À **Jamile Sá** por ser uma pessoa que cativa todos ao seu redor com seu carisma e sua energia positiva. Obrigado por toda empatia, ternura e alegria que carrega consigo. À **Vivian Petersen**, minha maior surpresa nessa pós-graduação. Nunca imaginaria que aquela profissional que tanto admirava um dia se tornaria amiga. E quem diria que seriamos tão parecidos e que nos daríamos tão bem? Obrigado por topar tudo e sempre estar conosco mesmo distante fisicamente.

À Erika Egal, por ser uma pessoa tão autêntica e especial. Obrigado por sempre oferecer as mais belas palavras e por sempre estar disposta a ajudar o próximo. Erikita, você é um ser humano maravilhoso que transmite boas vibrações e alegria para todos ao seu redor. À Débora Campanella Bastos e ao Renato Assis Machado, obrigado por serem referências pessoais e profissionais. Obrigado por todos conselhos, risadas e cafés. A todos vocês, gratidão.

Aos colegas de trabalho da salinha de pós-graduação do DAP/FCM. À **Louyse Vizzoto (POC)**, apesar de todo risco iminente de morte em momentos que me faltou lucidez ao me sujeitar a utilizar o mesmo meio de transporte que você, sou muito grato por toda recepção, conversas e risadas. À minha conterrânea, **Renata Markman.** O pouco tempo que convivemos foi suficiente para despertar admiração e carinho pela pessoa e pela profissional que você é. À **Leisa Lopes** por toda ajuda e ensinamentos. Obrigado por todas as conversas e pelos momentos de descontração. À **Camilla de Angelis**, por todo suporte, conversas e ensinamentos. À **Fernanda Borges**, por toda empatia, amizade e sempre prover os melhores conselhos. Obrigado, também, por todos os chocolates e conversas que você, a **Ana Maria Castro** e o **Daniel Allen** me proporcionaram. A todos vocês, muito obrigado pelas boas risadas e companheirismo.

Aos alunos de iniciação científica do Laboratório de Patologia Molecular - LAPMOL, Anna Elisa Goebel, Giulia Benutto, Larissa Rosa, Lucas Alves, Murilo Serpa, Natália Rodrigues, Stephanie Oliveira e Wellington Sabino. Aprendi muito com cada um de vocês. Obrigado por me instigarem a ser um profissional melhor.

Ao meu avô, **Gabriel de Lima** e minhas avós **Maria Conceição de Lima** e **Severina Ferreira de Souza** (*In memorian*). Obrigado por toda educação e amor incondicional.

A todos os meus familiares, em especial as minhas tias e tios Ana Lúcia Mendes, Elvania Cristina, Flávio Silva, Gilson Lima, Henrique Lima, José Alcides de Souza, Marcela Alexandre, Márcia Guedes, Marcos Nicolau, Verônica Silva e Virgínia Silva, que estão sempre torcendo e me apoiando. Obrigado por todo amor e proteção. Adicionalmente, agradeço à **Verônica Silva** por ser um exemplo de força e superação. Amo todos vocês!

Às minhas primas, Luciana Helena Gomes e Aline Camilo de Souza, por serem figuras femininas tão importantes em minha vida. Admiro muito a força de vontade, determinação e a coragem de vocês. Ao meu primo Alex Souza por todo amor, compreensão e cumplicidade. Obrigado por toda representatividade que carrega consigo. Ao Raphael Roma e Marco Antônio Fontes, por todas as conversas, suporte e risadas. Eu amo vocês!

A todos os meus primos, em especial ao **Bruno Lima, Gleybson Guedes**, **Lucas Mendes** e **Kel Souza**. Obrigado por todas conversas, risadas e apoio.

Aos meus primos e sobrinhos, Larissa Silva, João Victor Andrade, Kauan Vinícius Andrade, Géssyka Guedes, Guilherme Mendes, Maria Manuela, Caíque Souza, Cauã Souza, Maria Fernanda e Pérola Guedes. Obrigado por encherem minha vida de luz e amor. Vocês me motivam a ser alguém melhor. Amos vocês!

Aos meus familiares de coração, Lourdes Andrade, Felipe Andrade, Erisval Santana, Marcia Belo, Graciese Belo e Geisiane Belo. Obrigado por todo carinho e zelo por mim. Amo vocês!

Às famílias que me adotaram e me acolheram tão bem, Família **Pérez de Oliveira** em nome do **Eduardo Oliveira**, **Fernanda Pérez** e **Maria Amanda Pérez**; Família **Miranda**, em nome da **Walnyce Miranda**; e Família **Ferreira**, em nome da **Valéria Ferreira**. Obrigado por todo incentivo, preocupação e carinho.

Ao **Matheus Melo**, que se tornou um grande amigo aqui em Piracicaba. Obrigado por ser essa pessoa carismática e generosa que se tornou família ao longo desses dois anos. À **Maria Amanda Pérez** (1002), por todos os risos e rolês aleatórios. Obrigado por toda sua autenticidade e por ser uma amiga para todas as horas. Amo vocês.

À família **Mariano** e **Brum Corrêa**, por serem tão acolhedores e generosos. Em especial ao **Benjamin Mariano**, por trazer muita luz e alegria ao longo desses dois anos de convivência. Obrigado, também, por me tornar "Tio" preferido.

Às minhas filhas, **Lilica** e **Luna**. Ainda não me acostumei chegar em casa e ser recebido por vocês. Sinto falta de ser acordado por vocês, dos seus latidos, das suas trelas e de todo carinho e amor que vocês dedicam a mim.

Ao prof. Jaciel Benedito de Oliveira, por ser minha primeira referência de profissional na UFPE. Desde o primeiro contato soube que queria ser um profissional como você. Obrigado por ser referência e por toda a representatividade que carrega consigo. À professora Maria de Fatima Galdino da Silveira Cavalcanti, por ser a primeira professora a me dar oportunidade na UFPE. Graças a senhora e a monitoria de Anatomia 1, pude perceber que estava destinado a seguir na carreira acadêmica. Gratidão.

À minha mãe da graduação, **Silvana Maria Orestes Cardoso.** Obrigado por me moldar durante a graduação e me proporcionar os mais diversos ensinamentos. Obrigado por toda cobrança e exigência, sempre soube que era para o meu crescimento profissional.

À toda esquipe do Laboratório de Patologia Oral da UFPE. Sou extremamente grato a todos vocês por me acompanharem e sempre me apoiarem a seguir na Patologia. A prof. Jurema Lisboa Freire de Castro por ser um exemplo de profissional e sempre se mostrar presente. Obrigado por todos os ensinamentos! À Prof. Elaine Judith Amorim de Carvalho, por despertar em mim, a paixão pela patologia. Obrigado por todos ensinamentos tanto acadêmicos quanto pessoais, obrigado por ser esse ser humano repleto de luz. Ao Prof. Danyel Elias da Cruz Pérez, por ter acredito e confiado mim. Obrigado por todas as oportunidades e por ter me moldado durante essa trajetória. Obrigado, também, por ser fonte de inspiração. Ao Augusto César Leonel Leal, por compartilhar comigo os mais diversos momentos e sempre ter acreditado e torcido por mim. A todos vocês, muito obrigado! Palavras não são suficientes para expressar o quanto sou grato a cada um. Obrigado por me guiarem e por me acolherem na Patologia Oral UFPE.

À equipe de Radiologia - UFPE, em especial as professoras **Andréa dos Anjos Pontual**, **Flávia Maria de Moraes Ramos-Perez**, **Maria Luiza dos Anjos Pontual**. Obrigado por todo apoio e incentivo. Eterna gratidão por essa equipe que me acolheu tão bem, vocês são fonte de inspiração.

À toda equipe da Dentística/Materiais Dentários UFPE, em especial aos professores **Daene Patrícia Tenório Salvador da Costa, Hilcia Mezzalira Teixeira, Oscar Felipe Fonseca de Brito** e **Renata Pedrosa Guimarães.** Obrigado por me aceitarem de braços abertos na equipe, mesmo sabendo da minha paixão pela patologia. Serei eternamente grato por toda torcida e apoio de vocês. Obrigado por me motivarem a seguir na carreira acadêmica.

Aos **Bichxs UFPE**, desde os que me acolheram aos que acolhi. Obrigado por me mostrarem, desde a graduação, que eu não estou só e que está tudo bem não e encaixar em padrões. Graças a vocês pude aprender mais sobre mim e sobre o quem eu quero me tornar. Obrigado por todas as conversas, ensinamentos, apoio e moderações. **Elaine Judite de Amorim Carvalho** (Madre) e **Fábio Barbosa de Souza** (Fabinho) obrigado por tornarem essa rede de apoio possível.

Aos amigos que me acompanham e torcem pelo meu sucesso e minha felicidade. Vocês são fonte de motivação. Obrigado por todo apoio, risadas e amizade. À **Priscilla Chaves** e **Letícia Melo**, por toda preocupação e lealdade. Obrigado por sempre estarem presente mesmo distante fisicamente. À **Weslay Rodrigues**, por toda irmandade e cumplicidade. Obrigado por ser um exemplo de determinação. Amo vocês.

À **Heloísa Cunha,** por ser um ser humano tão cheio de luz, lindo por dentro e por fora que se faz presente em todos os momentos. À **Letícia Maranhão**, por todas as conversas, risadas e bolos que comenos durante a quarentena. Obrigado pela companhia e amizade desenvolvida.

À Danielle Barros, Débora Franco e Karol Cruz, por toda amizade, companheirismo e paciência desde a graduação. Ao Adônis Quintas, Bruna Souza, Bruno Souza Leão, Camilla Gomes, Dayvson Santos, Emanuella Carvalho, Gabriela De Montreuil, Isabella Rodrigues, Kathyane Carvalho, Laíce Garcia, Natália Velozo, Sarah Souza, Rachel Pereira, Thais Farias e Thais silva por me agraciarem com tanta luz e por sempre comemorarem minhas vitórias. Amos vocês

À Ana Teresa Sales, Leydianna Teodosio e Cynthya Dias por estarem comigo desde o Ensino Médio. Obrigado por toda torcida e apoio, obrigado por sempre estarem comigo. Amo vocês.

Agradeço também ao **Breno Washington** pela amizade e cumplicidade. Obrigado por ter visto algo especial em mim e por sempre me motivar e acreditar que posso ser uma pessoa melhor. Embora nossos caminhos tenham tomado rumos diferentes, o carinho que sinto por você continua o mesmo.

EPÍGRAFE

"É tudo uma questão de "linhas" [...] Uma hora você tem que tomar uma decisão. As fronteiras não mantêm as pessoas para fora; elas te prendem dentro de si. A vida é confusa mesmo, é assim que fomos feitos. **Então você pode desperdiçar sua vida desenhando linhas ou então você pode viver cruzando-as**. Mas há algumas que são perigosas demais para serem cruzadas. E aí vai o que eu sei: se você estiver disposto a jogar a precaução pela janela e se arriscar, a vista do outro lado é espetacular."

Shonda Rhimes, em Grey's Anatomy

RESUMO

O Adenoma Pleomórfico (AP) representa a neoplasia mais comum das glândulas salivares. Apesar de ser uma lesão benigna, o AP pode apresentar recorrências, metástases e transformação maligna. Cerca de 6% dos casos transformam-se em um Carcinoma Ex-Adenoma Pleomórfico (CXAP). Por ser uma neoplasia incomum, a etiopatogênese do CXAP continua pobremente elucidada contudo, acredita-se que sua etiologia seja decorrente ao acúmulo de alterações genéticas e epigenéticas em um AP. No contexto de patologias, a análise proteômica auxilia para o maior entendimento dos eventos associado à carcinogênese. Baseado nestes aspectos, o objetivo deste estudo foi verificar e analisar a abundância de proteínas, por meio de espectrometria de massas, em casos de AP e CXAP e correlacionar com a transformação maligna do AP. Foram selecionados 30 casos de AP e CXAP fixados em formol e embebidos em parafina. Colorações imunoistoquímica e em hematoxilina e eosina foram performadas bem como cortes em lâminas de membranas específicas para posterior Microdissecção por captura a Laser (LCM). A microdissecção foi realizada em todas todos os casos selecionados e apenas células neoplásicas foram microdisseccionadas, coletadas e armazenadas a -80 °C. Posteriormente, apenas 10 amostras do AP, 16 amostras do CXAP e 4 amostras de AP residual (APR) seguiram para extração proteica e análise de Espectrometrias de Massas acoplada a cromatografia líquida (LC-MS/MS). A análise proteômica identificou e quantificou 240 proteínas ao todo. Foi realizado mapa de calor, agrupamento e análise dos componentes principais. Foram identificadas 39 proteínas exclusivas no AP, 4 no APR e 17 no CXAP e as proteínas CA2, AFDN e ATP3A2 foram propostas como assinatura proteica das lesões respectivamente. Em relação às proteínas compartilhadas, foram criados 6 subgrupos para avaliar a abundância das proteínas entre as lesões. Por meio das análises com e sem imputation, foram selectionadas proteínas que apresentaram diferenças estatisticamente significativas. Após analisar as redes de associações que as proteínas em cada subgrupo apresentaram, as três maiores valores de Log2-*ratio* > 2,5 (para regulação positiva) ou > -2,5 (para regulação negativa) na média de intensidade de quantificação livre de marcadores (LFQ) foram selecionados como possíveis marcadores. Em conclusão, demonstramos e analisamos o perfil proteômico do AP ao longo da sua transformação maligna baseado em MS. Adicionalmente, 15 proteínas (AFDN, AP1M1, APOA1, ATP2A3, CA2, DCD, FABP5, FLG, HBB, HP, IgJ, KRT16, MYH9, SLC4A1 e SYCP1) foram propostas como potencial para atuarem como marcadores, podendo algumas destas estarem associadas com a progressão ou supressão da transformação maligna do AP.

Palavras-chaves: Adenoma pleomórfico. Carcinoma ex-adenoma pleomórfico. Tumores de glândulas salivares. Proteômica. Espectrometria de massas. Carcinogênese.

ABSTRACT

Pleomorphic adenoma (PA) represents the most common neoplasm of salivary glands. Although being a benign lesion, PA can present recurrences, metastases and malignant transformation. About 6% of cases transform into a carcinoma ex-pleomorphic adenoma (CXPA). For being an unusual neoplasm, CXPA etiopathogenesis is still poorly elucidated, however, it is etiology is believed to be due to the accumulation of genetic and epigenetic alterations in PA. In the context of pathologies, proteomic analysis helps to better understand the events associated with carcinogenesis. Based on these aspects, the aim of this study was to verify and analyze the abundance of proteins, by means mass spectrometry, in cases of PA and CXPA and correlate with the malignant transformation of the PA. Thirty cases of AP and CXAP fixed in formaldehyde and embedded in paraffin were selected. Immunohistochemical stains and hematoxylin and eosin were performed as well as cuts in specific membrane slides for later laser capture microdissection (LCM). Microdissection was performed in all selected cases and only neoplastic cells were microdissected, collected and stored at -80 °C. Subsequently, only 10 PA samples, 16 CXPA samples and 4 residual PA (RPA) samples followed for protein extraction and liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). The proteomic analysis identified and quantified 240 proteins in total. A heat map, grouping and analysis of the main components was performed. Thirty-nine exclusive proteins were identified in the PA, 4 in the APR and 17 in the CXAP, and the proteins CA2, AFDN and ATP3A2 were proposed as protein signature of the lesions respectively. Regarding the shared proteins, 6 subgroups were created to evaluate the protein abundance among the lesions. Through the analyses with and without imputation, proteins that showed statistically significant differences were selected. After analyzing the networks of associations that the proteins in each subgroup presented, the three highest values of Log2-ratio > 2.5 (for positive regulation) or > -2.5 (for negative regulation) in the mean intensity of label-free protein quantification (LFQ). In conclusion, we demonstrate the proteomic profile of PA along its malignant transformation based on MS. Additionally, 15 proteins (AFDN, AP1M1, APOA1, ATP2A3, CA2, DCD, FABP5, FLG, HBB, HP, IgJ, KRT16, MYH9, SLC4A1 and SYCP1) were proposed as potential markers, some of which may be associated with the progression or suppression of malignant transformation of PA.

Keywords: Pleomorphic adenoma. Carcinoma ex pleomorphic adenoma. Salivary gland tumors. Proteomic. Mass spectrometry. Carcinogenesis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Fig. 1 Desenho experimental
- Fig. 2 Visualização das amostras pelo Palm RoboSoftware
- Fig. 3 Microdissecção por captura a Laser (LCM)
- Fig. 4 Componentes histológicos do AP
- Fig. 5 Componentes mioepiteliais do AP
- Fig. 6 Estromas e diferenciações encontrados no AP
- Fig. 7 Painel imunoistoquímico do AP
- Fig. 8 Subtipos histopatológicos do CXAP
- Fig. 9 APR presente nos CXAP
- Fig. 10 Proteínas identificadas e quantificadas nos três grupos
- Fig. 11 Dendrograma das proteínas identificadas
- Fig. 12 Mapa de agrupamento e calor nos grupos de estudo
- Fig. 13 Análise dos componentes principais
- Fig. 14 Rede de associação das proteínas exclusivas do AP
- Fig. 15 Rede de associação das proteínas exclusivas do APR

Fig. 16 - Rede de associação das proteínas exclusivas do CXAP

Fig. 17 - Seleção das proteínas-alvo do grupo das proteínas exclusivas

Fig. 18 - Mapa de calor e agrupamento das proteínas com $P \le 0.05$ na análise com *imputation*

Fig. 19 - Rede de associação das proteínas com $P \le 0.05$ entre os subgrupos na análise com *imputation*

Fig. 20 - Mapa de calor e agrupamento das proteínas com $P \le 0.05$ na análise sem *imputation*.

Fig. 21 - Rede de associação das proteínas com $\leq 0,05$ entre os subgrupos na análise sem *imputation*

Fig. 22 - Intensidade LFQ das proteínas candidatas para assinatura proteica na análise sem *imputation*.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- °C Grau celsius
- α -SMA α -actina de músculo liso
- µg Micrograma
- µl Microlitro
- µm Micrometro
- ACAN Proteína do núcleo de Aggrecan
- ACTN1 Alfa-actinina-1
- ACTR3 Proteína 3 relacionada à actina
- AE1/AE3 Citoqueratina AE1/AE3
- AFDN Afadin
- AHSP Proteína estabilizadora de alfa-hemoglobina
- ALAD Ácido delta-aminolevulínico desidratase
- ALB Albumina
- ALDH1A1 Desidrogenase da retina 1
- ALDH9A1 4-trimetilaminobutiraldeído desidrogenase
- ALDOA Aldolase A de frutose-bifosfato
- ANOVA Análise de variância
- ANXA Anexinas
- ANXA1 Anexina A1
- ANXA6 Anexina A6
- AP Adenoma Pleomórfico
- AP1M1 Subunidade complexa de AP-1 mu-1
- APOA1 Apolipoproteína A-I

APR - Adenoma Pleomórfico residual

ATP2A3 - ATPase 3 do cálcio do retículo sarcoplasmático/endoplasmático

AVAN - Estágio avançado de invasão

BSA - Albumina sérica bovina

C10orf112 - Proteína C10orf112 que contém o domínio da classe A do MAM e do receptor de LDL

CA2 - Anidrase carbônica 2

Ca²+ - Cálcio

CCT7 - Subunidade eta da proteína 1 do complexo T

CDH1 - Caderina-E

- CDS Carcinoma do Ducto Salivar
- CECO Carcinoma espinocelular oral
- CEM Carcinoma Epitelial-Mioepitelial

CEP162 - Proteína centrossômica de 162 kDa

CK14 - Citoqueratina 14

CK5/6 - Citoqueratina 5/6

CK7 - Citoqueratina 7

- CKB Creatina quinase tipo B
- cm centímetros
- CM Carcinoma Mioepitelial
- CMYA5 Proteína associada a cardiomiopatia 5
- COL6A2 Cadeia de colágeno alfa-2 (VI)
- COL6A3 Cadeia de colágeno alfa-3 (VI)
- CP Componentes principais
- CSRP1 Proteína rica em cisteína e glicina 1

CST4 - Cistatina-S

CTNNB1 - Beta catenina 1

CTSD - Catepsina D

- CXAP Carcinoma Ex Adenoma Pleomórfico
- PREC Estágio precoce de invasão
- CYP3A43 Citocromo P450 3A43

Da - Dalton

- DAB Diaminobenzidina tetra-hidroclorídrica
- DCD Dermicidina
- DDX39B RNA do spliceossoma helicase DDX39B

DMD - Distrofina

DNA - Ácido Desoxirribonucleico

E - Epitelial

- ECM1 Proteína 1 da matriz extracelular
- EIF5A Fator de iniciação da tradução eucariótica 5A-1
- EM Espectrometria de Massas
- EP Diferenciação epitelial
- ETV6 Translocação-Ets-leucemia vírus
- FABP5 Proteína 5 de ligação a ácidos graxos
- FDR Taxa de falso positivo
- FHIT Tríade histidina frágil
- FI Francamente invasivo
- Fig Figura
- FLG Filagrina

GANAB - Alfa-glucosidase neutra AB

- GBP1 Proteína de ligação a guanilato induzida por interferão 1
- GEO Gene Expression Omnibus
- GO Gene Ontology
- GOT2 Aspartato aminotransferase mitocondrial
- H1F0 Histona H1.0
- H202 Peróxido de hidrogênio
- HAPLN1 Proteína de ligação hialuronana e proteoglicana 1
- HBA1 Subunidade alfa da hemoglobina
- HBB Beta globina
- HDL lipoproteína de alta densidade
- HE Hematoxilina e eosina
- HIST1H1C Histona H1.2
- HIST1H2BN Histona H2B
- HMGA2 High mobility group protein gene
- HNRNPK Ribonucleoproteína nuclear heterogênea K
- HP Haptoglobina
- HRNR Hornerin
- HSPD1 Proteína de choque térmico de 60 kDa, mitocondrial
- IC Intracapsular
- Ig Imunoglobulina
- IGHA1 Constante alfa 1 pesada de imunoglobulina
- IGHG1 Região C da cadeia gama Ig-1
- IGHM Região C da cadeia Ig um

IGHV3-21 - Imunoglobulina pesada variável 3-21

- IgJ Cadeia J de imunoglobulina
- IGKC Região C da cadeia kappa de Ig
- ITGA2B Integrina alfa-Iib

IVL - Involucrin

Ki-67 - Proteína Ki-67

KRT7 - Queratina, citoesquelética 7 do tipo II

KRT8 - Queratina, citoesquelética 8 do tipo II

KRT14 - Queratina, citoesquelética 14 do tipo I

KRT16 - Queratina, citoesquelética 16 do tipo I

KRT31 - Queratina, Ha1 cuticular do tipo I

KRT77 - Queratina, citoesquelética 1b do tipo II

KRT78 - Queratina, citoesquelética 78 do tipo II

KRT80 - Queratina, citoesquelética 80 do tipo II

KRT81 - Queratina, Hb1 cuticular do tipo II

KRT84 - Queratina, cuticular Hb4 do tipo II

LAMB3 - Subunidade beta-3 da laminina

LAMC1 - Subunidade gama laminina-1

LCE1B - Envelope cornificado tardio 1B

LCE1C - Proteína de envelope cornificada tardia 1C

LCM - Microdissecção por captura a Laser

LC-MS/MS - Cromatografia líquida acoplada a Espectrometria de Massas sequencial

LCN1 - Lipocalina-1

LFQ - Quantificação de proteínas livre de marcadores

LGALS1 - Galectina-1

- LGALS7 Galectina-7
- LIFR Receptor do fator inibidor da leucemia
- LMNA Prelamina-A/C
- LPO Lactoperoxidase
- LUM Lumican
- M Mioepitelial
- M Mol
- MALT Tecido Linfoide Associado à Mucosa
- MAML2 Mastermind como coativador transcricional 2
- MDM2 Proto-oncogene MDM2
- METTL7A Proteína 7A do tipo metiltransferase
- MI Minimamente invasivo
- MIF Fator inibidor da migração de macrófagos
- Min Minuto
- MIO Diferenciação mioepitelial
- ml Milílitro
- mm Milímetro
- mM Milímol
- MRPS31 Proteína ribossômica 28S S31, mitocondrial
- MYH9 Miosina-9
- MYLK3 Quiose putativa de cadeia leve de miosina 3
- N Número
- NI Não informado

NIFB - Fator B do tipo nuclear 1

nl - Nanolitro

O2- - Superóxido

OMS - Organização Mundial de Saúde

OR3A3 - Receptor olfativo 3A3

P - Probabilidade de significância

P16 - Proteína p16

p63 - Proteína p63

PBS - Bolução tampão fosfato-salino

PFN1 - Profilina-1

PGAM1 - Fosfoglicerato mutase 1

pH - Potencial hidrogênico

PLAG1 - Gene do Adenoma Pleomórfico 1

PLEC - Plectina

PNP - Purina nucleosídeo fosforilase

POF1B - Proteína POF1B

PPI - Interação proteína-proteína

ppm - Partes por milhão

PRDX1 - Peroxiredoxina-1

PRSS1 - Tripsina-1

PRSS33 - Protease serina 33

PTX3 - Proteína relacionada à pentraxina PTX3

RASSF1A - Proteína 1 contendo o domínio de associação Ras

RNA - Ácido Ribonucleico

- RPL18 Proteína ribossômica 60S L18
- RPL7 Proteína ribossômica 60S L7
- RPN1 Dolichil-difosfooligossacarídeo subunidade 1 da proteína glicosiltransferase
- RPS11 Proteína ribossômica 40S S11
- RUNDC3B Proteína 3B contendo domínio RUN
- S100A2 Proteina S100-A2
- S100A7 Proteína S100-A7
- SEMG2 Semenogelina-2
- SERPINA3 Alfa-1-anticrimotripsina
- SFN 14-3-3 proteína sigma
- SLC4A1 Proteína de transporte de ânion da banda 3
- SNCA Alfa-sinucleína
- SOD Superóxidos dismutases
- SOD1 Superóxidos dismutases cobre-zinco
- SOD2 Superóxido dismutase [Mn], mitocondrial
- SOD3 Superóxidos dismutases extracelular
- SOE Sem outra especificação
- SPRR2D Proteína 2D rica em prolina pequena
- SPTB Cadeia beta de espectrina, eritrócito
- SSR4 Delta da subunidade proteica associada ao translocon
- SYCP1 Proteína do complexo sinaptonemal 1
- TFD Taxa de falsa descoberta
- TGS Tumores de glândulas salivares
- TGM3 Proteína-glutamina gama-glutamiltransferase E

- TOP3B Topoisomerase de DNA
- TP53 Gene Supressor De Tumor P53
- TPI1 Isomerase de triosefosfato
- TRAJ56 Junção alfa do receptor de células T 56
- TSPY26P Proteína do tipo codificada em Y putativa, específica de testículo

TTR - Transtiretina

- TUFM Fator de alongamento Tu, mitocondrial
- UBA1 Enzima ativadora de modificador semelhante à ubiquitina 1
- UBC Polubiquitina-C
- UTP14C Proteína 14 associada ao RNA nucleolar pequeno U3, homólogo C
- VCP Retículo endoplasmático de transição ATPase
- VIM Vimentina
- WFDC2 Proteína 2 do domínio principal de quatro dissulfetos WAP
- XP32 Proteína específica da pele 32
- YWHAB 14-3-3 proteína beta

LISTA DE TABELAS

 Tabela 1 - Classificação dos tumores de glândula salivar proposta pela OMS, 2017

Tabela 2 - Anticorpos primários, clones, recuperação antigênica, diluição e fabricantes

Tabela 3 - Área microdisseccionada em µm²

 Tabela 4 - Características clínicas de 5 pacientes cujas amostras de AP foram avaliadas neste

 estudo

Tabela 5 - Características microscópicas dos casos de AP

Tabela 6 - Características clínicas dos 12 casos de CXAP

Tabela 7 - Características microscópicas dos casos de CXAP

Tabela 8 - Proteínas compartilhadas entre os subgrupos com $P \le 0.05$ por meio da análise com *imputation*

Tabela 9 - Interações das proteínas $P \le 0,05$ compartilhas entre os subgrupos na análise com *imputation*

 Tabela 10 - Proteínas candidatas para criação de assinatura proteica pela análise com imputation

Tabela 11 - Proteínas compartilhadas entre os subgrupos com P $\leq 0,05$ por meio da análise sem *imputation*

Tabela 12 - Interações das proteínas $P \le 0.05$ compartilhas entre os subgrupos na análise sem *imputation*

 Tabela 13 - Proteínas candidatas para criação de assinatura proteica pela análise sem imputation

Sumário

1	INTRODUÇÃO		
2	REVISÃO DA LITERATURA		
	2.1 PROTEÔMICA BASEADA EM ESPECTROMETRIA DE MASSAS	33	
	2.2 TUMORES DE GLÂNDULAS SALIVARES	34	
	2.2.1 Adenoma Pleomórfico	38	
	2.2.2 Carcinoma Ex-Adenoma Pleomórfico	45	
3	PROPOSIÇÃO	52	
	3.1 PROPOSIÇÃO GERAL	52	
	3.2 PROPOSIÇÕES ESPECÍFICAS	52	
4	MATERIAL E MÉTODOS	53	
	4.1 SELEÇÃO DAS AMOSTRAS	53	
	4.2 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS	54	
	4.3 COLORAÇÃO HEMATOXILINA E EOSINA	55	
	4.4 IMUNOISTOQUÍMICA	55	
	4.5 PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS E MICRODISSECÇÃO A LASER	57	
	4.6 EXTRAÇÃO DE PROTEÍNAS E DIGESTÃO COM TRIPSINA	60	
	4.7 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE MASSAS	60	
	4.9 ANÁLISE BIOINFORMÁTICA	62	
5	RESULTADOS	63	
	5.1 RESULTADOS CLÍNICO-PATOLÓGICOS	63	
	5.1.1 Adenoma Pleomórfico	63	
	5.1.2 Carcinoma Ex-Adenoma Pleomórfico	71	
	5.2 RESULTADOS PROTEÔMICOS	76	
	5.2.1 Proteínas exclusivas	80	
	5.2.2 Proteínas compartilhadas	83	
	5.2.2.1 Com imputation		
	5.2.2.2 Sem imputation	95	
6	DISCUSSÃO	106	
7	CONCLUSÃO	121	
REFERÊNCIAS			
APÊNDICES			
Apêndice 1 - Características clínicas dos casos de AP149			

Apêndice 2 - Características clínicas dos casos de CXAP e APR150
Apêndice 3 - Proteínas identificadas e quantificadas por meio de LC-MS/MS151
Apêndice 4 - Proteínas exclusivas identificadas e quantificadas nos grupos estudados
Apêndice 5 - Processos biológicos envolvidos com as proteínas exclusivas do grupo AP176
Apêndice 6 - Processos biológicos envolvidos com as proteínas exclusivas do grupo APR e CXAP
após adição de proteínas intermediárias179
Apêndice 7 - Interações significativas após adição de proteínas intermediárias pela análise com
imputation
Apêndice 8 - Interações significativas após adição de proteínas intermediárias pela análise sem
imputation
Apêndice 9 - Resultados obtidos em amostras de AP e CXAP por MS
ANEXOS
Anexo 1 - Aprovação no Comitê de Ética FOP-UNICAMP218
Anexo 2 - Aprovação no Comitê de Ética FCM-UNICAMP
Anexo 3 - Verificação de originalidade e prevenção de plágio

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, o sufixo "omica" é empregado para incorporar diversas técnicas de pesquisa. Nos anos 90, em virtude do projeto genoma humano, houve uma ascensão na genômica, que diz respeito aos estudos dos genes e suas funções. Com base nessa linha de pesquisa, outras técnicas surgiram como o estudo do RNA mensageiro, transcriptoma, o estudo das proteínas, proteômica e o estudo dos metabólitos secundários, metabolômica. De modo geral, todas as "omicas" visam a identificação e a caracterização das biomoléculas (Ricroch, Bergé e Kuntz, 2011; Yakob et al., 2014; Redenšek, Dolžan e Kunej, 2018).

A análise proteômica é definida como um conjunto de metodologias analíticas empregadas para caracterizar, quali e quantitativamente, um proteoma, ou seja, por meio da análise proteômica é possível analisar e quantificar a heterogeneidade das isoformas, suas interações, localizações e modificações (Tyers e Mann, 2003; Bensimon e Heck, 2012). Diante de tais aspectos, no contexto de patologias, a análise proteômica é bastante promissora por permitir identificação da expressão proteica alterada, desenvolvimento de novos biomarcadores para diagnóstico e detecção precoce da doença, identificação de novos alvos terapêuticos e o bases para o desenvolvimento de medicamentos por meio de estratégias mais eficazes para avaliar o efeito terapêutico e a toxicidade (Hanash, 2003).

Dentre as metodologias proteômicas, a Espectrometria de Massas (MS) emerge como uma tecnologia fundamental para a interpretação da informação codificada pelos genes (Sadygov, Cociorva e Yates, 2004; Picotti, Bodenmiller e Aebersold, 2013). A MS tem como objetivo determinar os componentes de um proteoma por meio de separação de íons química e física e pela determinação da razão massa e carga dos peptídeos (Bensimon e Heck, 2012). A capacidade da MS em identificar e, cada vez mais, quantificar com precisão milhares de proteínas a partir de amostras complexas, tem gerado um impacto considerável nas ciências biológicas e médicas (Hanash, 2003; Aebersold e Mann, 2016). Assim, estudos que utilizam a proteômica baseada em MS contribuem para maior compreensão de determinados eventos fisiológicos e patológicos, bem como na identificação e caracterização de biomoléculas que podem atuar desde componentes estruturais a alvos-terapêuticos (Yakob et al., 2014; Carnielli et al., 2018).

Os tumores de glândulas salivares (TGS) constituem um importante grupo de neoplasias para a área da patologia oral e maxilofacial (Speight e Barret, 2002). São considerados entidades incomuns, representando cerca de 3-10% de todos os tumores de cabeça e pescoço (El-Naggar

et al., 2017). Atualmente, estes tumores têm uma incidência estimada entre 0,4 a 13,5 casos por 100.000 habitantes (Wang et al., 2015).

Apesar de serem incomuns, tais lesões constituem um grupo de neoplasias, benignas e malignas, com características clínicas e histopatológicas diversificadas e complexas, acarretando em dificuldades no estabelecimento do diagnóstico para o patologista (Bjorndal et al., 2011; Wagner et al., 2014; Mariz et al., 2019; Pérez-de-Oliveira et al., 2019a). Um dos maiores desafios para o estabelecimento do diagnóstico dos TGS diz respeito a grande variedade fenotípica que as células das glândulas salivares apresentam (Chitturi et al., 2015; Shah, Mulla e Mayank, 2016).

Dentre todas as neoplasias de glândulas salivares, tanto benignas quanto malignas, o Adenoma Pleomórfico (AP) é a mais comum. O AP é uma neoplasia benigna com características arquiteturais e histopatológicas variáveis (Kato et al., 2018; Pérez-de-Oliveira et al., 2019a). Apresenta uma incidência anual de 2-3,5 casos por 100.000 habitantes (Bell et al., 2017), representando de 47% a 54% de todos os TGS e de 68% a 82% de todos as neoplasias salivares benignas (da Silva et al., 2018; Sentani et al., 2019).

O AP representa a lesão benigna mais comum tanto nas glândulas salivares maiores quanto nas menores (Ito et al., 2009; Gao et al., 2017; Sentani et al., 2019). A maioria dos casos ocorre nas glândulas parótidas (Bell et al., 2017; Erickson et al., 2017). O AP pode acometer pacientes de qualquer idade, porém, apresentam um pico de incidência entre a terceira e sexta década de vida (Alves et al., 2002; Ito et al., 2009; Bell et al., 2017; Pérez-de-Oliveira et al., 2019a), com predileção pelo sexo feminino (Ito et al., 2009; Fonseca et al., 2012; Wang et al., 2015; Lopes et al., 2017; Pérez-de-Oliveira et al., 2019a).

Embora incomum, cerca de 6% desses casos de AP se transformam em um CXAP (Antony et al., 2012; Di Palma, 2013). Múltiplas recorrências, sexo masculino, idade avançada, radioterapia, localização e tamanho do tumor são os fatores de risco mais frequentemente relatados para o processo de malignização (Bell et al., 2017; Singh et al., 2017; Egal et al., 2018). De acordo com Di Palma (2013), a incidência da malignização aumenta com o tempo, passando de 1,5% em cinco anos para 10% após quinze anos. Adicionalmente, os casos de AP recorrente têm uma taxa de malignização em torno de 3% (Andreasen et al., 2017), sendo responsáveis por 12% de todos os casos de CXAP (Williams, Ihrler e Seethala, 2017).

O CXAP, ou tumor misto maligno, é uma entidade maligna originada dos componentes epiteliais e/ou mioepiteliais em um AP (Alternani et al., 2005; Antony et al., 2012; Williams,

Ihrler e Seethala, 2017). Por isso, faz-se necessário a identificação de componentes compatíveis com um AP ao exame histopatológico (AP residual - APR) ou história prévia de um AP para que uma lesão seja diagnosticada como um CXAP (Altemani et al., 2005; Mariano et al., 2013a; Okano et al., 2020). Adicionalmente, de acordo com a atual classificação de Tumores de Cabeça e Pescoço da OMS, o diagnóstico de CXAP não é autossuficiente. É imprescindível especificar o grau de invasividade e o subtipo histopatológico que a lesão assume (Williams, Ihrler e Seethala, 2017).

O CXAP é definido como um tumor agressivo com etiopatogênese pouco elucidada (Altemani et al., 2005; Mariano et al., 2013a). Acredita-se que o desenvolvimento deste tumor seja decorrente do acumulo de alterações genéticas e epigenéticas em um AP (Schache et al., 2010; Mariano et al., 2013b; Katabi et al., 2015).-Representa um tumor raro, com incidência de 0,63% casos por 1.000.000 habitantes (Gupta et al., 2019) correspondendo de 1,5% a 3,6% de todas as neoplasias de glândula salivar e 6,4 a 12% de todas as malignidades salivares (Fonseca et al., 2012; Williams, Ihrler e Seethala, 2017; da Silva et al., 2018). Apresenta predileção pelas glândulas salivares maiores, preferencialmente pelas parótidas (Mariano et al., 2013a; Hu et al., 2016; Gupta et al., 2019). O CXAP tende a acometer pacientes mais velhos do que os paciente com AP, com um pico de incidência entre a quinta e sétima década de vida e idade média variando de 45 a 67 anos de idade (Mariano et al., 2013a; Lim et al., 2015; Katabi et al., 2015; Hu et al., 2016; Egal et al., 2018; Okano et al., 2020; Scarini et al., 2020). A maioria dos estudos relatam predileção por pacientes do sexo masculino (Weiler et al., 2011; Lim et al., 2015; Hu et al., 2016; Suzuki et al., 2016; Gupta et al., 2019; Scarini et al., 2020).

Deste modo, é bom salientar que a carcinogênese é um evento complexo e multifatorial. Uma de suas vertentes é apoiada por alterações a nível molecular, tanto gênicas quanto proteicas. Baseado nesses aspectos, pesquisadores têm feito uso da proteômica com intuito de maiores esclarecimentos quanto o comportamento biológico dos TGS, bem como na identificação de marcadores diagnósticos e prognósticos (Mutlu et al., 2017; Fonseca et al., 2019).

Por ser uma técnica que fornece resultados promissores e somada a relevância clínica que o AP e CXAP representam, estudos que visam explanar e caracterizar o proteoma dessas lesões podem trazer respostas elucidativas quanto a etiopatogênese do CXAP. Assim, o objetivo deste estudo foi analisar por meio de espectrometria de massas a transformação maligna do AP.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 PROTEÔMICA BASEADA EM ESPECTROMETRIA DE MASSAS

Atualmente, o sufixo "omica" é empregado para incorporar diversas técnicas de pesquisa. Nos anos 90, em virtude do projeto genoma humano, houve uma ascensão da genômica, que diz respeito aos estudos dos genes e suas funções. Com base nessa linha de pesquisa, outras técnicas surgiram como o estudo do RNA mensageiro, transcriptoma, o estudo das proteínas, proteômica e o estudo dos metabólitos secundários, metabolômica. De modo geral, todas as "omicas" visam a identificação e a caracterização das biomoléculas (Ricroch, Bergé e Kuntz, 2011; Yakob et al., 2014; Redenšek, Dolžan e Kunej, 2018).

A proteômica vem ganhando bastante destaque nas últimas décadas pelo fato das proteínas atuarem como componentes estruturais e funcionais essenciais para o organismo (D'Souza e Saranath, 2018). O termo proteoma foi primeiramente descrito para designar o conjunto de proteínas codificados pelo genoma, assim, a proteômica inicialmente dizia respeito ao estudo das proteínas. Entretanto essa definição passou por modificações ao longo dos anos (Tyers e Mann, 2003).

Com mais de 20.000 genes codificantes no genoma humano, o processo de transcrição em moléculas funcionais é bastante complexo e controlado (Clamp et al., 2007). Do transcrito até a formação da proteína, há diversos fatores pós-transcricionais e pós-traducionais capazes de alterar o resultado. Assim, o conceito de proteômica atualmente engloba muito além do que o reconhecimento de proteínas. Engloba, também, a caracterização qualitativa e quantitativa das proteínas, as relações que exercem entre si e com sistema em que estão inseridas (Mallick e Kuster, 2010; Bensimon e Heck, 2012).

Com base no novo conceito de proteômica, a análise proteômica é definida como um conjunto de metodologias analíticas empregadas para caracterizar, quali e quantitativamente, um proteoma, ou seja, por meio da análise proteômica é possível analisar e quantificar a heterogeneidade das isoformas, suas interações, localizações e modificações (Tyers e Mann, 2003; Bensimon e Heck, 2012). Diante de tais aspectos, no contexto de patologias, a análise proteômica é bastante promissora por permitir identificação da expressão proteica alterada, desenvolvimento de novos biomarcadores para diagnóstico e detecção precoce da doença, identificação de novos alvos terapêuticos e bases para o desenvolvimento de medicamentos por meio de estratégias mais eficazes para avaliar o efeito terapêutico e a toxicidade (Hanash, 2003).

Dentre as metodologias proteômicas, a Espectrometria de Massas (MS) emerge como uma tecnologia fundamental para a interpretação da informação codificada pelos genes (Sadygov, Cociorva e Yates, 2004; Picotti, Bodenmiller e Aebersold, 2013). A MS tem como objetivo determinar os componentes de um proteoma por meio da separação iônica, química e física, e pela determinação da razão massa e carga dos peptídeos (Bensimon e Heck, 2012).

Atualmente, a maior parte dos estudos de proteômica baseada em MS fazem uso da MS sequencial (*Tandem* - MS/MS) ou reversa (*bottom*-up) (Walther e Mann, 2010; Bensimon e Heck, 2012). Neste tipo de abordagem, as proteínas são digeridas em peptídeos que são posteriormente separados por cromatografia líquida (LC), ionizados e transferidos para o espectrômetro onde são registrados os espectros de MS/MS dos fragmentos peptídicos. Devido a esses fragmentos, é possível caracterizar quanti e qualitativamente as sequências peptídicas e as proteínas das quais elas pertencem (Yates, Ruse e Nakorchevsky, 2009; Domon e Aebersold, 2010; Bensimon e Heck, 2012).

Com os avanços da LC acoplada a MS sequencial (LC-MS/MS) foi possível identificar e quantificar uma gama de marcadores (Kawahara et al., 2016; Flores et al., 2016; Huang et al., 2017). O papel da proteômica baseada em espectrometria vem atuando como uma ferramenta indispensável para a biologia molecular e celular. A capacidade da MS em identificar e, cada vez mais, quantificar com precisão milhares de proteínas a partir de amostras complexas, tem gerado um impacto considerável nas ciências biológicas e médicas (Hanash, 2003; Aebersold e Mann, 2016). Assim, estudos que utilizam a proteômica baseada na MS, contribuem para maior compreensão de determinados eventos fisiológico e patológicos, bem como na identificação e caracterização de biomoléculas que podem atuar desde componentes estruturais a alvos-terapêuticos (Yakob et al., 2014; Carnielli et al., 2018).

2.2 TUMORES DE GLÂNDULAS SALIVARES

Os tumores de glândulas salivares (TGS) constituem um importante grupo de neoplasias para a área da patologia oral e maxilofacial (Speight e Barret, 2002). São considerados lesões incomuns, representando cerca de 3-10% de todos os tumores de cabeça e pescoço (El-Naggar et al., 2017). Atualmente, estes tumores têm uma incidência estimada entre 0,4 a 13,5 casos por 100.000 habitantes (Wang et al., 2015). Para o ano de 2020, a Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC) estimou o desenvolvimento de 55.164 novos casos de malignidades salivares, sendo 1551 referentes apenas ao (Ferlay et al., 2019).

Apesar de serem incomuns, tais lesões constituem um grupo de neoplasias, benignas e malignas, com características clínicas e histopatológicas diversificadas e complexas, acarretando em dificuldades no estabelecimento do diagnóstico para o cirurgião-dentista e patologista (Bjorndal et al., 2011; Wagner et al., 2014; Mariz et al., 2019; Pérez-de-Oliveira et al., 2019a). Um dos maiores desafios para o estabelecimento do diagnóstico dos TGS diz respeito a grande variedade fenotípica que as células das glândulas salivares apresentam (Chitturi et al., 2015; Shah, Mulla e Mayank, 2016). Enquanto as células luminais apresentam morfologia cúbica ou colunar, as células mioepiteliais, ou abluminais, têm a capacidade de prover um vasto espectro de diferenciação citológica e de matriz extracelular (Redder et al., 2013; Chitturi et al., 2015, Shah, Mulla e Mayank, 2016).

Devido ao amplo espectro morfológico e arquitetural que essas células podem assumir e desenvolver, em conjunto com as células luminais, os TGS perfazem um grupo de neoplasias bastante heterogêneo (Speight e Barret, 2002; Simpson et al., 2014; Pusztaszeri e Faquin, 2015). Os TGS podem se originar nas células luminais, abluminais ou ambas (Sreeja et al., 2014; Chitturi et al., 2015). Apesar da diversidade celular e extracelular, patogênese molecular diversificada e comportamento biológico variável, muitos TGS são semelhantes histopatologicamente, o que torna o diagnóstico desafiador (Manosalva e Panwar, 2016; Salehi e Maleki, 2018).

Assim, a quarta edição da Classificação de Tumores de Cabeça e Pescoço da Organização Mundial de Saúde (OMS) (El-Naggar et al., 2017) objetivou padronizar e classificar os TGS de acordo com seu padrão arquitetural e comportamento biológico (Sethala et al., 2017; Sethala e Stenman, 2017; Kennedy et al., 2018). A atual classificação proposta pela OMS relatou mais de trinta lesões epiteliais primárias das glândulas salivares bem como tumores de tecido mole e proliferações epiteliais não neoplásicas que podem acometer as glândulas salivares (El-Naggar et al., 2017) (**Tabela 1**).

Natureza biológica	Lesão
Tumores malignos	Carcinoma mucoepidermoide
6	Carcinoma adenoide cístico
	Carcinoma de células acinares
	Adenocarcinoma polimorfo
	Carcinoma de células claras
	Adenocarcinoma de células basais
	Carcinoma intraductal
	Adenocarcinoma, SOE
	Carcinoma do ducto salivar
	Carcinoma mioepitelial
	Carcinoma epitelial-mioepitelial
	Carcinoma ex-adenoma pleomórfico
	Carcinoma secretório
	Adenocarcinoma sebáceo
	Carcinossarcoma
	Carcinoma pouco diferenciado
	Carcinoma indiferenciado
	Carcinoma neuroendócrino de grandes células
	Carcinoma neuroendócrino de pequenas células
	Carcinoma linfoepitelial
	Carcinoma de células escamosas
	Carcinoma oncocítico
	Potencial de malignização incerto
	Sialoblastoma
Tumores benignos	Adenoma pleomórfico
6	Mioepitelioma
	Adenoma de células basais
	Tumor de Whartin
	Oncocitoma
	Linfoadenoma
	Cistoadenoma
	Sialoadenoma papilífero
	Papilomas ductais
	Adenoma canalicular e outros adenomas ductais
Lesões epiteliais não-neoplásicas	Adenose policística esclerosante
	Hiperplasia oncocítica nodular
	Sialoadenite linfoepitelial
	Hiperplasia do ducto intercalado
Lesões benignas de tecidos moles	Hemangioma
	Lipoma/Sialolipoma
	Fascite nodular
Tumores hematolinfoides	Linfoma MALT

Tabela 1 - Classificação dos tumores de glândula salivar proposta pela OMS, 2017

SOE: Sem outra especificação. MALT: Tecido linfoide associado a mucosa
Os tumores podem acometer tanto as glândulas salivares maiores quanto as menores, entretanto a maioria dos casos ocorrem nas glândulas salivares maiores e variam de 51% a 86% dos casos (Ito et al., 2005; Gao et al., 2017; da Silva et al.; 2019, Sentani et al.; 2019).

Dentre as glândulas salivares maiores, as glândulas parótidas representam as glândulas mais frequentemente acometidas por esses tumores (Bjorndal et al., 2011; Vasconcelos et al., 2016; Sentani et al., 2019). A ocorrência de tumores nesta glândula varia de 40% a 80% dos casos (Tian et al., 2010; Wang et al., 2015; da Silva et al., 2018, Fu et al., 2019). As glândulas submandibulares representam o segundo grupo de glândulas salivares maiores mais acometidas pelos tumores, representando de 8% a 15% dos casos (Tian et al., 2010; da Silva et al., 2018; Sentani et al., 2019). As neoplasias das glândulas sublinguais são raras, sendo responsáveis por aproximadamente 1% dos casos (Tian et al., 2010; Wang et al., 2015; Gao et al., 2017). A incidência des neoplasias nas sublinguais é tão rara que alguns estudos epidemiológicos brasileiros não incluem TGS nesta localização em sua casuística (Ito et al., 2005; Fonseca et al., 2012; Vasconcelos et al., 2016; da Silva et al., 2018).

As glândulas salivares menores representam um importante grupo para o acometimento destes tumores. Em termos de incidência dos TGS, estas glândulas correspondem ao segundo grupo de mais comumente acometido (Speight e Barret, 2002; Sentani et al., 2019). Em conjunto, estas glândulas são responsáveis por 13-31% dos casos (Bjorndal et al.; 2011, Fonseca et al., 2012; Wang et al., 2015; da Silva et al., 2018). Em relação a localização, o palato é o local mais comumente acometido pelos TGS representando de 40%-83% de todos os casos nas glândulas salivares menores (Ito et al., 2005; Bjorndal et al., 2011; Wang et al., 2015; Gao et al., 2017).

De modo geral, os TGS apresentam predileção pelo sexo feminino (Ito et al., 2005; Tian et al., 2010; da Silva et al., 2018; Sentani et al., 2019) e a maioria dos casos surge entre a quinta e sexta década de vida (Bjorndal et al., 2011; Fonseca et al., 2012; Wang et al., 2015; Sentani et al., 2019). A ocorrência de TGS em pacientes pediátrico é baixa, correspondendo a menos de 5% de todos os casos (Agaimy, Iro e Zenk, 2017; Rebours et al., 2017; Xu et al., 2017; da Silva et al., 2018; Arboleda et al., 2020).

Cerca de 58% a 80% dos tumores de glândulas salivares são benignos, enquanto os tumores malignos correspondem de 20% a 42% (Tian et al., 2010; Fonseca et al., 2012; Wang et al., 2015; da Silva et al., 2018; Sentani et al., 2019). Por volta de 69% a 86% das neoplasias benignas acometem as glândulas parótidas, de 64% a 77% as submandibulares, de 7% a 25%

as glândulas sublinguais e de 38% a 54% as glândulas salivares menores. Aproximadamente de 14% a 31% dos tumores que afetam as parótidas são de natureza maligna. Já nas submandibulares, sublinguais e salivares menores, aproximadamente de 23% a 36%, 75% a 93% e 46% a 62% são malignas, respectivamente (Gao et al., 2017; da Silva et al., 2018; Sentani et al., 2019). Dentre os tumores que ocorrem no palato, de 46% a 66% são tumores benignos. Já as neoplasias que acometem a região retromolar e língua tendem a serem malignas e correspondem a 84,6% e 91,3% respectivamente (Sentani et al., 2019; Carlson e Schlieve, 2019).

As neoplasias benignas tendem a ocorrer em adultos entre a quarta e quinta década de vida, com discreta predileção para pacientes do sexo feminino. Aumento de volume de crescimento lento é a principal característica desse grupo de lesões (Ito et al., 2005; Abrahão et al., 2016). A maioria dos casos correspondem aos Adenomas, sendo o AP a neoplasia benigna mais comum (Bell et al., 2017; da Silva et al., 2018; Hellquist et al., 2019; Pérez-de-Oliveira, 2019a), seguida pelo Tumor de Whartin e o Adenoma Canicular (Vargas et al., 2008; Fonseca et al., 2012; Gao et al., 2017).

Os tumores malignos de glândulas salivares apresentam predileção por pacientes mais velhos quando comparados com as neoplasias benignas (Mariano et al., 2011a; Fu et al., 2019), com o pico de incidência entre a quarta e sexta década de vida (Lawal et al., 2015; El-Naggar et al., 2017; da Silva et al., 2018; Carlson e Schlieve, 2019). Apresentam uma leve predileção pelo sexo masculino com uma proporção de 1,1: 1 (homens:mulheres) (Fonseca et al., 2012). A presença de dor, paralisia facial, crescimento rápido, má definição da pele e infiltração cutânea são características sugestivas de malignidade (Carlson e Schlieve, 2019). Os carcinomas, neoplasias malignas de origem epitelial, perfazem a maioria dos casos, sendo o Carcinoma mucoepidermoide e o carcinoma adenoide cístico os mais comuns (Ettl et al., 2012; Lawal et al., 2015; Rebours et al., 2017; Carlson e Schlieve, 2019).

2.2.1 Adenoma Pleomórfico

O AP, ou tumor misto benigno, é a neoplasia de glândula salivar mais comum. Tal lesão é caracterizada por apresentar características histopatológicas variáveis (Alves et al., 2004; Patiargoo et al., 2014; Seethala, 2017; Kato et al., 2018; Pérez-de-Oliveira et al., 2019a). A identificação de componentes epiteliais e mioepiteliais é mandatória para o diagnóstico de AP (Bell et al., 2017; Lopes et al., 2017).

Sua etiologia está associada com alterações cromossômicas sendo classificada em quatro grupos: 1. Rearranjos cromossômicos envolvendo o cromossomo 8 (q12); 2. Rearranjos envolvendo o cromossomo 12 (q14-15); 3. Alterações clonais sem envolver o cromossomo 8 (q12) e 12 (q14-15); e 4. Cariótipo anormal (trissomia e/ou mosaicismo) (Bell et al., 2017; Mariano et al., 2020). Alterações envolvendo os genes *PLAG1 (Pleomorphic adenoma gene 1)* e o *HMGA2 (High mobility group protein gene)* são as mais comumente associadas ao processo de gênese do AP (Rotellini et al., 2014; Katabi et al., 2015; Bell et al., 2017).

Quando as translocações envolvem a região 8q12, os rearranjos frequentemente estão relacionados com troca ou substituição da região promotora do *PLAG1* por um gene parceiro ubiquitinado (*CTNNB1* e o *LIFR*) levando a super expressão (Matsuyama et al., 2011; de Brito et al., 2016). Quando os rearranjos ocorrem na região 12q14-15, o *HMGA2* é o gene alvo, tendo o *NFIB e o FHIT* como os principais parceiros. O evento crítico para a ativação do *HMGA2* parece ser a separação dos seus domínios ligantes ao DNA, levando a desregulação da expressão da oncoproteína HMGA2 (Katabi et al., 2015; Mito et al., 2017).

Interessantemente, um estudo recente evidenciou alterações no número de cópias no cromossomo 8 (ganhos e perdas), ganho do ETV6 no cromossomo 12 e amplificação dos genes MAML2 e LIFR. A amplificação destes dois últimos genes é um achado inédito no que diz respeito ao AP e aos tumores de glândulas salivares (Mariano et al., 2020). Tais dados revelam que apesar da crescente a busca para a melhor compreensão do AP, sua etiopatogenia continua pobremente esclarecida.

Apresenta uma incidência anual de 2-3,5 casos por 100.000 habitantes (Bell et al., 2017), representando de 47% a 54% de todos os TGS e de 68% a 82% de todos as neoplasias benignas das glândulas salivares (da Silva et al., 2018; Sentani et al., 2019). O AP representa a lesão benigna mais comum tanto nas glândulas salivares maiores quanto nas menores (Ito et al., 2009; Gao et al., 2017; Sentani et al., 2019). A maioria dos casos ocorre nas glândulas parótidas (Bell et al., 2017; Erickson et al., 2017), representando cerca de 50% a 67% de todas as localizações (Gao et al., 2017; da Silva et al., 2018). A glândulas salivares menores representam o segundo sítio de acometimento mais frequente (Fonseca et al., 2012; Wang et al., 2015; Sarmento et al., 2016; Vasconcelos et al., 2016), sendo as glândulas localizadas no palato as principais responsáveis pela maioria dos casos (Abrahão et al., 2016; Lopes et al., 2017; Wu et al., 2017;

40

Pérez-de-Oliveira et al., 2019a). Embora o AP seja a neoplasia benigna mais comum nas submandibulares e as sublinguais, tais glândulas são acometidas com menor frequência (Alves et al., 2002; Mantsopoulos et al., 2018; Sentani et al., 2019).

Apesar de incomum, o AP pode ocorrer em outras localizações, como traqueia (Kuo et al., 2011; Park e Sung, 2013; Sim et al., 2014), cavidade nasal (Kuo et al., 2011; Vento et al., 2016; Li et al., 2019), seios paranasais, nasofaringe (Li et al., 2019) e canal auditivo externo (Kou et al., 2011; Maruyama, Tokumaru e Kitamura, 2014). Nas glândulas lacrimais, entretanto, o AP representa a neoplasia epitelial mais frequente, representando aproximadamente 20% de todos os tumores que acometem estas glândulas (Kuo et al., 2011; Holstein et al., 2013; Andreasen et al., 2017, Harrison, Pittman e Cummings, 2018; Clarós et al., 2019).

O AP pode acometer pacientes de qualquer idade, porém, apresentam um pico de incidência entre a terceira e sexta década de vida (Alves et al., 2002; Ito et al., 2009; Bell et al., 2017; Pérez-de-Oliveira et al., 2019a), com média de idade variando de 45 a 50 anos de idade (Wu et al., 2016; Bell et al., 2017; Lopes et al., 2017; Espinosa et al., 2018). Embora os TGS sejam incomuns em crianças e adolescentes, o AP representa a neoplasia benigna mais comum nestas faixas etárias (Ellies e Laskawi, 2011; Alves et al., 2018; Dombrowski et al., 2019). Vários estudos mostram que o AP apresenta predileção pelo sexo feminino (Ito et al., 2009; Fonseca et al., 2012; Wang et al., 2015; Lopes et al., 2017; Pérez-de-Oliveira et al., 2019a), todavia, quando ocorrem em pacientes pediátricos, o sexo masculino é mais comumente acometido (Alves et al., 2018; Dombrowski et al., 2019).

Clinicamente, o AP se apresenta, na maioria das vezes, como um nódulo mucoso ou subcutâneo de consistência variando de fibroelástica a firme (Bell et al., 2017; Alves et al., 2018; Pérez-de-Oliveira et al., 2019b). Usualmente o AP é uma lesão solitária, entretanto lesões síncronas e mecatrônicas podem ocorrer (Bell et al., 2017). Devido a sua natureza benigna, tais lesões são caracterizadas pelo crescimento lento e progressivo, com tempo de evolução variando de meses a anos, podendo ocasionar em assimetria facial (Rout e Lath et al., 2013; Rai et al., 2018). Os tumores localizados nas glândulas salivares maiores podem ser móveis ou fixos, dependendo do lobo ou lóbulo que a lesão se desenvolve (Dombrowski et al., 2019), já os APs que se manifestam no palato tendem a ser fixos devido a localização (Patiargoo et al., 2014; Alves et al., 2018; Pérez-de-Oliveira et al., 2019a). A maioria dos casos é indolor e quando apresentam sintomatologia dolorosa, na maioria dos casos, tal sintoma é resultante da compressão de estruturas adjacentes (Korba et al., 2017; Mariz et al., 2019). Ulceração e

sangramento também podem ser observados no AP, principalmente os localizados no palato (Patiargoo et al., 2014).

Macroscopicamente, o AP é bem delimitado e encapsulado (Alves et al., 2002, Alves et al., 2018; Pérez-de-Oliveira et al., 2019a). Pode apresentar lóbulos revestidos por cápsula de tecido fibroso com espessura variável. Ao corte, a superfície é homogênea com coloração oscilando entre o esbranquiçado ao amarronzado com ou sem traços de tecido condróide (Bell et al., 2017; Dombrowski et al., 2019). Quando o tecido cartilaginoso está presente, é possível identificar material com a superfície homogênea de aspecto brilhoso. O estroma mixóide, por sua vez, se apresenta esbranquiçado e gelatinoso (Skálová et al., 2012; Urs et al., 2019). Alterações císticas e degenerativas podem ser encontradas ao exame macroscópico. Áreas de hemorragia e necrose também podem ser evidenciadas, em geral secundariamente a aspiração por agulha fina prévia (Seethala, 2014; Wagner et al., 2014).

Histopatologicamente, o AP é caracterizado por exibir uma variação de padrões epiteliais e mesenquimais, além da presença de secreção e diversos tipos de diferenciação e metaplasia (Mariano et al., 2011b; Skalova et al., 2012; Triantafyllou et al., 2015; Lopes et al., 2017). A bipopulação celular é uma característica típica, porém não exclusiva, do AP (Alves et al., 2002; Bell et al., 2017; Alves et al., 2018). As células luminais assumem fenótipo epitelial, enquanto as células abluminais, mioepiteliais, assumem fenótipo mesenquimal (Triantafyllou et al., 2015). As células luminais se estabelecem em diversos padrões, sendo o padrão ductal o mais frequentemente observado. Além desse padrão, tais células podem se organizar em padrão epitelial-mioepitelial, estruturas císticas e ilhas ou cordões de células epiteliais (Ito et al., 2009; Pérez-de Oliveira et al., 2019a). A grande quantidade de células epiteliais se arranjando em forma de ilhas e/ou cordões confere uma arquitetura sólida ao tumor (Satpathy et al., 2014; Wu et al., 2016). Células oncocíticas (Di Palma et al., 2007; Mariano et al., 2011b; Ito et al., 2020), células mucosas, proliferação intraductal e padrão ameloblastomatoso-like (Bell et al., 2017; Pérez-de-Oliveira et al., 2019a) também podem ser observados.

As células mioepiteliais perfazem grande parte do parênquima tumoral e acredita-se que sejam as principais responsáveis pela grande diversidade arquitetural que o AP exibe (Trintafyllou et al., 2015; Pérez-de-Oliveira et al., 2019a). Morfologicamente, as células mioepiteliais podem apresentar-se como células fusiformes, claras, anguladas, estreladas, poligonais, basaloides, epitelioides e plasmocitóides (Ito et al., 2009; Lopes et al., 2017; Bell et al., 2017). Diversos tipos de estromas são referidos no AP. Áreas com depósitos de material mucoso entre as células tumorais conferem um aspecto mixóide. O estroma condroide, por sua

vez, é caraterizado pela degeneração vacuolar das células mioepiteliais. Regiões com alterações eosinofílicas representam o estroma hialino (Ito et al., 2009; Satpathy et al., 2014; Wu et al., 2016; Pérez-de-Oliveira et al., 2019a). Embora sejam menos comuns do que os anteriormente citados, outros tipos de diferenciações podem ser encontradas, como diferenciação fibrosa, adiposa, óssea, sebácea e apócrina (Trintafyllou et al., 2015; Pérez-de-Oliveira et al., 2019a).

Adicionalmente, o AP pode apresentar outras estruturas como metaplasia escamosa (Alves et al., 2002; Lopes et al., 2016), cisto epidermoide (Urs et a., 2019), degeneração cística (Lopes et al., 2017), cristaloides colágenos, cristaloides ricos em tirosina (Skalova et al., 2012; Trintafyllou et al., 2015; Okano et al., 2019) e calcificação distrófica (Pérez-de-Oliveira et al., 2019a). As células mucosas podem estar dispostas frouxamente no estroma ou estarem arranjadas num padrão acinar (Trintafyllou et al., 2015). Algumas vezes, áreas de fibrose e necrose podem ser visualizadas no AP, entretanto este achado está geralmente relacionado a punções prévias (Wagner et al., 2014).

Skalova e colaboradores (2012) encontraram depósitos tumorais intravasculares numa série de vinte e dois casos de AP, porém, tal achado não foi associado com recorrência ou metástase tumoral, sendo este achado ainda pouco elucidado. O tumor apresenta uma cápsula de tecido conjuntivo fibroso que pode estar integra ou não. Os APs das glândulas salivares menores tendem a ser parcialmente encapsulados, principalmente os localizados no palato (Alves et al., 2002; Lopes et al., 2016; Pérez-de-Oliveira et al., 2019a). O índice de proliferação celular (Ki-67) nestes tumores é usualmente baixo, variando de 0,06% a 12% (Mariano et al., 2015a; Díaz et al., 2019). Mitoses e pleomorfismo são achados infrequentes (Bell et al., 2017; Pérez-de-Oliveira et al., 2019a).

O padrão ouro para o tratamento do AP é a excisão cirúrgica. O tipo de cirurgia varia de acordo com a glândula afetada (Abu-Ghanem et al., 2016; Dombrowski et al., 2019). Para os tumores localizados nas parótidas algumas modalidades terapêuticas foram descritas sendo a parotidectomia, dissecção extracapsular e enucleação as mais relatadas (Collela, Cannavale, Chiodini, 2015; Mc Loughlin et al., 2019). O tipo da Parotidectomia, superficial ou total, depende da localização do tumor na glândula. Na maioria dos casos, a parotidectomia superficial tem sido empregada, tendo em vista que a maioria dos adenomas surgem no lobo superficial da parótida (Espinosa et al., 2018). Alguns casos, entretanto, necessitam de uma parotidectomia total (Bell et al., 2017; Schapher et al., 2019). O uso da radioterapia no tratamento do AP é controverso devido ao potencial de malignização (Singh et al., 2017).

A dissecção extracapsular, remoção da lesão com tecido saudável sem envolvimento do nervo facial, é outra modalidade que se tornou mais comum ao longo dos anos (Xie et al., 2015). Não há um consenso sobre qual técnica, parotidectomia superficial ou dissecção extracapsular, apresenta melhores resultados prognósticos (Kadletz et al., 2017; Schapher et al., 2019; Martin, Jayasinhe e Lowe et al., 2020). Para os casos que ocorrem nas submandibulares e sublinguais, a excisão do tumor junto com a glândula é indicada (Sun et al., 2010; Mantsopoulos et al., 2018). Para os casos que afetam as glândulas salivares menores no palato, a excisão é feita abaixo do periósteo, e para os demais casos nas glândulas salivares menores a enucleação se mostra resolutiva (Sun et al., 2010; Glikson et al., 2018).

O AP é um tumor que apresenta propensão a recorrência local com taxas variando de 0,1% a 0,4% após a parotidectomia total e de 0,2% a 5% após parotidectomia superficial e a dissecção extracapsular (Colella, Cannavale e Chiodini, 2015; Dulguerov et al., 2017; Mc Loughlin et al., 2019). A enucleação, entretanto, é uma técnica cirúrgica que está em desuso nas glândulas salivares maiores devido ao alto risco de recorrência (Colella, Cannavale e Chiodini, 2015; Dombrowski et al., 2019), apresentando taxas que oscilam de 0,8% a 35% (Colella, Cannavale e Chiodini, 2015).

A recorrência ocorre em torno de dois a vinte anos após a cirurgia inicial (Soares, Altemani e Araújo, 2011; Glikson et al., 2018) e acredita-se que este evento esteja relacionado com fatores biológicos da lesão e ao tratamento empregado (Soares, Altemani e Araújo, 2011; Kiciński, Mikaszewski e Stankiewicz, 2016; Schapher et al., 2019). Em relação aos fatores associados a lesão, o estroma mixóide, espessura ou ausência da cápsula, pseudopodia, nódulos satélites, tamanho e tempo de evolução do tumor estão bem definidos na literatura (Soares, Altemani e Araújo, 2011; Colella, Cannaale e Chiodini, 2015; Zbären et al., 2013; Witt et al., 2015; Abu-Ghanem et al., 2016; Dulguerov et al., 2017).

A remoção incompleta da lesão, violação da cápsula, derramamento do tumor com disseminação para o campo cirúrgico, margens comprometidas pelo tumor e falta de margens de segurança são listados como características referentes ao tratamento (Colella, Cannaale e Chiodini, 2015; Abu-Ghanem et al., 2016; Andreasen et al., 2016; Kiciński, Mikaszewski e Stankiewicz, 2016; Dulguerov et al., 2017; Espinosa et al., 2018).

Pacientes jovens e mulheres, também parecem ser fatores de risco para recorrência desses tumores (Soares, Altemani e Araújo, 2011; Abu-Ghanem et al., 2016; Andreasen et al., 2016; Dulguerov et al., 2017; Espinosa et al., 2018). Todavia, não se sabe se estes dois aspectos

realmente apresentem risco de recorrência ou são eventos casuais pelo fato da maioria dos casos de AP acometerem o sexo feminino e de que pacientes mais jovens têm mais tempo para desenvolver recorrências quando comparados aos paciente mais velhos (Soares, Altemani e Araújo, 2011).

O AP recorrente é caracteristicamente uma lesão multinodular, e apresenta-se, histopatologicamente indistinguível de um AP primário (Soares, Altemani e Araújo, 2011; Witt et al., 2015). Ele tende a recorrer mais de uma vez, necessitando de múltiplas cirurgias, o que pode ocasionar um risco elevado para danificação do nervo facial e transformação maligna (Abu-Ghanem et al., 2016; Andreasen et al., 2016; Schapher et al., 2019). O risco de malignização parece estar associado com a quantidade de recorrências, ou seja, quanto maior o número de recorrências, maior a probabilidade de malignização (Soares, Altemani e Araújo, 2011; Andreasen et al., 2016).

Cerca de 6% de todos os casos AP se transformam em um CXAP (Antony et al., 2012; Di Palma, 2013). Múltiplas recorrências, sexo masculino, idade avançada, radioterapia, localização e tamanho do tumor são os fatores de risco mais frequentemente relatados para o processo de malignização (Bell et al., 2017; Singh et al., 2017; Egal et al., 2018). De acordo com Di Palma e colaboradores (2013), a incidência da malignização aumenta com o tempo, passando de 1,5% em cinco anos para 10% após quinze anos. Adicionalmente, os casos de AP recorrente têm uma taxa de malignização em torno de 3% (Andreasen et al., 2017), sendo responsáveis por 12% de todos os casos de CXAP (Williams, Ihrler e Seethala, 2017).

O AP metastático ou AP metastático benigno é definido como um AP histologicamente benigno que se manifesta, inexplicavelmente, como metástases locais ou distantes (Gnepp, 2005). Devido a raridade desta lesão, pouco se sabe sobre seu curso clínico e prognóstico (Knight e Ratnasingham, 2015). Acredita-se que alterações genéticas podem estar relacionadas com o desenvolvimento desta lesão. Mariano e colaboradores (2015b), ao comparar um AP primário com um metastático, encontraram um padrão específico de alterações no número de cópias que poderiam explicar a capacidade de metástase. É uma lesão bastante controversa, pois apresenta histologia benigna com comportamento maligno (Knight e Ratnasingham, 2015; Bell et al., 2017; Wasserman et al., 2019; Shoukair et al., 2020). A maioria dos autores acredita que sua etiologia esteja relacionada a iatrogenia no momento da cirurgia do AP primário (Mariano et al., 2015b; Wasserman et al., 2019; Shoukair et al., 2020), entretanto casos de AP metastático foram descritos sem histórico de cirurgias prévias (Knight e Ratnasingham, 2015). O termo AP metastático benigno é visto como oxímoro (Steele, Wenig e Sessions, 2007) e não há um consenso se a lesão é de natureza benigna ou maligna (Shoukair et al., 2020). O estudo de Knight e Ratnasingham (2015) evidenciou que o AP metastático tem uma predileção pelo sexo feminino, média de idade de 50 anos e um intervalo de 15 anos entre o AP primário e a metástase. A maioria dos casos foram diagnosticados nos ossos, pulmões e linfonodos cervicais (Knight e Ratnasingham, 2015; Bell et al., 2017; Wasserman et al., 2019; Shoukair et al., 2020). Pacientes mais jovens e múltiplas recorrências foram sugeridos como fatores de risco para o desenvolvimento da lesão metastática. Aproximadamente 90 casos foram relatados na literatura desde a sua descoberta (Shoukair et al., 2020). A raridade da lesão somado a falta de acompanhamento dificultam o conhecimento do prognóstico desta entidade (Knight e Ratnasingham, 2015).

2.2.2 Carcinoma Ex-Adenoma Pleomórfico

O CXAP, ou tumor misto maligno, é uma entidade maligna originada dos componentes epiteliais e/ou mioepiteliais em um AP (Altemani et al., 2005; Antony et al., 2012; Williams, Ihrler e Seethala, 2017). É definido como um tumor agressivo com etiopatogênese pouco elucidada (Altemani et al., 2005; Mariano et al., 2013a). Acredita-se que o desenvolvimento deste tumor seja decorrente do acumulo de alterações genéticas e epigenéticas em um AP (Schache et al., 2010; Mariano et al., 2013b; Katabi et al., 2015).

Assim como no AP, alterações nos genes PLAG1 e HMGA2 são as mais associadas a patogênese do CXAP. Os produtos das translocações com os mais variados parceiros de fusão nesses genes estão associados com codificações de proteínas envolvidas na sinalização do fator de crescimento, regulação do ciclo celular e estabilidade genômica (Katabi et al., 2015; Mito et al., 2017). Interessantemente, o estudo de Persson e colaboradores (2009) sugeriu que AP com amplificação de HMGA2 e outros genes da região 12q estão relacionados com um risco aumentado de transformação maligna. A co-amplificação com outros genes (*MDM2*) resultaria em mecanismos alternativos de inativação do *TP53*. Tal fato é suportado, uma vez que o TP53 mutado é raramente observado no AP e frequentemente no CXAP (Augello et al., 2006),

A expressão do PLAG1 é bem relatada em diversos tumores, principalmente no AP. O *PLAG1* tem uma função dupla, tanto de promotor quanto supressor tumoral, o que justifica sua presença em tumores benignos e malignos de baixo grau principalmente (Bartkova et al., 2005;

Gorgoulis et al., 2005; Wang et al., 2013). Em um estudo atual, foi evidenciado que, quando comparado ao AP, o CXAP exibe perda de expressão da PLAG1. Além disso, fascinantemente, foi observado que as maiores perdas na expressão estavam associadas aos carcinomas com diferenciação epitelial e aos FI (curso clínico mais agressivo). Com bases nesses resultados, a regulação negativa da PLAG1 no CXAP pode estar envolvida com a gênese de carcinomas com diferenciação epitelial (de Brito et al., 2016).

Alterações epigenéticas, embora menos associadas do que alterações genéticas, também são relatadas no contexto de transformação maligna do AP. *O RASSF1A* é um dos genes supressores de tumores inativados epigeneticamente com mais frequência em neoplasias representando um fator importante que contribui para a patogênese e progressão de tumores sólidos (Grawenda, O'Neill, 2015). Hipermetilações nesse gene foram encontradas em amostras de AP e CXAP, e os estudos sugerem que tal alteração epigenética possa desempenhar papeis na gênese do CXAP devido a interação do RASSF1A com proteínas de reparo do DNA (Schache et al., 2010; Mariano et al., 2016). A caderina-E é codificada pelo gene CDH1 e desempenha importantes papeis na adesão celular. Xie et al. (2018) identificaram hipermetilação no *CDH1* em amostras de CXAP. O silenciamento do gene provocado pela metilação foi associado com características de iniciação e progressão tumoral.

Representa um tumor raro, com incidência de 0,63% casos por 1.000.000 habitantes (Gupta et al., 2019) correspondendo de 1,5% a 3,6% de todas as neoplasias de glândula salivar e 6,4 a 12% de todas as malignidades salivares (Fonseca et al., 2012; Williams, Ihrler e Seethala, 2017; da Silva et al., 2018). Apresenta predileção pelas glândulas salivares maiores, preferencialmente pelas parótidas com ocorrência variando de 67%-77% dos casos (Mariano et al., 2013a; Hu et al., 2016; Gupta et al., 2019). As submandibulares representam o segundo sítio de acometimento mais comum, seguidas pelas menores e sublinguais (Weiler et al., 2011; Mariano et al., 2013a; Fu et al., 2019; Sentani et al., 2019). Alguns estudos, entretanto, apontam as glândulas salivares menores, em especial as glândulas localizadas no palato como o segundo sítio mais frequente (Hu et al., 2016; Gao et al., 2017).

Com base em sua definição, um CXAP pode acometer qualquer localização em que o AP ocorre. Todavia, a ocorrência do CXAP em localizações diferentes das glândulas salivares maiores e menores intraorais é ainda mais rara do que a um AP. Contudo casos de CXAP já foram relatados em mama (Shah et al., 2011), glândulas lacrimais (Holstein et al., 2013), espaço parafaríngeo (Hees et al., 2018), traqueia (Gao et al., 2019), cavidade nasal, seios paranasais e nasofaringe (Li et al., 2019).

O CXAP tende a acometer pacientes mais velhos do que os paciente com AP, com um pico de incidência entre a quinta e sétima década de vida e idade média variando de 45 a 67 anos de idade (Mariano et al., 2013a; Lim et al., 2015; Katabi et al., 2015; Hu et al., 2016; Egal et al., 2018; Okano et al., 2020; Scarini et al., 2020). De acordo com a OMS e alguns estudos, assim como o AP, o CXAP apresenta uma predileção pelo sexo feminino (Williams, Ihrler e Seethala, 2017; Sedassari et al., 2017; Egal et al., 2018). Contrariamente, alguns estudos relatam uma maior incidência nos pacientes do sexo masculino (Weiler et al., 2011; Lim et al., 2015; Suzuki et al., 2016)

As características clínicas do CXAP são muito semelhantes as do AP, principalmente nos carcinomas restritos a cápsula. De modo geral, o CXAP se manifesta como um aumento de volume na região da glândula afetada (Antony et al., 2012; Mariano et al., 2013a; Williams, Ihrler e Seethala, 2017). Alguns casos exibem crescimento rápido e progressivo, enquanto outros apresentam crescimento lento. O tempo de evolução é bastante variável e impreciso, tendo em vista que aumento de volume é um efeito secundário a transformação maligna (Lewis, Olsen e Sebo, 2001; Di Palma et al., 2013; Williams, Ihrler e Seethala, 2017). Alguns estudos propuseram um tempo médio entre os sintomas e o diagnóstico de 9 anos, variando de 1 mês até 52 anos com cerca da metade desses pacientes tendo percebido o aumento de volume com menos de um ano (Lüers et al., 2009; Antony et al., 2012).

Quando acomete as glândulas salivares maiores, a lesão tende a apresentar uma consistência firme, podendo ser fixa ou móvel variando de acordo com a localização do lobo ou lóbulo em que a lesão se desenvolve (Antony et al., 2012). Os tumores oriundos das glândulas salivares menores geralmente apresentam tumefação, perda ou não da integridade da superfície e sangramento (Lewis, Olsen e Sebo, 2001; Lüers et al., 2009; Mariz et al., 2019; Kim et al., 2020). Alguns casos tendem a ser indolores enquanto outros apresentam sintomatologia dolorosa decorrente da extensão tumoral para os tecidos adjacentes com compressão de feixes nervosos (Katabi et al., 2010; Antony et al., 2012). Paralisia do nervo facial, expansão óssea, perda de vitalidade pulpar, trismo, dor de cabeça, otalgia, redução do fluxo salivar e disfagia também são descritos como possíveis sinais e sintomas (Katabi et al., 2010; Antony et al., 2012; Mariano et al., 2013a; Seok et al., 2019).

Em relação ao tamanho (T), o CXAP geralmente é maior do que os casos de AP (Lim et al., 2015; Hu et al., 2016; Sedassari et al., 2017; Seok et al., 2019) com média de tamanho de 5 cm, variando de 1,5 a 9 cm (Mariano et al., 2013a). A metástases locais (N) são mais frequentes do que metástases à distância (M) (Mariano et al., 2013a; Hu et al., 2016; Lau et al.,

2017; Sedassari et al., 2017; Asahina et al., 2019; Gupta et al., 2019). A maioria dos CXAP apresentam estadiamento clínico entre III e IV (Marino et al., 2013a; de Brito et al., 2016; Asahina et al., 2019, de Morais et al., 2019).

A aparência macroscópica do CXAP é estabelecida pela quantidade dos componentes benignos e malignos (Antony et al., 2012; Williams, Ihrler e Seethala, 2017). A área do carcinoma, de modo geral, exibe um padrão infiltrativo com áreas de necrose e hemorragia (Lewis, Olsen e Sebo, 2001; Antony et al., 2012). A infiltração depende do grau de invasividade, sendo mais facilmente percebido à medida que o tumor progride para além da cápsula. Casos em o componente maligno está restrito aos ductos (Carcinoma intraductal) dificilmente exibem alterações macroscópicas. Quando há pouco componente carcinomatoso, a lesão assume características predominantes de um AP (Olsen e Lewis, 2001; Antony et al., 2012). Quando a lesão apresenta longo tempo de evolução e o carcinoma perfaz a maior parte da lesão, as áreas de APR usualmente são representadas por áreas de esclerose e calcificação (Lewis, Olsen e Sebo, 2001; Williams, Ihrler e Seethala, 2017).

O CXAP representa a transformação maligna de um AP, portanto, faz necessário a identificação de componentes compatíveis com um AP ao exame histopatológico ou história prévia de um AP para que uma lesão seja diagnosticada como um CXAP (Altemani et al., 2005; Mariano et al., 2013a; Okano et al., 2020). Adicionalmente, de acordo com a atual classificação de Tumores de Cabeça e Pescoço da OMS, o diagnóstico de CXAP não é autossuficiente. É imprescindível especificar o grau de invasividade e o subtipo histopatológico que a lesão assume (Williams, Ihrler e Seethala, 2017).

Os tumores são classificados de acordo com sua a extensão para além da cápsula em IC, MI e FI (Williams, Ihrler e Seethala, 2017; de Morais et al., 2019). O CXAP IC e o MI são reconhecidos como estágios precoces de invasão (PREC), enquanto o francamente representa um estágio avançado (AVAN) (Altemani et al., 2005; Di Palma et al., 2013; Sedassari et al., 2015a). Em relação ao carcinoma IC há um consenso de que os componentes malignos estão restritos à capsula (de Brito et al., 2016; Seethala e Stenman, 2017). Quanto ao MI e FI, a extensão de invasividade que cada um representa é algo bastante discutido.

O conceito do grau de invasividade mais amplamente difundido define um CXAP MI como uma lesão que apresenta extensão tumoral de até 1,5 mm para tecidos extracapsulares, enquanto o FI representa invasões extracapsulares maiores que 1,5 mm (Mariano et al., 2013a; Zhao et al., 2013; Hu et al., 2016; Ye et al., 2016).

Com base em alguns estudos que consideraram o ponto de corte de 1,5 mm arbitrário e restritivo para definição de MI e FI (Lewis, Olsen e Sebo, 2001; Weiler et al., 2011; Di Palma et al., 2013; Griffith et al., 2014; Rito e Fonseca, 2016), em sua última classificação, a OMS propôs um ponto de corte de 4-6 mm para um CXAP ser classificado como MI (Williams, Ihrler e Seethala, 2017). Entretanto, em uma revisão sistemática recente evidenciou que 1,5 mm representa um importante ponto de corte com base no prognóstico dos pacientes (de Morais et al., 2019).

Em relação ao subtipo histológico, tanto as células luminais quanto as abluminais do AP podem sofrer malignização. Assim, o CXAP pode ser dividido em duas categorias: 1. CXAP com diferenciação epitelial ou luminal (EP), apenas as células luminais sofrem malignização; 2. CXAP com diferenciação mioepitelial ou abluminal (MIO), as células abluminais são transformadas exclusivamente ou acompanhadas das células epiteliais. A diferenciação luminal é mais frequentemente observada do que a diferenciação mioepitelial. O carcinoma intraductal é definido como uma lesão precursora dos carcinomas com diferenciação luminal (Altemani et al., 2005; Katabi et al., 2010; Ihrler et al., 2017).

O subtipo histopatológico é determinado pelo fenótipo que as células transformadas assumem, sendo o carcinoma do ducto salivar (CDS) e o adenocarcinoma, SOE os fenótipos mais comumente observados (Mariano et al., 2013a; Suzuki et al., 2016; Scarini et al., 2020). Além destes, outros fenótipos carcinomatosos foram identificados como o carcinoma mioepitelial (CM), epitelial-mioepitelial (CEM), mucoepidermoide, epidermoide, adenoide cístico, de células acinares, sarcomatóide, indiferenciado, oncocítico, de células basais, carcinosarcoma, adenocarcinoma polimorfo e de células claras (Altemani et al., 2005; Demasi et al., 2009; Weiler et al., 2011; Di Palma et al., 2013; Sedassari et al., 2015b; de Brito et al., 2016; Katabi et al., 2015; Mariano et al., 2018).

De modo geral, o CXAP exibe características compatíveis com malignidade: Pleomorfismo celular, aumento no número de mitoses, núcleos hipercromáticos, aumento da relação núcleo-citoplasma dentre outros (Antony et al., 2012; Di Palma., et al., 2013). Quando o componente maligno é oriundo das células luminais, essas alterações são facilmente reconhecidas, permitindo um diagnóstico mais seguro. Entretanto, quando o componente maligno tem origem nas células mioepiteliais, o reconhecimento das características morfológicas associadas à malignidade é mais laborioso. A análise minuciosa do AP é mandatória para evitar que CXAP sejam erroneamente diagnósticas. Confusões diagnósticas entre essas lesões são rotineiras baseadas em três aspectos: 1. O AP pode apresentar graus de atipia e pleomorfismo. 2. As células mioepiteliais apresentam um amplo espectro morfológico, podendo ser confundidas com características de malignidade; e 3. As neoplasias malignas oriundas das células mioepiteliais, ao que parece, apresentam pleomorfismo celular atenuado (Sedassari et al., 2017).

Para os casos de CXAP em que o componente carcinomatoso em origem nas células mioepiteliais, a identificação do crescimento invasivo faz-se necessário para o diagnóstico correto. Nos casos CXAP em que não haja presença de invasão, IC, e/ou a morfologia celular for duvidosa, a análises pelo índice de proliferação celular é indicada. Estudos têm mostrado que, independentemente do grau de invasão, o Ki-67 do CXAP é maior do que o AP, com uma variação de índice entre 45% a 50% (Mariano et al., 2015a; Díaz et al., 2019)

Assim, o diagnóstico de um CXAP deve incluir tanto o grau de invasividade quanto o subtipo histopatológico, ou seja, uma lesão em que as células luminais do AP sofrem transformação maligna, assumem fenótipo de carcinoma do ducto salivar e estão contidos à cápsula é denominada de Carcinoma do ducto salivar ex AP intracapsular ou CXAP intracapsular subtipo carcinoma do ducto salivar. A inclusão destes parâmetros no diagnóstico do CXAP é primordial, pois tanto o subtipo histológico quanto o grau de invasividade vão influenciar no prognóstico do paciente. A junção dessas duas características vai determinar o comportamento biológico do tumor em curso clínico mais indolente ou mais agressivo (Williams, Ihrler e Seethala, 2017).

Embora não exista um padrão de tratamento bem estabelecido para o CXAP, a remoção cirúrgica é a principal modalidade de tratamento para estes tumores (Zhao et al., 2013; Gupta et al., 2019). Para os casos de CXAP PREC, geralmente o tratamento empregado é o mesmo para o AP. Para os casos CXAP ANAN ou com envolvimento do nervo facial, faz-se necessário um tratamento mais radical (Antony et al., 2012; Gupta et al., 2019). O esvaziamento cervical é indicado nos casos que apresentem evidências de acometimento linfonodal. A radioterapia adjuvante é indicada nos casos que apresentam alto grau de malignidade, comprometimento das margens cirúrgica, metástase locais, invasão neural/perineural e vascular (Lüers et al., 2009; Antony et al., 2012; Lau et al., 2017) A combinação de radioterapia e quimioterapia geralmente é recomendada quando há presença de disseminação da doença (Olsen e Lewis, 2001; Antony et al., 2012)

Os carcinomas FI são os mais prevalentes e estão relacionados com curso clínico mais agressivo pela maior associação com recidivas, metástases e evolução para óbito (Mariano et al., 2013a; Egal et al., 2018; Díaz et al., 2019; Gupta et al., 2019; Scarini et al., 2020). Usualmente, os carcinomas PREC assumem curso clínico mais indolente quando comparado aos carcinomas AVAN. Entretanto, aspectos associados à agressividade, invasão vascular, perineural/neural, metástase e morte, já foram descritos em casos de CXAP IC (Katabi et al., 2010; Ihrler et al., 2017).

Em relação ao subtipo histopatológico, o comportamento biológico varia de acordo com o fenótipo que a lesão assume. O carcinoma do ducto salivar, carcinoma epidermoide e o adenocarcinoma, SOE assumem comportamento mais agressivo, já o carcinoma epitelialmioepitelial e o mioepitelial parecem apresentar-se como carcinomas de baixo grau (de Brito et al., 2016; Ye et al., 2017).

As taxas de incidência de recorrência locorregional variam de 15% a 39% dos casos, já as taxas de metástase à distância oscilam de 3% a 27% dos casos, tendo o pulmão como o sítio anatômico mais frequentemente acometido (Mariano et al., 2013a; Zhao et al., 2013; Suzuki et al., 2016; Gupta et al., 2019). Suplementariamente, o grau de invasividade, tamanho do tumor e envolvimento linfonodal são os fatores frequentemente associados com a recorrência locorregional. Enquanto que para as metástases à distância, o subtipo histopatológico, grau histológico, grau de invasividade, envolvimento linfonodal e invasão perineural são os mais comumente associados (Zhao et al., 2013).

As taxas de sobrevida são variáveis. No estudo de Zhao et al. (2013), a sobrevida tumoral específica do CXAP foi de 53,5% em cinco anos, Gupta e colaboradores (2019), entretanto, relataram uma taxa de sobrevida específica de 80,4% em cinco anos. O número amostral bem como diferenças na prevalência de tumores com graus de invasividade e subtipo histopatológicos representam importantes fatores para o contraste desses resultados. De modo geral, o tamanho do tumor, subtipo histopatológico, grau de invasividade, gradação histológica, envolvimento linfonodal e metástase distante são os principais fatores associados com a sobrevida dos pacientes acometidos por CXAP.

3 PROPOSIÇÃO

3.1 PROPOSIÇÃO GERAL

Verificar a abundância de proteínas, por meio da espectrometria de massas, em casos de AP, APR e CXAP.

3.2 PROPOSIÇÕES ESPECÍFICAS

Avaliar a abundância de proteínas no AP, APR e CXAP.

Identificar os achados proteicos nas amostras de AP, APR e CXAP e correlacioná-los quanto a transformação maligna do AP.

Avaliar a abundância de proteínas em CXAP nas diferentes fases de progressão e subtipos histopatológicos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 SELEÇÃO DAS AMOSTRAS

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas - FOP/UNICAMP (CAAE: 05227318.9.1001.5418) (**Anexo 1**) e da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas - FCM/UNICAMP (CAAE: 05227318.9.3001.5404) (**Anexo 2**). O desenho experimental deste estudo está ilustrado na **Figura 1**.

Figura 1 - Desenho experimental do estudo.



Para a realização deste estudo, foram selecionados casos de tumores de glândulas salivares fixados em formol e embebidos em parafina do Departamento de Anatomia Patológica da (DAP) da FCM/UNICAMP. Foram selecionados quinze casos de AP diagnosticados entre 2016 e 2017 e quinze casos de CXAP sem restrição de ano a partir do arquivo de controle de casos do DAP - FCM/UNICAMP. Todos os trinta casos foram revisados e reavaliados, quando necessário, por meio de lâminas coradas em hematoxilina e eosina (HE) para confirmação do diagnóstico de acordo com a atual classificação de Tumores de Cabeça e Pescoço da Organização Mundial de Saúde para classificação de Tumores de glândulas salivares (OMS, 2017) por dois patologistas. Após a reavaliação, todas as amostras selecionadas seguiram no estudo. Para os casos de CXAP, foram escolhidos três diferentes subtipos histopatológicos: 1. Malignização do componente epitelial - Carcinoma do ducto salivar (CDS); 2. Malignização do componente mioepitelial - Carcinoma do ducto salivar (CDS); 2. Malignização do componentes epiteliais - Carcinoma mioepitelial (CEM). Além disso, foram incluídas quatro amostras de APR contidas em quatro casos de CXAP.

Apenas os casos os quais os indivíduos permitiram o uso do seu material biológico para pesquisas futuras foram incluídos no estudo. Amostras de AP e CXAP de glândulas lacrimais e amostras com material insuficiente para confecção de novas lâminas foram excluídas do estudo.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

A caracterização clínico-patológica foi realizada por meio da coleta de informações contidas nos prontuários médicos do Serviço de Arquivo Médico do Hospital de Clínicas da UNICAMP (SAM - HC/UNICAMP) para os pacientes atendidos no HC/UNICAMP, ficha de encaminhamento para os casos de consulta, laudos histopatológicos emitidos pelo DAP – FCM/UNICAMP e pela avaliação das lâminas coradas em HE. Para caracterização clínica, foram coletados demográficos como sexo, idade, localização da lesão, hábitos, sintomatologia, aspecto clínico, tempo de evolução, tamanho clínico, tratamento, presença de recidiva, tempo e tratamento para recidiva e situação do paciente no último registro médico.

Para a caracterização patológica foram coletadas tamanho do tumor, diagnóstico histopatológico, características histopatológicas, presença de invasão neural ou vascular. As informações mencionadas anteriormente foram utilizadas tanto para caracterização dos APs

quanto dos CXAPs. Adicionalmente, foram coletados, para os casos de AP, padrão de crescimento das células epiteliais, morfologia das células mioepiteliais, tipo de estroma e diferenciações. Já para os casos de CXAP foram coletados, adicionalmente, dados referentes ao sistema TNM, estadiamento clínico, local e tempo de metástase tardia (quando houvesse) subtipo histopatológico, grau de invasividade, presença ou ausência de APR.

Posteriormente, os dados clínicos e microscópicos foram digitados e analisados em planilhas do programa Excel (Microsoft Office). Os dados foram analisados por estatística descritiva.

4.3 COLORAÇÃO HEMATOXILINA E EOSINA

Após a seleção dos casos, foi realizada uma nova lâmina histológica de cada caso para utilizar como guia para Microdissecção por Captura a Laser (LCM). A técnica de coloração em HE foi realizada a partir de blocos de dos casos selecionados seguindo o protocolo do Laboratório de Pesquisa do Departamento de Anatomia Patológica da FCM/UNICAMP.

Foram realizados cortes de 3,0µm de espessura em tecidos incluídos em parafina e o material colocado em lâminas tratadas com solução de organosilano a 4% em acetona (3-aminopropil-trietoxi-silano, SIGMA código A3648). A seguir, as lâminas foram colocadas em estufa à 60°C por 2 horas, antes do início da coloração. A desparafinação foi feita com dois banhos de xilol I e II por 5 min cada. A hidratação foi realizada em duas lavagens de álcool absoluto e uma lavagem em água. Posteriormente, as lâminas passaram por um banho de 30 segundos na hematoxilina, lavagem em água corrente, banho de 15 segundos em eosina e lavagem em água corrente. Após a lavagem em água corrente, as lâminas foram desidratadas por banhos em álcool nas concentrações crescentes de 80% e 100% e depois fixadas em xilol I e II. Finalizada a fixação, as lâminas foram montadas com resina Entellan®.

Após a confecção das lâminas coradas por HE, os casos foram reavaliados quanto a atual situação da quantidade tumoral em cada bloco. Todos os casos apresentaram tecido tumoral viável para seguir e guiar a microdissecção a laser.

4.4 IMUNOISTOQUÍMICA

Foram realizadas reações de imunoistoquímica contra citoqueratinas de baixo peso molecular (CK7) e de alto peso molecular (CK5/6, CK14), pancitoqueratina (AE1/AE3), p63, calponina e α -actina de músculo liso (α -SMA), que permitiram a distinção e identificação dos componentes luminais e mioepiteliais foram utilizadas para melhor caracterizar os casos de AP. Optou-se não realizar as reações de imunoistoquímica no casos de CXAP tendo em vista raridade deste grupo de lesões, além de preservar os blocos em parafina para futuras validações dos achados proteômicos.

A técnica de imunoistoquímica foi realizada a partir de blocos dos casos selecionados seguindo o protocolo do Laboratório de Pesquisa do Departamento de Anatomia Patológica da FCM/UNICAMP. Foram realizados cortes de 3,0µm de espessura em tecidos incluídos em parafina e o material colocado em lâminas tratadas com solução de organosilano a 4% em acetona (3-aminopropil-trietoxi-silano, SIGMA código A3648). A seguir, as lâminas foram colocadas em estufa à 60°C por 16 horas, antes do início da reação. A desparafinação foi feita com três banhos de xilol e hidratação em três banhos de álcool absoluto. Posteriormente, as lâminas foram banhadas em álcool nas concentrações decrescentes de 80% e 50% e depois lavadas em água destilada.

O bloqueio da peroxidase endógena para o anticorpo anti- α -SMA foi realizado por meio de três banhos de imersão (3 minutos cada) em solução de peróxido de hidrogênio (H202) a 10%, à temperatura ambiente, seguidos de lavagem e passagem por água destilada. Para os anticorpos demais anticorpos, o bloqueio foi realizado por meio do sistema EnVision Flex, onde a solução de H202 é colocada sobre as lâminas e deixada à temperatura ambiente por 10 minutos.

A recuperação antigênica foi realizada utilizando-se panela à vapor. Para os anti-AE1/AE3, anti-CK7, anti-CK14, anti-CK5/6, anti-p63 e anti-Calponina, foi utilizada a solução tampão do Kit Envision Flex por 30 minutos à 95°C. Para o anti- α-SMA, não foi realizada a recuperação antigênica.

Finalmente as lâminas foram incubadas com o anticorpo primário diluído em albumina sérica bovina (BSA) por 30 minutos em câmara úmida à 37°C por 1 hora e overnight à 4°C em geladeira. Em seguida, todas as lâminas passaram por três banhos com solução tampão fosfatosalino (PBS), em pH de 7.4 (5 minutos cada) e foram incubadas com o anticorpo secundário EnVisionTM Flex/HRP (com a solução de estreptavidina peroxidase, Agilent, DAKO) em estufa à 37°C por 1 hora. Para a revelação do marcador, foi usada a substância cromógena diaminobenzidina tetrahidroclorídrica (DAB), por 5 minutos, à temperatura ambiente. As lâminas foram lavadas com água e contra-coradas com hematoxilina de Mayer; desidratadas, clareadas, e montadas com resina Entellan®. Os anticorpos primários, especificações e titulações empregadas encontramse discriminadas na **Tabela 2**.

Anticorpo	Clone	Recuperação	Diluição	Fabricante
Anti-AE1/AE3	AE1/AE3	Envision Flex	1:400	DAKO
Anti-CK7	OU-TL12/30	Envision Flex	1:100	DAKO
Anti-CK14	LL002	Envision Flex	1:400	Thermo Fisher
Anti-CK5/6	D5/16B4	Envision Flex	1:100	DAKO
Anti-AML	1A4	S/R	1:200	DAKO
Anti-p63	4A4	Envision Flex	1:500	DAKO
Anti-Calponina	CALP1	Envision Flex	1:50	DAKO

Tabela 2 - Anticorpos primários, clones, recuperação antigênica, diluição e fabricantes

S/R: Sem recuperação

4.5 PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS E MICRODISSECÇÃO A LASER

Duas lâminas histológicas foram preparadas para cada uma das amostras de AP e CXAP antes da LCM. Utilizando um micrótomo, foram realizadas seções de dois cortes com espessura de 8 µm em lâminas de membranas específicas (PEN Arcturus® Membrane, Life Technologies, Foster City, CA, EUA) para LCM, que foram desparafinizadas em xilol, hidratadas com concentrações decrescentes (100%, 90%, 70%, e 50%) de etanol, lavados em água e corados com hematoxilina azul durante 8 minutos. Após a secagem, as lâminas foram armazenadas no biofreezer à -80°C até a LCM.

As amostras foram processadas usando o Sistema de Microdissecção ZEISS PALM MicroBeam no Laboratório de Patologia Molecular da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FM - USP). As áreas microdisseccionadas variaram de acordo com cada amostra. Para as amostras advindas dos casos de AP, foram microdisseccionadas células epiteliais ductais (E) e as células mioepiteliais (M). Para os casos de CXAP foram microdisseccionadas áreas de acordo com o fenótipo que a lesão assumiu independentemente do grau de invasão para a cápsula: 1. Células epiteliais do CDS; 2. Células mioepiteliais do CM; 3. Células epiteliais do CEM e 4. Células mioepiteliais do CEM. Para as amostras do APR, foram microdisseccionadas áreas contendo componentes epiteliais e mioepiteliais (**Fig. 2 e 3**). Ao final, foram microdisseccionadas 30 amostras provenientes do AP, 20 amostras do CXAP, 4 amostras de APR.

Fig. 2 - Visualização das amostras pelo Palm RoboSoftware. **A**, **B** e **C**: Visualização do CDS em HE pelo Palm RoboSoftware (4x, 10x e 40x respectivamente). **D**, **E** e **F**: Visualização do CDS em HE pelo Palm RoboSoftware por meio da objetiva para microdissecção a laser (4x, 10x e 40x respectivamente).



Fig. 3 - Microdissecção por captura a Laser (LCM). A: Demarcação da área a ser microdisseccionada (CDS 10x).B: Área microdisseccionada (CDS 10x).



Apenas as células neoplásicas foram microdisseccionadas e coletadas. Obteve-se uma média de 932976,31 μ m² de cada tecido e 392319,5 μ m² das amostras incluídas neste estudo (**Tabela 3**). Todas as amostras foram coletadas em microtubos de 600 μ l e armazenadas a -80 °C. A LCM foi padronizada para tecidos fixados em formalina embebidos em parafina com uma profundidade de corte de 10 μ m. Os parâmetros ajustáveis no Palm RoboSoftware são considerados ótimos para estas amostras e o corte da área (μ m²) para cada paciente foi registrado.

Adenoma Pleomórfico			
Caso	Área do componente epitelial	Área do componente mioepitelial	Morfologia celular
1	111568	100752	Ductal e Plasmocitóide
2	424589	186450	Ductal e Plasmocitóide
3	104509	226964	Ductal e Plasmocitóide
4	196947	251398	Ductal e Mixóide
5	522660	564495	Ductal e Mixóide
6	214382	203695	Ductal e Mixóide
7	958691	423277	Ductal e Mixóide
8	784590	277834	Ductal e Mixóide
9	134280	757763	Ductal e Mixóide
10	706872	807730	Ductal e Mixóide
11	599613	124911	Ductal e Plasmocitóide
12	580201	726673	Ductal e Plasmocitóide
13	495850	724181	Ductal e Plasmocitóide
14	500931	666372	Ductal e Mixóide
15	902253	852846	Ductal e Mixóide
Carcinoma Ex-Adenoma Pleomórfico			
Caso	Subtipo Área d	o componente Área do o	componente APR

Tabela 3 - Área microdisseccionada em μ m² das amostras utilizadas neste estudo

Caso	Subtipo histopatológico	Área do componente epitelial	Área do componente mioepitelial	APR
1	CDS	122421	-	-
2	CDS	405902	-	-
3	CDS	244633	-	-
4	CDS	353838	-	45556
5	CDS	746689	-	34995
6	СМ	-	379716	-
7	СМ	-	337218	-
8	СМ	-	374545	-
9	СМ	-	797213	-
10	СМ	-	442435	-
11	CEM	249682	318393	-
12	CEM	224863	311778	22633
13	CEM	275995	265842	36773
14	CEM	223893	350761	-
15	CEM	234592	251610	-

APR: Adenoma Pleomórfico Residual; CDS: Carcinoma do ducto salivar; CM: Carcinoma mioepitelial; CEM: Carcinoma epitelial-mioepitelial.

4.6 EXTRAÇÃO DE PROTEÍNAS E DIGESTÃO COM TRIPSINA

Após a LCM, as amostras seguiram para extração proteica e análise de espectrometria de massas no Laboratório de Espectrometria de Massas do Laboratório Nacional de Biociências do Centro de Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (LNBio/CNPEM) por meio do NanoLC PROXEON EASY-nLC II juntamente com o Espectrômetro de Massas LTQ Orbitrap Velos ETD (Thermo Fisher Scientific) (Apoio financeiro: Projeto FAPESP multiusuário 2009/54067-3). Devido a limitação de tempo de uso do espectrômetro de massas, foram selecionadas 30 amostras de forma randomizada a partir dos casos para seguir com a extração proteica. Das 30 amostras incluídas, 10 foram provenientes do AP (5 de E e 5 de M), 16 do CXAP (4 do CDS, 4 do CM e 8 do CEM - 4 EP e 4 ME) e 4 do APR. As amostras que não foram utilizadas neste estudo estão armazenadas no biofreezer do Laboratório de Patologia Molecular (LAPMOL) do DAP - FCM/UNICAMP

A metodologia descrita do tópico 4.6 ao 4.9 foi baseada na metodologia utilizada por Carnielli e colaboradores (2018), protocolo do Laboratório de Espectrometria de Massas LNBio/CNPEM. Para extração de proteínas e digestão, as amostras foram tratadas com ureia 8M, seguida de redução proteica com ditiotreitol (5mM por 25 minutos a 56 $^{\circ}$ C) e alquilação com iodoacetamida (14mM por 30 minutos em temperatura ambiente no escuro). Para a digestão de proteínas, a ureia foi diluída até uma concentração final de 1,6 M com bicarbonato de amônio 50 mM e 1 mM de cloreto de cálcio foi adicionado às amostras para digestão com tripsina por 16 a 37 $^{\circ}$ C (2 µg de tripsina). A reação foi interrompida com ácido fórmico a 0,4% e os peptídeos foram dessalinizados com as pontas Stage Tips C18, secos num concentrador de vácuo, reconstituídos em ácido fórmico a 0,1% e armazenados a -20 $^{\circ}$ C para posterior análise por LC-MS/MS.

4.7 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE MASSAS

Uma alíquota contendo 4,5 ml de mistura de peptídeos foi analisada no espectrômetro de massa LTQ Orbitrap Velos (Thermo Fisher Scientific) acoplado a cromatografia líquida de nanofluxo em um sistema EASY-nLC (Proxeon Biosystems) com uma fonte de íons Proxeon nanoeletrosspray. Peptídeos em 0,1% de ácido fórnico foram separados por um gradiente de 2-

90% de acetonitrila numa coluna analítica PicoFrit (20 cm x ID75, tamanho de partula de 5, New Objective), com um caudal de 300 nL/min durante 212 minutos, em qual é atingido um gradiente de 35% de acetonitrila em 175 min. A tensão do nanoeletropulverizador foi ajustada para 2,2 kV e a temperatura da fonte foi ajustada para 275 °C. Os espectros de varredura completa de MS (m/z 300-1600) foram adquiridos no analisador Orbitrap após a acumulação para um valor-alvo de 1e6. A resolução no Orbitrap foi fixada em r = 60.000, e os 20 íons peptídeos mais intensos (top 20) com estados de carga \geq 2 foram isolados sequencialmente para um valor alvo de 5000 e fragmentados na armadilha de íons lineares de alta pressão por CID (colisão dissociação induzida) com uma energia de colisão normalizada de 35%. A exclusão dinâmica foi ativada com uma lista de tamanhos de exclusão de 500 peptídeos, uma duração de exclusão de 60 se uma contagem de repetições de 1. Foi utilizado um Q de ativação de 0,25 e um tempo de ativação de 10 ms.

Para poderem ser analisadas todas as amostras passaram por controles internos: Controle de qualidade da coluna, sensibilidade do equipamento, tempo de retenção e picos de autólise da tripsina. As amostras que apresentaram baixa intensidade nestes picos, consequentemente, apresentaram baixa intensidade dos peptídeos dos tecidos tumorais, portanto foram excluídas do processamento proteômico.

4.8 ANÁLISE DOS DADOS PROTEÔMICOS

Os arquivos brutos foram processados usando o software MaxQuant v1.3.0.324 (Cox e Mann, 2008) e os espectros MS/MS foram pesquisados no banco de dados Human UniProt (lançamento em maio de 2017, 92.646 sequências, 36.874.315 resíduos) usando o mecanismo de busca Andromeda. Uma tolerância de 6 ppm foi considerado para íons precursores e 0,5 Da para íons fragmentos, a oxidação de metionina e a acetilação N-terminal da proteína foram estabelecidas como modificações variáveis e carbamidometilação de cisteína como modificação fixa e com 2 clivagem perdida de tripsina.

A quantificação de proteínas livre de marcadores (Label-free protein quantification -LFQ) foi usada para quantificação de proteínas, com uma janela de 2 min para correspondência entre as execuções e a contagem de proporção mínima definida como 1. A taxa de falso positivo (FDR) para proteína e peptídeo foi definido para 1%. A análise estatística foi realizada com o software Perseus v1.2.7.4. O banco de dados de proteínas foi processado excluindo-se as sequências reversas e as entradas "identificadas apenas pelo site" e, em seguida, os dados foram transformados por log2. Além disso, considerou-se na análise final um mínimo de três valores válidos em pelo menos um grupo e a significância estatística foi avaliada pelo teste ANOVA e *Student t* para indicar as proteínas diferencialmente abundantes ($p \le 0.05$).

Arquivos contendo as proteínas identificadas e seus valores de intensidade de LFQ foram utilizados para elaboração de mapas de calor, agrupamento hierárquico e análise de componentes principais por meio da plataforma quimiométrica baseada na Web MetaboAnalyst (Xia Lab, McGill University, Montreal, Canadá) 3.0 usando a medida de distância de Pearson. Para visualização dos dados, mapas de calor com valores *z*-score de log2 LFQ e intensidades de vulcões foram construídos usando a linguagem de programação estatística de código aberto R.

4.9 ANÁLISE BIOINFORMÁTICA

As proteínas exclusivas, proteínas mais abundantes em um grupo quando comparado a outro, de cada grupo e as proteínas compartilhadas, proteínas com graus de abundância semelhantes, com abundância estatisticamente significativa ($p \le 0,05$) entre os grupos de estudo foram submetidas a uma análise de enriquecimento para obter informações biológicas dos resultados proteicos. Informações referente as proteínas detectadas, como código da proteína, nome e gene, foram coletadas da plataforma Uniprot e submetidas à análise de enriquecimento por meio da base de dados Gene Ontology (GO) (Ashburner et al., 2000) com a finalidade de identificar os principais processos biológicos que o grupo de proteínas tinham em comum. Redes de associação entre as proteínas foram construídas no banco de dados STRING (Szklarczyk et al., 2017).

A análise das proteínas exclusivas foi de acordo com a metodologia proposta por Cardoso et al., (2019). Para a seleção da proteína alvo, dados obtidos do Gene Expression Omnibus (GEO) (Home - GEO - NCBI) foram usados para validar os dados do presente estudo. Para cada proteína, a pesquisa GEO foi realizada usando as seguintes palavras-chave: Homo sapiens, o nome da proteína e tumor, para as proteínas identificadas no AP e APR, e Homo sapiens, o nome da proteína e câncer para as proteínas do CXAP.

5 RESULTADOS

5.1 RESULTADOS CLÍNICO-PATOLÓGICOS

As características clínicas e histopatológicas dos 5 casos de AP, 12 de CXAP e 4 de APR estão descritas nesta sessão. Todos os casos de AP foram oriundos de pacientes atendidos no HC - UNICAMP. Já os casos de CXAP, dos doze casos, sete foram oriundos do HC - UNICAMP e cinco são casos de consulta.

5.1.1 Adenoma Pleomórfico

Em relação as características clínicas dos APs, três (60%) foram provenientes de pacientes do sexo masculino enquanto dois casos (40%) foram do sexo feminino. A média de idade destes pacientes foi de 50,6 anos (31-69). Quatro casos acometeram glândulas salivares maiores, enquanto apenas um caso acometeu as glândulas salivares menores. Três casos ocorreram nas parótidas (60%), um na submandibular (20%) e um no palato (20%). Aumento de volume foi o sintoma mais frequente (100%). Quanto ao aspecto clínico, lesão endurecida e móvel foram os mais comuns, sendo encontradas em três casos cada. Quatro dos cinco casos (80%) apresentam tamanho de 2-4 cm. (**Tabela 4**).

	Características clínicas	N (%)	
Sexo			
	Masculino	3 (60)	
	Feminino	2 (40)	
Idade			
	Média	50,6 (31-69)	
Localização			
	Glândula salivar maior	4 (80)	
	Parótida	3 (75)	
	Submandibular	1 (25)	
	Glândula salivar menor	1 (20)	
	Palato	1 (100)	
Sintomatologia			
	Aumento de volume	5 (100)	
	Sangramento	2 (40)	
Aspect	to clínico		
	Endurecida	3 (60)	
	Fibroelástica	1 (20)	
	Móvel	3 (60)	
	Fixa	1 (20)	
Tamanho (cm)			
	< 2,0	0 (0)	
	2,0 - 4,0	4 (80)	
	> 4,0	1 (10)	

Tabela 4 - Características clínicas de 5 pacientes cujas amostras de AP foram avaliadas neste estudo

N: Número de casos

Em relação aos hábitos, o tabagismo foi relatado em 2 pacientes (40%). Etilista, extabagista e ex-etilista foi relatado por um paciente cada (20%). Dois (40%) pacientes reportaram não ter hábito algum. O tempo médio de evolução foi de 23,2 meses, variando de 8 a 36 meses. O tratamento empregado nos cinco casos foi a cirurgia (100%), sendo 3 parotidectomias superficiais (60%), 1 submandibulectomia (10%) e 1 maxilectomia subtotal (10%). Nenhum caso apresentou recidiva até o momento e todos os pacientes estão vivos sem doença (**Apêndice** 1).

Já em relação as características patológicas, os cinco casos (100%) apresentaram-se esbranquiçados, seguidas encapsulados 4 (80%) e consistência sólida (60%) na análise macroscópica. Já em relação as características microscópicas (**Tabela 5**), as células epiteliais dos cinco (100%) casos apresentaram padrão ductal seguidas de padrão sólido (80%). A morfologia das células mioepiteliais mais frequente foi a fusiforme (100%) seguidas de plasmocitóide e epitelióide sendo encontradas em 80% dos casos cada. Padrão epitelialmioepitelial foi visto em todos os casos (100%). Os estromas mais frequentemente observados foram condróide, hialino e mixóide (60% cada). Três casos (60%) apresentaram metaplasia escamosa, dois (40%) áreas de necrose e quatro (80%) apresentaram integridade da cápsula (**Fig. 4-6**).

Características histopatológicas	N (%)			
Células epiteliais				
Padrão ductal	5 (100)			
Padrão sólido	4 (80)			
Estruturas císticas	2 (40)			
Células mioepiteliais				
Fusiforme	5 (100)			
Epitelióide	4 (80)			
Plasmocitóide	4 (80)			
Clara	3 (60)			
Estroma				
Condroide	3 (60)			
Hialino	3 (60)			
Mixóide	3 (60)			
Outros achados				
Padrão epitelial-mioepitelial	5 (100)			
Metaplasia escamosa	3 (60)			
Necrose	2 (40)			
Cápsula				
Encapsulado	4 (80)			
Parcialmente encapsulado	1 (20)			

Tabela 5 - Características microscópicas dos casos de AP

N: Número de casos

Fig. 4 - Componentes histológicos dos AP. **A**: Adenoma Pleomórfico (HE 4x). **B**: Células epiteliais se arranjando em padrão ductal e cístico (HE 10x). **C**: Arranjo ductal: células luminais com núcleo achatado e citoplasma escasso circundadas por células abluminais com núcleo arredondado e citoplasma mais proeminente (HE 40x). **D**: Padrão epitelial-mioepitelial (HE 40x).



Fig. 5 - Componentes mioepiteliais dos AP. **A**: Células mioepiteliais com núcleo voltado para periferia - plasmocitóides (HE 40x). **B**: Células mioepiteliais com morfologia fusiforme (HE 40x). **C**: Células mioepiteliais claras (HE 40x). **D**: Células mioepiteliais epitelioides (HE 40x).



Fig. 6 - Estromas e diferenciações encontrados no AP. **A**: Estroma mixóide (HE 10x). **B**: Estroma condróide (HE 10x). **C**: Estroma hialino (HE 40x). **D**: Metaplasia escamosa (HE 10x).



Os resultados do painel imunoistoquímico evidenciou positividade dos marcadores AE1/AE3, CK7 e CK14 nas células epiteliais ductais e positividade dos marcadores CK5/6, P63, α-SMA e calponina nas células abluminais (**Fig. 7**).

Fig. 7 - Painel imunoistoquímico do AP. A: Positividade citoplasmática forte nas células epiteliais (AE1/AE3 4x).
B e C: Positividade citoplasmática forte nas células epiteliais ductais (AE1/AE3 40x e CK7 40x respectivamente).
D: Positividade citoplasmática difusa nas células no epiteliais ductais e abluminais (CK14 40x), E: Discreta positividade citoplasmática nas células mioepiteliais (CK5/6 40x). F: Positividade nuclear nas células abluminais (P63 40x). G: Positividade citoplasmática forte nas células mioepiteliais (CASMA 40x). H: Positividade citoplasmática nas células forte nas células mioepiteliais (α-SMA 40x). H: Positividade citoplasmática nas células mioepiteliais (Calponina 40x).



5.1.2 Carcinoma Ex-Adenoma Pleomórfico

Em relação as características clínicas dos doze casos de CXAP, 6 (50%) foram do sexo masculino, 5 (41,6%) do sexo feminino e 1 caso não tinha informação. A média de idade dos 11 pacientes foi de 61,5 anos com intervalo variando entre 50 a 74 anos. Em um caso não foi informado a idade do paciente. Dos doze casos, onze (91,6%) acometeram glândulas salivares maiores, sendo a parótida a localização dos onze casos. Apenas um caso (8,3%) acometeu as glândulas salivares menores (palato). Aumento de volume (75%) e dor (16,6%) foram os sintomas mais comuns. Quanto ao aspecto clínico, a lesão apresentou na maioria dos casos consistência fibroelástica (33,3%). A maioria dos casos (25%) teve o tamanho entre 3,0 - 6,0 (**Tabela 6**).

Em relação aos hábitos, ex-tabagismo foi o mais frequentemente relatado representando 41,6% dos casos, seguido de etilista (33,3%) e ex-etilista (25%), tabagista (8,3%), ex-usuário de outras drogas (8,3%) e em 41,6% dos casos não houve informação sobre hábitos. O tempo médio de evolução dos oito casos que haviam sido informados foi de 129 meses, variando de 12 a 360 meses. O tempo médio de evolução foi de 23,2 meses, variando de 8 a 36 meses. De todos os casos, 3 (25%) apresentaram metástase locais no momento do diagnóstico. Nenhum paciente apresentou metástase à distância ao diagnóstico e em dois casos informações sobre o TNM não estavam disponíveis. O estadiamento clínico mais frequente foi o III, representando por 5 casos (41,6%). O tratamento cirúrgico foi o mais comum (91,6%) e 5 casos (41,6%) fizeram radioterapia adjuvante. Um caso não havia informação sobre o tratamento. Dos 11 casos submetidos à cirurgia, 3 (27,2%) realizaram esvaziamento cervical. Apenas um caso (8,3%) apresentou recidiva após 6 meses e metástase tardia para órbita. Após 23 meses do diagnóstico do CXAP primário. O tratamento para o paciente que apresentou recidiva e metástase tardia foi quimio e radioterapia. O tempo médio de seguimento foi de 31,2 meses variando de 1 a 72 meses dos 8 casos que tinham as informações referente ao seguimento. Atualmente, 3 (25%) estão vivos, 2 estão mortos e o restante não tinha a informação (Apêndice 2).

	Características clínicas	N (%)
Sexo		
	Masculino	6 (50)
	Feminino	5 (41,6)
	NI	1 (8,3)
Idade		
		61,5 (50-74)
Locali	zação anatômica	
	Glândula salivar maior	11 (91,6)
	Glândula parótida	11 (100)
	Glândula salivar menor	1 (8,3)
	Palato	1 (100)
Sinton	natologia	
	Aumento de volume	9 (75)
	Dor	2 (16,6)
	Dispneia	1 (8,3)
	Sangramento	1 (8,3)
	NI	2 (16,6)
Aspect	o clínico	
	Endurecida	3 (25)
	Fibroelástica	4 (33,3)
	Fixa	2 (16,6)
	Móvel	1 (8,3)
	NI	5 (41,6)
Tamanho		
	< 3,0	2 (16,6)
	3,0 - 6,0	3 (25)
	> 6,0	2 (16,6)
	NI	5 (41,6)

Tabela 6 - Características clínicas dos 12 casos de CXAP

N: Número de casos, NI: Não informado

Macroscopicamente, dos doze casos de CXAP em quatro (33,3%) as lesões apresentaram-se nodulares. Aparência sólida, esbranquiçada e acastanhada foram observadas em 3 casos (25%). Calcificações, necrose, encapsulada e não encapsulada foram encontradas
em 1 caso (8,3%) cada. Em 5 casos (41,6%) não foram informadas as características macroscópicas.

As características histopatológicas estão sumarizadas na **Tabela 7.** Quanto ao subtipo histológico que a lesão assumiu, o CDS, CM e CEM representaram 33,3% cada (**Fig. 8**). Em relação ao grau de invasividade para a cápsula, 5 casos (41,6%) estavam contidos pela cápsula - IC, 2 (16,6%) estavam invadindo de 4-6 mm - MI e 5 (41,6%) estavam invadindo mais 6 mm - FI. Dois casos (16,6%) apresentaram invasão vascular, 1 caso (8,3%) invasão neural e em 9 (75%) não foi observado qualquer tipo de invasão. Áreas de necrose foram vistas em 2 casos (16,6%). O APR foi encontrado em 4 casos (33,3%) (**Fig. 9**).

Características histopatológicas	N (%)	
Subtipo histológico		
Carcinoma do ducto salivar	4 (33,3)	
Carcinoma mioepitelial	4 (33,3)	
Carcinoma epitelial-mioepitelial	4 (33,3)	
Grau de invasividade		
Intracapsular	5 (41,6)	
Minimamente invasivo	2 (16,6)	
Francamente invasivo	5 (41,6)	
Adenoma Pleomórfico Residual		
Presente	4 (33,3)	
Ausente	8 (66,6)	
Outros achados		
Invasão vascular	2 (16,6)	
Invasão neural	3 (8,3)	
Sem invasão	9 (75)	
Necrose	2 (16,6)	

Tabela 7 - Características microscópicas dos casos de CXAP

Fig. 8 - Subtipos histopatológicos do CXAP. **A** e **B**: CDS: Proliferação de células epiteliais pleomórficas (HE 10x e 40x). **C** e **D**: CM: Células mioepiteliais com marcada atipia (HE 10x e 40x). **E** e **F**: CEM: Proliferação de células epiteliais e mioepiteliais malignas (HE 10x e 40x).



Fig. 9 - Adenoma Pleomórfico Residual. **A**: Estruturas ductais dispostas em área de hialinização (HE 40x). **B**. Área de APR com componentes celulares, área de hialinização e calcificação distrófica (HE 40c). **C** e **D**: Formação de estruturas ductais compostas por células luminais e abluminais e células mioepiteliais rodeando as estruturas ductais com morfologia fusiforme e plasmocitóide (HE 40x).



5.2 RESULTADOS PROTEÔMICOS

A técnica de LCM permitiu a individualização das regiões tumorais dos casos de AP, APR e CXAP, separando assim, as células neoplásicas do tecido normal adjacente. Algumas amostras não alcançaram o controle interno de qualidade, sendo excluídas do processamento protêomico. As amostras excluídas foram AP1 E, AP4 E, AP5 M, CXAP7, CXAP8 e CXAP10 EP.

Após a exclusão de contaminantes de origem animal, a LC-MS/MS identificou e quantificou 240 proteínas totais (**Apêndice 3**), sendo considerados, no mínimo, três valores válidos por grupo. Por meio da análise do Diagrama de Venn (Heberle et al., 2015), foi possível visualizar que das 240 proteínas identificadas e quantificadas, cento e trinta e cinco delas foram compartilhadas entre os três grupos (AP, APR e CXAP). Adicionalmente, foram. No grupo do

AP, foram detectadas 213 proteínas, destas 39 proteínas (18,3%) foram específicas deste grupo. No grupo do APR, apenas 4 proteínas (2,7%) das 148 identificadas foram exclusivas. O grupo de CXAP, por sua vez, 17 proteínas (8,7%) das 194 proteínas identificadas foram exclusivas. (**Fig. 10, Apêndice 4**).

Fig. 10 - Proteínas identificadas e quantificadas nos três grupos. Diagrama de Venn de proteínas comuns e exclusivas nos três grupos.



A área microdisseccionada foi um grande limitante deste estudo. Tendo em vista que pequenas áreas acarretam em uma menor quantidade de identificação proteica, existem análises capazes de minimizar essa limitação, sendo a análise dos dados com *imputation* uma delas. Na

análise dos resultados com *imputation*, há uma redistribuição nos valores de intensidade em função da distribuição normal das médias de intensidade LFQ. A partir desta análise há uma homogeneização dos resultados. Diferentemente, a análise sem *imputation* diz respeito a análise mais frequentemente empregada, possibilitando uma correlação clínica-patológica mais precisa, entretanto a identificação de potenciais assinaturas proteicas por meio do *ratio* ou *fold-change* é prejudicada nos casos em que os valores de intensidade LFQ não foram detectados.

Ambas as metodologias são válidas e utilizadas em estudos baseados em MS, cabendo, única e exclusivamente, ao operador decidir qual melhor análise para os seus resultados. Com o objetivo de uma maior explanação dos nossos resultados, optamos por utilizar as duas abordagens nos resultados das proteínas compartilhadas entre os grupos.

A análise de agrupamento e o mapa de calor permitiram a visualização da abundância das 240 proteínas nos três grupos. O agrupamento foi realizado no software MetaboAnalyst 3.0, utilizando a distância Euclidiana para o dendrograma e a correlação de Pearson para o mapa de calor e agrupamento (**Fig. 11 e 12**). A análise dos componentes principais (CP) evidenciou variação dos dados entre os grupos de estudo com sobreposição dos resultados (**Fig. 13**).

Fig. 11 - Dendrograma das proteínas identificadas. Dendrograma performado por meio da distância Euclidiana, variância mínima "Ward". **A**. Dados com *imputation*. **B**. Dados sem *imputation*.



Fig. 12 - Mapa de agrupamento e calor nos grupos de estudo. Diferença de abundância, alta abundância (vermelho) e baixa abundância, nas 240 proteínas (linhas) identificadas e quantificadas nos três grupos (colunas) (Z-score log2 valores de intensidade) **A**. Dados com *imputation*. **B**. Dados sem *imputation*.



Fig. 13 - Análise dos componentes principais. Score-plot 2D da análise dos componentes principais evidenciado diferença entre os três grupos. **A**. Dados com *imputation*. **B**. Dados sem *imputation*.



5.2.1 Proteínas exclusivas

Para as proteínas exclusivas, proteínas mais abundantes identificadas em uma condição quando comparada a outra, foram realizadas redes de associação afim de verificar a interação proteína-proteína (PPI) por meio do enriquecimento das proteínas exclusivas em cada grupo além de identificar os processos biológicos em que as proteínas estão associadas. No grupo do AP, das 39 proteínas exclusivas, apenas uma (Região C da cadeia Ig mu - IGHM) não foi identificada no banco de dados STRING (Szklarczyk et al., 2017). A rede de associação das 38 proteínas revelou interações e 28 processos biológicos significativos (PPI enriquecida valor de p: 2.53e-06) (**Fig. 14, Apêndice 5**).

Fig. 14 - Rede de associação das proteínas exclusivas do AP. PPI enriquecida de 38 das 39 proteínas exclusivas do AP. Linha azul claro: Interação conhecida por bancos de dados. Linha rosa: Interação conhecida por determinações experimentais. Linha verde: Interações preditivas por genes vizinhos. Linha vermelha: Interações preditivas por fusão de genes. Linha azul escura: Interações preditivas por co-ocorrência genética. Linha amarela: Interação obtida por mineração textual. Linha preta: Interação por co-expressão. Linha cinza: Interação por homologia proteica.



Não foram encontradas no banco de dados a imunoglobulina pesada variável 3-21 (IGHV3-21) no grupo de proteínas do APR e o Junção alfa do receptor de células T 56 (TRAJ56) no CXAP. As proteínas exclusivas do grupo APR não apresentaram nenhum tipo de interação (**Fig. 15**). As proteínas do CXAP, por sua vez, embora tenham apresentado interações, não foram identificados processos biológicos em com significância (**Fig. 16**).

Fig. 15 - Rede de associação das proteínas exclusivas do APR.



Fig. 16 - Rede de associação das proteínas exclusivas do CXAP. Linha azul claro: Interação conhecida por bancos de dados. Linha rosa: Interação conhecida por determinações experimentais. Linha amarela: Interação obtida por mineração textual. Linha preta: Interação por co-expressão. Linha cinza: Interação por homologia proteica.



A adição de proteínas intermediárias permitiu a identificação de processos biológicos nestes grupos. No APR, foi necessário adição 10 proteínas intermediárias (Alfa-enolase, beta-enolase, cornifina-A, filagrina, fosfoglicerato quinase 1, GTPase HRas, loricrin, molécula de adesão juncional A, nectina-3 e proteína 3 rica em prolina pequena) para que o grupo do APR apresentasse interações significativas (PPI enriquecida valor de P: 0.0156). Já no grupo de proteínas de CXAP foi preciso adicionar cinco proteínas intermediárias (Subunidade 1B do complexo 2/3 da proteína relacionada à actina, subunidade 2 do complexo 2/3 da proteína relacionada à actina, subunidade 4 do complexo 2/3 da proteína relacionada à actina e subunidade 5 do complexo 2/3 da proteína relacionada à actina) para obter uma interação significativa (PPI enriquecida valor de P: 0.00204) (**Apêndice 6**).

As proteínas anidrase carbônica 2 (CA2), Afadin (AFDN) e ATPase 3 do cálcio do retículo sarcoplasmático/endoplasmático (ATP2A3) identificadas no AP, APR e CXAP respectivamente foram selecionadas no grupo das proteínas exclusivas por meio da metodologia de Cardoso et al. (2019) para seleção das proteínas exclusivas. Um mapa de calor foi realizado de acordo com os resultados obtidos no de bancos de dados GEO (**Fig. 17**).

Fig. 17 - Seleção das proteínas-alvo do grupo das proteínas exclusivas. Mapa de calor elaborado de acordo com o número de bancos de dados da plataforma GEO.



5.2.2 Proteínas compartilhadas

Diante dos resultados, foram feitas análises comparativas entre os grupos, dividindo-os em 6 subgrupos: 1. AP x APR x CXAP; 2. AP x CXAP; 3. AP x APR; 4. APR x CXAP; 5. CXAP EP (CDS) x CXAP MIO (CM e CEM); 6. CXAP PREC (IC e MI) x CXAP AVAN (FI). Para cada correlação, foi necessário refazer a busca no MaxQuant (Cox e Mann, 2008) e a análise no Perseus. Por meio dos resultados realizados por análise de variância (ANOVA), para comparação entre três grupos, e do teste *Student t*, para comparação entre dois grupos, no software Perseus, foi possível observar a diferenças de abundância proteica estatisticamente significativas ($P \le 0,05$) entre os grupos de estudo.

5.2.2.1 Com imputation

Das 240 proteínas identificadas e quantificadas, 46 (19,2%) apresentaram diferenças estatisticamente significativa entre os subgrupos (**Tabela 8**), sendo 6 delas encontradas em mais de uma correlação (Proteína 5 de ligação a ácidos graxos, proteína 2D rica em prolina pequena, miosina-9, vimentina, envelope cornificado tardio 1B e prelamina-A/C). Quatro proteínas apresentaram diferença estatisticamente significativa na correlação entre o AP x APR x CXAP. Doze entre AP e CXAP, quatro entre AP x APR, doze entre APR x CXAP, sete entre CXAP EP x CXAP MIO e sete entre o CXAP PREC x CXAP AVAN.

Nome da Proteína	Gene	Correlação	Valor de P
Proteína 5 de ligação a ácidos graxos	FABP5	AP x APR x CXAP	0,02
Cadeia J de imunoglobulina	JCHAIN	AP x APR x CXAP	0,02
Cistatina-S	CST4	AP x APR x CXAP	0,02
Proteína 2D rica em prolina pequena	SPRR2D	AP x APR x CXAP	0,04
Proteína 3B contendo domínio RUN	RUNDC3B	AP x CXAP	0,01
Hornerin	HRNR	AP x CXAP	0,01
Constante alfa 1 pesada de imunoglobulina	IGHA1	AP x CXAP	0,01
Proteína do tipo codificada em Y putativa, específica de testículo	TSPY26P	AP x CXAP	0,02
Miosina-9	MYH9	AP x CXAP	0,02
Vimentina	VIM	AP x CXAP	0,02
Proteína 2D rica em prolina pequena	SPRR2D	AP x CXAP	0,02
Semenogelina-2	SEMG2	AP x CXAP	0,03
Lactoperoxidase	LPO	AP x CXAP	0,03
Proteína 14 associada ao RNA nucleolar pequeno U3, homólogo C	UTP14C	AP x CXAP	0,03
Distrofina	DMD	AP x CXAP	0,04
Proteína 3 relacionada à actina	ACTR3	AP x CXAP	0,05
Vimentina	VIM	AP x APR	0,04
Ácido delta-aminolevulínico desidratase	ALAD	AP x APR	0,04
Catepsina D	CTSD	AP x APR	0,05

Tabela 8 - Proteínas compartilhadas entre os subgrupos com $P \le 0.05$ por meio da análise com *imputation*

Galectina-1	LGALS1	AP x APR	0,05
Proteína 1 da matriz extracelular	ECM1	APR x CXAP	0,01
Beta globina	HBB	APR x CXAP	0,02
Miosina-9	MYH9	APR x CXAP	0,02
Subunidade µ1 do complexo AP1	AP1M1	APR x CXAP	0,03
Receptor olfativo 3A3	OR3A3	APR x CXAP	0,03
Proteína de transporte de ânion da banda 3	SLC4A1	APR x CXAP	0,03
Envelope cornificado tardio 1B	LCE1B	APR x CXAP	0,04
Queratina, citoesquelética 8 do tipo II	KRT8	APR x CXAP	0,04
Região C da cadeia gama Ig-1	IGHG1	APR x CXAP	0,05
Proteina S100-A2	S100A2	APR x CXAP	0,05
Prelamin-A/C	LMNA	APR x CXAP	0,05
Proteína 2 do domínio principal de quatro dissulfetos WAP	WFDC2	APR x CXAP	0,05
Filagrina	FLG	CXAP EP x CXAP MIO	0,02
Subunidade gama laminina-1	LAMC1	CXAP EP x CXAP MIO	0,02
Prelamina-A/C	LMNA	CXAP EP x CXAP MIO	0,03
Proteína 5 de ligação a ácidos graxos	FABP5	CXAP EP x CXAP MIO	0,03
Anexina A1	ANXA1	CXAP EP x CXAP MIO	0,04
Envelope cornificado tardio 1B	LCE1B	CXAP EP x CXAP MIO	0,04
Proteína POF1B	POF1B	CXAP EP x CXAP MIO	0,04
Queratina, Ha1 cuticular do tipo I	KRT31	CXAP PREC x CXAP AVAN	0,01
Queratina, Hb1 cuticular do tipo II	KRT81	CXAP PREC x CXAP AVAN	0,02
Proteína do complexo sinaptonemal 1	SYCP1	CXAP PREC x CXAP AVAN	0,04
Queratina, citoesquelética 16 do tipo I	KRT16	CXAP PREC x CXAP AVAN	0,04
Proteina-glutamina gama- glutamiltransferase E	TGM3	CXAP PREC x CXAP AVAN	0,05
Queratina, citoesquelética 14 do tipo I	KRT14	CXAP PREC x CXAP AVAN	0,05
Albumina	ALB	CXAP PREC x CXAP AVAN	0,05

Para as proteínas compartilhadas entre os subgrupos que apresentaram diferenças estatisticamente significativas, foram realizados mapas de calor e agrupamento (**Fig. 18**). Além disso, as proteínas compartilhadas foram submetidas à análise de enriquecimento no banco

dados Gene Ontology (GO) (Ashburner et al., 2000) e as redes de associação foram elaboradas no STRING (Szklarczyk et al., 2017).

Fig. 18 - Mapa de calor e agrupamento das proteínas com $P \le 0,05$ na análise com *imputation*. Os valores para cada proteína (linhas) e para cada amostra microdisseccionada (colunas) são coloridos com base na abundância de proteínas em valores altos (vermelho) e baixos (azul) (Z-score log2 valores de intensidade LFQ) **A**. AP x APR x CXAP. **B**. AP x CXAP. **C**. AP x APR, **D**. APR x CXAP. **E**. CXAP EP x CXAP MIO, **F**. CXAP PREC x CXAP AVAN.









1ª correlação: AP x APR x CXAP

No primeiro subgrupo, AP x APR x CXAP, a rede de associação entre as proteínas não revelou nenhuma interação (**Fig. 19A**). Para identificar interações significativas (PPI enriquecida valor de p: 0.000292), foi necessário adicionar 5 proteínas intermediárias

(Cornifina-B, proteína 2A rica em prolina pequena, proteína 2E rica em prolina pequena, proteína 2F rica em prolina pequena e proteína S100-A7) (**Apêndice 7**).

2ª correlação: AP x CXAP

Das doze proteínas que apresentaram diferença estatisticamente significativa no subgrupo AP x CXAP, duas (Constante pesada alfa 1 de imunoglobulina - IGHA1 e proteína do tipo codificada em Y putativa, específica de testículo - TSPY26P) não foram identificadas na base de dados. A rede de associação das 10 proteínas (**Fig. 19B**) revelou interações significativas (PPI enriquecida valor de p: 0.0166), não sendo necessária a adição de proteínas intermediárias (**Tabela 9**).

<u>3^a correlação: AP x APR</u>

A rede de associação entre as proteínas do terceiro subgrupo, AP x APR, (**Fig. 19C**), revelou interações com 3 processos biológicos em comum (**Tabela 9**), entretanto, as interações não foram significativas (PPI enriquecida valor de p: 0.119). Foram adicionadas 10 proteínas (5-aminolevulinato sintase inespecífica mitocondrial, 5-aminolevulinato sintase específica para eritróides mitocondrial, catepsina B, catepsina H, cistatina C, desmina, porfobilinogênio desaminase, proteína tipo 5 do ciclo de divisão celular, RAC-alfa serina/treonina-proteína quinase e Uroporfirinogênio-III sintase) para obter-se interações significativas (PPI enriquecida valor de p: 0.0268) (**Apêndice 7**).

4^a correlação: APR x CXAP

Não foi identificada a proteína Região C da cadeia gama Ig-1 - IGHG1 pertencente ao quarto subgrupo, APR x CXAP, no banco de dados. A rede de associação entre as 11 proteínas (**Fig. 19D**) além de não apresentar nenhum processo biológico em comum, não apresentou significância (PPI enriquecida valor de p: 0.349). Foi necessário adicionar 5 proteínas intermediárias (Hemoglobina alfa 1, subunidade β 1 do complexo AP-1, subunidade γ 1 do complexo AP-1, subunidade δ 1 do complexo AP-1 e subunidade δ 2 do complexo AP-1) para obter interações significativas (PPI enriquecida valor de p: 0.0103) (**Apêndice 7**).

5ª correlação: CXAP EP x CXAP MIO

No quinto subgrupo, CXAP EP x CXAP MIO, a rede de associação entre as 7 proteínas (**Fig. 19E**) identificou envolvimento de nove processos biológicos (**Tabela 9**). Entretanto, as interações não apresentaram significância (PPI enriquecida valor de p: 0.0514), sendo preciso adicionar 5 proteínas (Envelope cornificado tardio 1A, envelope cornificado tardio 1E, involucrina, nidogênio-1, subunidade alfa-5 da laminina) para exibir interações significantes (PPI enriquecida valor de p: 0.00567) (**Apêndice 7**).

6ª correlação: CXAP PREC x CXAP AVAN

No sexto subgrupo, CXAP PREC x CXAP MIO, a rede de associação entre as 7 proteínas (**Fig. 19F**) identificou envolvimento de dez processos biológicos (**Tabela 9**) com interações significativas (PPI enriquecida valor de p: 3.2e-07).

Fig. 19 - Rede de associação das proteínas com $P \le 0,05$ entre os subgrupos na análise com *imputation*. **A**. Rede de associação das proteínas do subgrupo AP x APR x CXAP. **B**. Rede de associação das proteínas do subgrupo AP x CXAP. **C**. Rede de associação das proteínas do subgrupo AP x CXAP. **C**. Rede de associação das proteínas do subgrupo AP x APR. **D**. Rede de associação das proteínas do subgrupo APR x CXAP. **E**. Rede de associação das proteínas do subgrupo CXAP EP x CXAP MIO. **F**. Rede de associação das proteínas do subgrupo CXAP PREC x CXAP AVAN. Linha azul claro: Interação conhecida por bancos de dados. Linha rosa: Interação conhecida por determinações experimentais. Linha verde: Interações preditivas por genes vizinhos. Linha vermelha: Interações preditivas por fusão de genes. Linha azul escura: Interações preditivas por co-ocorrência genética. Linha amarela: Interação obtida por mineração textual. Linha preta: Interação por co-expressão. Linha cinza: Interação por homologia proteica.



Processo biológico	TFD	Proteínas associadas ao processo	Subgrupo
Movimento baseado em filamentos de actina	0.0112	DMD, MYH9, VIM	AP x CXAP
Processo baseado em filamentos de actina	0.0225	ACTR3, DMD, MYH9, VIM	AP x CXAP
Deslizamento do filamento muscular	0.0299	DMD, VIM	AP x CXAP
Ciclo celular meiótico	0.0299	ACTR3, MYH9, UTP14C	AP x CXAP
Localização do eixo	0.0299	ACTR3, MYH9	AP x CXAP
Resposta imune	0.0154	ALAD, CTSD, LGALS1, VIM	AP x APR
Ativação de leucócitos envolvidos na resposta imune	0.0233	ALAD, CTSD, LGALS1	AP x APR
Regulação negativa do desenvolvimento da projeção de neurônios	0.0233	LGALS1, VIM	AP x APR
Desenvolvimento de tecidos	1.87e-05	ANXA1, FABP5, FLG, LAMC1, LCE1B, LMNA, POF1B	CXAP EP x CXAP MIO
Reticulação de peptídeos	0.00035	ANXA1, FLG, LCE1B	CXAP EP x CXAP MIO
Desenvolvimento da epiderme	0.00088	ANXA1, FABP5, FLG, LCE1B	CXAP EP x CXAP MIO
Regulação do processo biossintético da prostaglandina	0.00088	ANXA1, FABP5	CXAP EP x CXAP MIO
Diferenciação celular epitelial	0.0044	ANXA1, FLG, LCE1B, POF1B	CXAP EP x CXAP MIO
Diferenciação de queratinócitos	0.0077	ANXA1, FLG, LCE1B	CXAP EP x CXAP MIO
Diferenciação celular	0.0102	ANXA1, FLG, LAMC1, LCE1B, LMNA, POF1B	CXAP EP x CXAP MIO
Regulação do processo metabólico de ácidos graxos	0.0174	ANXA1, FABP5	CXAP EP x CXAP MIO
Montagem de junção celular	0.0373	LAMC1, POF1B	CXAP EP x CXAP MIO

Tabela 9 - Interações das proteínas $P \le 0.05$ compartilhas entre os subgrupos na análise com *imputation*

Queratinização	1.10e-06	KRT14, KRT16, KRT31, KRT81, TGM3	CXAP PREC x CXAP AVAN
Cornificação	2.52e-06	KRT14, KRT16, KRT31, KRT81	CXAP PREC x CXAP AVAN
Ciclo do cabelo	0.00011	KRT14, KRT16, TGM3	CXAP PREC x CXAP AVAN
Organização do citoesqueleto do filamento intermediário	0.0020	KRT14, KRT16	CXAP PREC x CXAP AVAN
Diferenciação celular	0.0032	KRT14, KRT16, KRT31, KRT81, SYCP1, TGM3	CXAP PREC x CXAP AVAN
Processo de organismo multicelular	0.0062	ALB, KRT14, KRT16, KRT31, KRT81, SYCP1, TGM3	CXAP PREC x CXAP AVAN
Desenvolvimento da estrutura anatômica	0.0209	KRT14, KRT16, KRT31, KRT81, SYCP1, TGM3	CXAP PREC x CXAP AVAN
Organização do componente celular	0.0217	ALB, KRT14, KRT16, KRT31, SYCP1, TGM3	CXAP PREC x CXAP AVAN
Organização do citoesqueleto	0.0358	KRT14, KRT16, KRT31	CXAP PREC x CXAP AVAN
Envelhecimento	0.0358	KRT14, KRT16	CXAP PREC x CXAP AVAN

TFD: Taxa de falsa descoberta

Os dados dos testes estatísticos identificados pela análise com *imputation* das proteínas que apresentaram processos biológicos associados à tumorigênese de cada subgrupo foram utilizados para seleção das proteínas alvos. Com intuito de diminuir a quantidade de proteínas com potencial de assinatura proteica foram padronizadas duas medidas de corte: 1. As proteínas deveriam apresentar um Log2-*ratio* > 2,5 (para regulação positiva) ou > -2,5 (para regulação negativa) na média de intensidade de LFQ de um grupo em relação ao outro grupo; 2. Apenas as 3 maiores diferenças de cada subgrupo foram selecionadas.

Por meio dessa abordagem, foram selecionadas 8 proteínas (**Tabela 10**). No subgrupo AP x APR x CXAP, duas proteínas distintas foram selecionadas sendo uma delas encontrada em mais de uma correlação. A Proteína 5 de ligação a ácidos graxos - FABP5 apresentou regulação positiva para o AP em relação ao APR e a cadeia J de imunoglobulina - IgJ regulação

negativa para o AP e APR em relação ao CXAP. Nos subgrupos, AP x CXAP e AP x APR nenhuma proteína foi enquadrada nos critérios de inclusão para assinatura proteica. No subgrupo APR x CXAP, 3 proteínas (Beta globina - HBB, miosina-9 - MYO9 e Subunidade µ1 do complexo AP1- AP1M1) regulação negativa par ao APR. No subgrupo CXAP EP x CXAP MIO e CXAP PREC x CXAP AVAN, apenas uma proteína foi selecionada em cada correlação. A Filagrina (FLG) exibiu regulação positiva para o CXAP EP e a Queratina, citoesquelética 16 do tipo I (KRT16) regulação negativa no CXAP PREC.

.

Proteína	Média AP	Média APR	Média CXAP	Média CXAP EP	Média CXAP MIO	Média CXAP PREC	Média CXAP AVAN	Razão	Correlação	Abundância	Principal processo biológico	TFD
FABP5	13057,5	227	-	-	-	-	-	57,5	AP x APR x CXAP	Positiva no AP	Processo metabólico do colesterol	1,36e- 05
IgJ	114,8	-	116389,1	-	-	-	-	0,0009	AP x APR x CXAP	Negativa no AP	Resposta imune adaptativa	1.56e- 08
IgJ	-	1182	116389,1	-	-	-	-	0,01	AP x APR x CXAP	Negativa no APR	Resposta imune adaptativa	1.56e- 08
HBB	-	89267	9323885	-	-	-	-	0,009	APR x CXAP	Negativa no APR	Transporte de oxigênio Movimento	2.36e- 13
MYH9	-	3214,7	115114,7	-	-	-	-	0,02	APR x CXAP	Negativa no APR	baseado em filamentos de actina	9.29e- 09
AP1M1	-	11809,6	16588695	-	-	-	-	0,0007	APR x CXAP	Negativa no CXAP	Processamento e apresentação de antígenos	1.20e- 18
FLG	-	-	-	144312,8	21259,6	-	-	6,7	CXAP EP x CXAP MIO	Positiva no CXAP EP	Cornificação	8.19e- 23
KRT16	-	-	-	-	-	2454,519	64870,11	0,037837	CXAP PREC x CXAP AVAN	Negativa no CXAP PREC	Cornificação	9.68e- 23

Tabela 10 - Proteínas candidatas para criação de assinatura proteica pela análise com imputation

TFD: Taxa de falsa descoberta

5.2.2.2 Sem imputation

A partir desta análise, 36 proteínas (15%) das 240 identificadas apresentaram diferenças estatisticamente significativa entre os subgrupos (**Tabela 11**). Treze proteínas apresentaram diferença estatisticamente significativa na correlação entre o AP x APR x CXAP. Dez entre AP e CXAP, seis entre AP x APR, uma entre APR x CXAP, cinco entre CXAP EP x CXAP MIO e uma entre o CXAP PREC x CXAP MIO. Duas proteínas (Apolipoproteína A-I e Proteína sigma 14-3-3) foram encontradas em mais de uma correlação.

Nome da Proteína	Gene	Correlação	Valor de P
Proteína do complexo sinaptonemal 1	SYCP1	AP x APR x CXAP	0,002
Tripsina-1	PRSS1	AP x APR x CXAP	0,01
Profilina-1	PFN1	AP x APR x CXAP	0,03
Queratina, citoesquelética 8 do tipo II	KRT8	AP x APR x CXAP	0,03
Proteína sigma 14-3-3	SFN	AP x APR x CXAP	0,03
Aldolase A de frutose-bifosfato	ALDOA	AP x APR x CXAP	0,03
Proteína específica da pele 32	C1orf68/XP32	AP x APR x CXAP	0,04
Proteína S100-A7	S100A7	AP x APR x CXAP	0,05
Apolipoproteína A-I	APOA1	AP x APR x CXAP	0,04
Haptoglobina	HP	AP x APR x CXAP	0,05
Polubiquitina-C	UBC	AP x APR x CXAP	0,05
Isomerase de triosefosfato	TPI1	AP x APR x CXAP	0,05
Histona H1.2	HIST1H1C	AP x APR x CXAP	0,05
Queratina, citoesquelética do 80 tipo II	KRT80	AP x CXAP	0,003
Região C da cadeia kappa de Ig	IGKC	AP x CXAP	0,006
Lipocalina-1	LCN1	AP x CXAP	0,007
Apolipoproteína A-I	APOA1	AP x CXAP	0,01
Queratina, citoesquelética 1b do tipo II	KRT77	AP x CXAP	0,03
Queratina, citoesquelética 78 do tipo II	KRT78	AP x CXAP	0,03
Proteína de transporte de ânion da banda 3	SLC4A1	AP x CXAP	0,03

Tabela 11 - Proteínas compartilhadas entre os subgrupos com $P \le 0,05$ por meio da análise sem *imputation*

Peroxiredoxina-1	PRDX1	AP x CXAP	0,04
Alfa-actinina-1	ACTN1	AP x CXAP	0,05
Queratina, citoesquelética 7 do tipo II	KRT7	AP x CXAP	0,05
Subunidade µ1 do complexo AP1	AP1M1	AP x APR	0,0002
Vimentina	VIM	AP x APR	0,0008
Proteína 5 de ligação a ácidos graxos	FABP5	AP x APR	0,01
Proteína sigma 14-3-3	SFN	AP x APR	0,02
Citocromo P450 3A43	PIP	AP x APR	0,04
Subunidade beta da hemoglobina	HBB	AP x APR	0,05
Histona H2B tipo 1N	HIST1H2BN	APR x CXAP	0,03
Dermicidina	DCD	CXAP EP x CXAP MIO	0,0002
Pré-laminina A-C	LMNA	CXAP EP x CXAP MIO	0,03
Receptor olfativo 3A3	OR3A3	CXAP EP x CXAP MIO	0,04
Galectina-7	LGALS7	CXAP EP x CXAP MIO	0,04
Subunidade alfa da hemoglobina	HBA1	CXAP EP x CXAP MIO	0,05
Queratina, citoesquelética 6A do tipo II	KRT6A	CXAP PREC x CXAP AVAN	0,02

Mapa de agrupamento e calor foi elaborado com as proteínas compartilhadas entre os subgrupos que apresentaram diferenças estatisticamente significativas (**Fig. 20**). Não foi possível gerar mapa de mapa de calor pela plataforma do MetaboAnalyst da correlação APR x CXAP e CXAP PREC x CXAP AVAN uma vez que apenas uma proteína foi identificada em cada subgrupo. Assim como na análise com *imputation*, as proteínas compartilhadas foram submetidas à análise de enriquecimento no banco dados Gene Ontology (GO) (Ashburner et al., 2000) e as redes de PPI foram elaboradas no STRING (Szklarczyk et al., 2017).

Fig. 20 - Mapa de calor e agrupamento das proteínas com $P \le 0,05$ na análise sem *imputation*. Os valores para cada proteína (linhas) e para cada amostra microdisseccionada (colunas) são coloridos com base na abundância de proteínas, na qual os valores altos (vermelho) e baixo (azul) (Z-score log2 valores de intensidade LFQ). **A.** Proteínas identificadas na correlação AP x APR x CXAP. **B**. Proteínas identificadas na correlação AP x CXAP. **C**. Proteínas identificadas na correlação AP x CXAP. **D**. Proteínas identificadas na correlação CXAP EP x CXAP MIO.



<u>1ª correlação: AP x APR x CXAP</u>

No subgrupo AP x APR x CXAP, embora as proteínas tenham apresentado interações entre si (**Fig. 21A**), não houve significância entre estas interações (PPI enriquecida valor de p: 0.204) (**Tabela 12**), sendo necessário adição de 10 proteínas intermediárias (Apolipoproteína A-II, apolipoproteína B-100, apolipoproteína C-III, enzima conjugadora de ubiquitina E2 S, fosfoglicerato quinase 1, Homólogo da proteína 20 do ciclo de divisão celular, gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase, glicose-6-fosfato isomerase, proteína associada ao complexo principal de anemia de Fanconi 20 e ubiquitina E3 ligase RAD18) para que as interações apresentassem valor significativo (PPI enriquecida valor de p: 0.00903) (**Apêndice 8**).

2ª Correlação: AP x CXAP

Apesar de uma proteína (Região C da cadeia kappa de Ig - IGKC) não ser identificada no banco de dados, a rede de associação de 9 das 10 proteínas do subgrupo AP x CXAP (**Fig. 21B**) revelou interações significativas (PPI enriquecida valor de p: 2,14e-06) (**Tabela 12**).

3^a correlação: AP x APR

A rede de associação das proteínas do subgrupo AP x APR não evidenciou nenhuma interação (**Fig. 21C**). A adição de 5 proteínas intermediárias (Subunidade alfa da hemoglobina, subunidade β 1 do complexo AP-1, subunidade γ 1 do complexo AP-1, subunidade δ 1 do complexo AP-1 e subunidade δ 2 do complexo AP-1) revelou interações significativas (PPI enriquecida valor de p: 0,0279) (**Apêndice 8**)

4^a correlação: APR x CXAP

Não foi possível observar a rede de associação das proteínas que deram diferença estatisticamente significativa nos grupos APR x CXAP tendo em vista que apenas uma proteína (Histona H2B tipo 1-N - HIST1H2BN) apresentou diferença significativa. Entretanto, foi possível observar a associação desta proteína com os principais parceiros funcionais previsíveis (Histona H2A tipo 1-A, histona H2A tipo 1-C, histona H2A tipo 1-H, histona H2A tipo 3, histona H2A.J, histona-macro macro-H2A.1, histona H2A tipo 1-B/E, histona H2A tipo 2-B, núcleo histona macro-H2A.2 e proteína 1 de ligação a TP53) (**Fig. 21D**). A rede de associação

da Histona H2B tipo 1-N com os principais parceiros funcionais evidenciou interações significativas (PPI enriquecida valor de p: 1.22e-14) (**Apêndice 8**).

5ª correlação: CXAP EP x CXAP MIO

As proteínas do subgrupo CXAP EP x CXAP MIO não apresentaram interações entre si (**Fig. 21E**). A adição de 5 proteínas (Subunidade alfa 2 da hemoglobina, subunidade beta da hemoglobina, subunidade delta da hemoglobina, subunidade epsilon da hemoglobina e subunidade hemoglobina gama-2) permitiu a identificação de interações significativas (PPI enriquecida valor de p:0.000297) (**Apêndice 8**)

6ª correlação: CXAP PREC x CXAP AVAN

Não foi possível observar a rede de associação das proteínas que deram diferença estatisticamente significativa entre os grupos CXAP PREC x CXAP AVAN tendo em vista que apenas uma proteína (Queratina, citoesquelética 6A do tipo II – KRT6A) apresentou diferença significativa.

Fig. 21 - Rede de associação das proteínas com $\leq 0,05$ entre os subgrupos na análise sem *imputation*. **A**. Rede de associação das proteínas do subgrupo AP x APR x CXAP. **B**. Rede de associação das proteínas do subgrupo AP x CXAP. **C**. Rede de associação das proteínas do subgrupo AP x APR. **D**. Rede de associação da HIST1H2BN com seus principais parceiros de ligação. **E**. Rede de associação das proteínas do subgrupo CXAP EP x CXAP MIO. **F**. Rede de associação da KRT6A com seus principais parceiros de ligação. Linha azul claro: Interação conhecida por bancos de dados. Linha rosa: Interação conhecida por determinações experimentais. Linha verde: Interações preditivas por genes vizinhos. Linha vermelha: Interações preditivas por fusão de genes. Linha azul escura: Interações preditivas por co-ocorrência genética. Linha amarela: Interação obtida por mineração textual. Linha preta: Interação por co-expressão. Linha cinza: Interação por homologia proteica.



Processo biológico	TFD	Proteínas associadas ao processo	Subgrupo
Diferenciação de queratinócitos	0.0269	C1orf68, KRT8, S100A7, SFN	AP x APR x CXAP
Síntese de DNA envolvida no reparo de DNA	0.0328	SYCP1, UBC	AP x APR x CXAP
Gliconeogênese	0.0328	ALDOA, TPI1	AP x APR x CXAP
Regeneração de NADH	0.0328	ALDOA, TPI1	AP x APR x CXAP
Geração de ATP a partir do ADP	0.0328	ALDOA, TPI1	AP x APR x CXAP
Processo biossintético NAD	0.0328	ALDOA, TPI1	AP x APR x CXAP
Processo biossintético de piruvato	0.0328	ALDOA, TPI1	AP x APR x CXAP
Desenvolvimento epitélio	0.0328	C1orf68, KRT8, PFN1, S100A7, SFN	AP x APR x CXAP
Glicólise canônica	0.0328	ALDOA, TPI1	AP x APR x CXAP
Processo catabólico de glicose para piruvato	0.0328	ALDOA, TPI1	AP x APR x CXAP
Processo metabólico de piruvato	0.0335	ALDOA, TPI1	AP x APR x CXAP
Regulação positiva da montagem do feixe de filamentos de actina	0.0335	APOA1, PFN1	AP x APR x CXAP
Exocitose regulada	0.0335	ALDOA, APOA1, HP, S100A7	AP x APR x CXAP
Processo biossintético de ATP	0.0362	ALDOA, TPI1	AP x APR x CXAP
Regulação da montagem de fibras de tensão	0.0380	APOA1, PFN1	AP x APR x CXAP
Organização de componentes celulares	0.0426	ALDOA, APOA1, HIST1H1C, KRT8, PFN1, PRSS1, SFN, SYCP1, UBC	AP x APR x CXAP
Processo organizacional multicelular	0.0426	ALDOA, APOA1, C1orf68, KRT8, PFN1, PRSS1, S100A7, SFN, SYCP1, TPI1	AP x APR x CXAP
Organização de organelas	0.0438	ALDOA, HIST1H1C, KRT8, PFN1, SFN, SYCP1, UBC	AP x APR x CXAP

Tabela 12 - Interações das proteínas $P \le 0.05$ compartilhas entre os subgrupos na análise sem *imputation*

Processo multi-organismo	0.0438	ALDOA, HP, KRT8, S100A7, SYCP1, UBC	AP x APR x CXAP
Processo catabólico de nucleotídeos	0.0441	ALDOA, TPI1	AP x APR x CXAP
Processo biossintético de monofosfato de ribonucleosídeo de purina	0.0441	ALDOA, TPI1	AP x APR x CXAP
Processo metabólico de glicose	0.0467	ALDOA, TPI1	AP x APR x CXAP
Resposta ao estresse	0.0467	APOA1, HP, KRT8, S100A7, SFN, SYCP1, UBC	AP x APR x CXAP
Montagem de componentes celulares	0.0467	ALDOA, APOA1, HIST1H1C, KRT8, SYCP1, UBC	AP x APR x CXAP
Organização do citoesqueleto de actina	0.0467	ALDOA, KRT8, PFN1	AP x APR x CXAP
Cornificação	8.28e-05	KRT7, KRT77, KRT78, KRT80	AP x CXAP
Desenvolvimento de sistema	0.0330	ACTN1, APOA1, KRT7, KRT77, KRT78, KRT80, PRDX1	AP x CXAP
Desenvolvimento de órgãos animais	0.0400	ACTN1, APOA1, KRT7, KRT77, KRT78, KRT80	AP x CXAP
Transporte aniônico orgânico	0.0421	APOA1, LCN1, SLC4A1	AP x CXAP
Processo organizacional multicelular	0.0429	ACTN1, APOA1, KRT7, KRT77, KRT78, KRT80, LCN1, PRDX1	AP x CXAP

TFD: Taxa de falsa descoberta

Os dados dos testes estatísticos identificados pela análise sem *imputation* das proteínas que apresentaram processos biológicos associados à tumorigênese de cada subgrupo foram utilizados para seleção das proteínas alvos. Com intuito de diminuir a quantidade de proteínas com potencial de assinatura proteica foram padronizadas duas medidas de corte: 1. As proteínas deveriam apresentar um Log2 > 2,5 (para regulação positiva) ou > -2,5 (para regulação negativa) na média de intensidade de LFQ de um grupo em relação ao outro grupo; 2. Apenas as 3 maiores diferenças de cada subgrupo foram selecionadas.

De acordo com esse método, 7 proteínas candidatas a criação de assinatura proteica foram selecionadas (**Tabela 13**, **Fig 22**). No subgrupo AP x APR x CXAP, 3 proteínas foram selecionadas, sendo 2 (Apolipoproteína A-I - APOA1 e Haptoglobina - HP) com regulação positiva no AP em relação ao APR e CXAP e 1 (Proteína do complexo sinaptonemal 1 - SYCP1) com regulação negativa para o APR em relação ao CXAP (**Fig. 22A-22C**). A proteína de transporte de ânion da banda 3 (SLC4A1) foi a única que se enquadrou na metodologia para criação de assinatura proteica no subgrupo AP x CXAP, apresentando regulação negativa no AP (**Fig. 22D**). No subgrupo AP x APR, duas proteínas (Subunidade µ1 do complexo AP-1 - AP1M1 e Subunidade beta da hemoglobina - HBB), apresentaram regulação positiva para o AP (**Fig. 22E** e **F**). A dermicidina (DCD) apresentou regulação positiva para o CXAP EP no subgrupo CXAP EP x CXAP MIO (**Fig. 22G**). Nos subgrupos APR x CXAP e CXAP PREC x CXAP AVAN não houve proteína candidata para criação de assinatura proteica.

Proteína	Média AP	Média APR	Média CXAP	Média CXAP EP	Média CXAP MIO	Razão	Correlação	Abundância	Principal processo biológico	TFD
HP	2430,5	81,6	-	-	-	29,7	AP x APR x CXAP	Positiva no AP	Transporte mediado por vesículas	2.19e-09
APOA1	2567,6	-	111,3	-	-	23,1	AP x APR x CXAP	Positiva no AP	Regulação de lipoproteínas plasmáticas	1.51e-21
SYCP1	-	356,2	3671,5	-	-	0,09	AP x APR x CXAP	Negativa no APR	Montagem do complexo sinaptonemal	8.86e-20
SLC4A1	48717,4	-	4503068	-	-	92,4	AP x CXAP	Negativa no AP	Processo metabólico da hemoglobina	0.0024
AP1M1	589582131,8	2754466	-	-	-	214	AP x APR	Positiva no AP	Processamento e apresentação de antígenos	1.20e-18
HBB	1115336668	294353,2	-	-	-	3789,1	AP x APR	Positiva no AP	Transporte de oxigênio	2.36e-13
DCD	-	-	-	2024855	327869,8	6,1	CXAP EP x CXAP MIO	Positiva no CXAP EP	Atividade antimicrobiana	4.43e-14

Tabela 13 - Proteínas candidatas para criação de assinatura proteica pela análise sem imputation

TFD: Taxa de falsa descoberta

Fig. 22 - Intensidade LFQ das proteínas candidatas para assinatura proteica na análise sem *imputation*. **A**. Intensidade LFQ da HP na primeira correlação com regulação positiva no AP em relação ao APR. * = 0,05. **B**. Intensidade LFQ da APOA1 na primeira correlação com regulação positiva no AP em relação ao CXAP. * = 0,04. **C**. Intensidade LFQ da SYCP1 na primeira correlação com regulação negativa no APR em relação ao CXAP. ** = 0,001. **D**. Intensidade LFQ da SLC4A1 na correlação com regulação negativa no AP em relação ao CXAP. ** = 0,001. **D**. Intensidade LFQ da AP1M1 na terceira correlação com regulação positiva no AP em relação ao APR. *** = 0,002. **F**. Intensidade LFQ da HBB na terceira correlação com regulação positiva no AP em relação ao APR. *** = 0,002. **G**. Intensidade LFQ da DCD na quinta correlação com regulação positiva no CXAP EP em relação ao CXAP MIO. *** = 0,0002. Pontos acima da barra de erros representam *outliers*.



6 DISCUSSÃO

Com os avanços tecnológicos na genética e biologia molecular, a longo prazo, haverá uma tendência em classificar as doenças por seu perfil molecular ao invés de suas características morfológicas (Nagpal et al., 2016). Atualmente, a análise proteômica vem auxiliando na descoberta de novos marcadores para determinadas doenças e lesões por meio de análises comparativas da expressão de proteínas em tecidos normais e de doenças para identificar proteínas expressas aberrantes (Tyers e Mann, 2003; Kawahara et al., 2016).

De acordo com Kawahara e colaboradores (2016), o CFB, C3, C4B, SERPINA1 e LRG1 estão associados ao risco maior de desenvolver carcinoma espinocelular oral (CECO). Tais achados foram descobertos por meio da análise proteômica comparativa de amostras de saliva em pacientes saudáveis, com a neoplasia e curados. O estudo de Flores et al. (2016), analisou a expressão de proteínas na mucosa oral normal com o CECO por meio de MS. Os resultados deste estudo evidenciaram que 388 proteínas eram inerentes ao carcinoma, destas, a super expressão do complexo EEF1D estava relacionado com a invasividade destas neoplasias, refletindo um caráter mais agressivo.

Semelhantemente, o estudo de Carnielli e colaboradores (2018) analisou o perfil proteômico de ilhas neoplásicas e estroma da frente do tumor invasivo de CECO, o qual evidenciou que, por meio de análise proteômica - MS, a baixa expressão do CSTB nas ilhas da frente do tumor invasivo é um marcador independente para recorrência local. Com esse achado, tal marcador pode atuar como uma assinatura prognóstica contribuindo para decisões terapêuticas mais eficazes. Diante de tais resultados obtidos por meio da MS, somado ao fato da redução dos requisitos de amostra e ao alto rendimento, o presente estudo analisou o perfil protêomico do AP, APR e CXAP por meio da MS.

Apesar de ser uma técnica promissora, há poucos estudos na literatura que utilizaram a MS como metodologia explorativa do proteoma dos tumores de glândulas salivares (Freitas et al., 2007; Donadio et al., 2013; He et al., 2014; Ernst et al., 2015; Xu et al., 2016; Panaccione et al., 2017; Mutlu et al., 2017; Cardoso et al., 2019; Fonseca et al., 2019; Seccia et al., 2019). Em relação as lesões AP e CXAP, apenas 5 estudos avaliaram a abundância proteica por meio da MS (Donadio et al., 2013; Ernst et al., 2015; Mutlu et al., 2017; Cardoso et al., 2019; Seccia et al., 2019; Seccia et al., 2019; Seccia et al., 2019; Donadio et al., 2013; Ernst et al., 2015; Mutlu et al., 2017; Cardoso et al., 2019; Seccia et al., 2019; Seccia et al., 2020) e nenhum avaliou a abundância das proteínas no APR. Entretanto, para melhor de nosso entendimento, não há estudos proteômicos baseados em MS que avaliaram a transformação maligna do AP, nos fazendo pioneiros nessa análise.

Em relação ao tipo de amostra, há um consenso que análises proteômicas a partir de tecido fresco acarretam em uma maior identificação e quantificação proteica. Apesar da detecção proteica de amostras oriundas de tecidos fixados em formalina e embebidos em parafina ser mais desafiadora em virtude das várias alterações e modificações que a formalina causa nas proteínas (Bayer et al., 2020), tal técnica apresenta satisfatória detecção e diversos estudos tem feito mão destas amostras para detecção e caracterização do proteoma de diversos sistemas (Wiśniewski, Duś, Mann, 2013; Donczo et al., 2018; Mantsiou et al., 2020). Cabe ressaltar que, para a metodologia utilizada, o uso do tecido fresco ou congelado inviabilizaria o estudo, uma vez que a microdissecção das amostras fixadas em formalina e embebida em parafina permitiu a individualização dos componentes funcionais, células epiteliais e mioepiteliais, dos tumores.

Outro ponto importante relacionado a metodologia para aquisição das amostras, é que no presente estudo, houve um enriquecimento das amostras ao individualizar os componentes epiteliais e os mioepiteliais, sem a participação do estroma. O emprego desta metodologia pode explicar as diferenças quantitativas das proteínas encontradas entre o presente estudo dos demais que utilizaram AP e CXAP. Além disso, tal metodologia poderia ser o motivo da não identificação e quantificação de proteínas bem reconhecidas nestas lesões como a PLAG1 e a HMGA2, uma vez que o microambiente tumoral não foi incluído. Apesar da técnica de LCM ser bastante efetiva, além da preocupação em capturar apenas os componentes celulares, não há como comprovar que não houve contaminação dos componentes estromais nas nossas amostras.

Nossos resultados apontam que algumas proteínas, sub ou superabundantes nos variados estágios de evolução para transformação maligna do AP, podem ser marcadores diagnósticos e/ou prognósticos viáveis. Cabe ressaltar que o presente estudo é baseado em proteômica de descoberta e representa um trabalho primário da proteômica no contexto de transformação maligna do AP, não tendo como objetivo, ao primeiro momento, a validação de biomarcadores ou alvos terapêuticos. É importante salientar, também, que a área microdisseccionada e o número de casos foram os principais limitantes deste estudo. A microdissecção de maiores áreas, bem como um maior número de casos, acarretaria em uma maior identificação e quantificação proteica.

O perfil clínico-patológico dos pacientes com AP em nosso estudo, a predileção pelas glândulas salivares maiores (parótidas), o pico de incidência entre a 3ª e 6ª década de vida, características clínicas e histopatológicas, foram semelhantes ao que vem sendo descrito nas principais séries da literatura (Ito et al., 2009; Fonseca et al., 2012; Bell et al., 2017; Korba et

al., 2017; Pérez-de-Oliveira et al., 2019a; Schapher et al., 2019; Mariano et al., 2020; Scarini et al., 2020). A única diferença observada foi em relação ao sexo, no qual houve um predomínio pelo sexo masculino, como foi observado por Patigaroo e colaboradores (2014). Tal diferença se deu, provavelmente, pela quantidade de casos incluídos neste estudo.

Em relação aos pacientes com CXAP, em nossa série, a maioria consistiu em indivíduos idosos do sexo masculino que estavam entre a sexta e sétima década de vida idosos, com prevalência de lesões em estágios avançados da doença (estádio clínico III e IV) nas parótidas. Assim como nos resultados do AP, com exceção da predileção pelo sexo masculino, os demais resultados corroboram com o que vem sendo descrito na literatura (Altemani et al., 2005; Katabi et al., 2010; Antony et al., 2012; Di Palma et al., 2013; Mariano et al., 2013a; Williams, Ihrler e Seethala, 2017). A maioria das lesões de CXAP do presente estudo, entretanto, foi diagnosticada em estágios precoces de invasão, divergindo dos achados anteriores do nosso grupo de pesquisa (Mariano et al., 2013a, Egal et al., 2018; Scarini et al., 2020).

A análise das proteínas exclusivas deste estudo evidenciou proteínas, com exceção da CA2 e da Fosfoglicerato mutase 1 (PGAM1), que até então não haviam sido descritas em AP e CXAP. Entretanto, foram identificas proteínas inerentes ao AP em nosso estudo (ANXA6; SOD2 e YWHAB) que compartilhavam da mesma família de proteínas identificadas em APs de outros estudos, ANXA1, ANXA2, ANXA4, ANXA5, SOD1 e YWHAE (Donadio et al., 2013; Mutlu et al., 2017; Cardoso et al., 2019; Seccia et al., 2020). Em relação as proteínas compartilhadas, foram encontradas proteínas neste estudo (**Apêndice 3**) em comum ou da mesma família de proteínas em outros estudos (**Apêndice 9**)

A CA2 pertence à família da anidrase carbônica e está envolvida em diversos processos biológicos tais como reabsorção óssea, diferenciação de osteoclastos, hidratação reversível do dióxido de carbono, regulação de pH intracelular no epitélio de vilosidades dentre outros (Kim et al., 2002; Adamus, Yang e Weleber, 2016; Petreni et al., 2020). A regulação positiva do CA2 é vista nas glândulas salivares e está relacionada com várias doenças, entretanto seu papel no processo de tumorigênese ainda é pouco esclarecido (Brown et al., 2012; Adamus, Yang e Weleber, 2016; Zhang et al., 2018). A atuação do CA2 varia de acordo com o tipo do tumor. Em cânceres de bexiga, a regulação positiva está associada à invasividade do tumor, já no câncer colorretal está associada com a inibição da proliferação celular (Zhou et al., 2013; Baker Bechmann et al., 2016). O estudo de Zhang e colaboradores (2018) evidenciou que a CA2 confere um caráter mais indolente ao carcinoma hepatocelular, uma vez que a mesma inibiu a tumorigênese e as metástases.
Apesar de apresentar uma alta abundância nas glândulas salivares, no que diz respeito aos tumores desta região, poucos estudos relataram a abundância da CA2. Shen e colaboradores (2015) evidenciaram positividade no Carcinoma mucoepidermoide por meio de estudo comparativo imunoistoquímico de adenocarcinomas sinonasais células renais-like. Já Mutlu et al. (2017), demonstraram regulação negativa no AP quando comparado ao tecido glandular normal por meio de MS. Tais dados fortalecem nossos achados, comprovando a abundância desta proteína nos TGS. Além disso, fica evidente que a CA2 tem um papel duplo e a interação com outras proteínas e vias devem estar associadas com diferenças de abundância nos tumores. Pelo fato dela ser uma proteína exclusiva no AP em nosso estudo, acreditamos que a CA2 deve atuar como um supressor para o desenvolvimento do CXAP conforme os resultados de Baker Bechmann et al. (2016) e Zhang et al. (2018).

A PGAM1 é enzima glicolítica essencial na glicólise, sendo responsável pela conversão da conversão de 3-fosfoglicerato (3-PG) em 2-fosfoglicerato (2-PG) (Hitosugi et al., 2012). Tendo como base o efeito Wanburg, em que células neoplásicas captam mais glicose quando comparadas às células do tecido normal e favorecem a glicólise mesmo na presença de oxigênio. O estudo de Hitosugi e colaboradores (2013) demonstrou que a fosforilação da PGAM1 induzida por tirosinas quinase é comum em tumores. Tal evento proporciona um benefício metabólico à proliferação e crescimento tumoral. Além disso, diversos estudos caracterizaram a PGAM1 como uma importante colaboradora na etiopatogênese tumoral. A sua abundância foi associada com o crescimento tumoral e sua inibição resulta em diminuição do crescimento tumoral e aumento da apoptose (Zhang et al., 2017).

Apesar da PGAM1 ter sido identificada em amostras de AP e CM por LC-MS, não houve nenhuma implicação de sua abundância com a patogênese dessas lesões (Cardoso et al., 2019) No CECO entretanto, a abundância da PGAM1 foi associada com migração celular tumoral por meio da ativação de vias de sinalização em conjunto com outros proto-oncogenes (Zhang et al., 2017). Tais dados estão em consonância com os nossos resultados uma vez que a PGAM1 foi identificada no APR. Tal proteína pode estar associada com a progressão do AP ao longo de sua transformação maligna por meio da regulação de vias metabólicas.

As anexinas A (ANXA) são uma família de proteínas dependentes de Ca^{2+} e ligação a fosfolipídios que exercem uma importante função na modulação do crescimento celular, inflamação e vias de transdução de sinal (Gerke e Moss, 2002; Mussunoor e Murray, 2008; Sugimoto et al., 2016; Niu et al., 2019). Desequilíbrios na função e abundância das ANXAs são relatados em diversos tumores de acordo com a natureza, estágio e tipo da lesão (Lin, Huang e

Juan, 2012; Qi et al., 2015; Tu e Johnstone, Stewart, 2017; Christensen et al., 2018; Rentero et al., 2018). Em relação aos tumores de glândulas salivares, não há um consenso sobre o papel das ANXAs na etiopatogenia dessas lesões.

De acordo com Donadio e colaboradores (2013), a superabundância da ANXA1 e ANXA4, em associação com outras proteínas, atua na ativação do TP53, importante regulador da proliferação celular. Tais associações foram vistas em outros adenomas (Giusti et al., 2011), o que nos leva a sugerir que a abundância de ANXA1 e ANXA4 pode estar associada a natureza benigna dos adenomas. A regulação positiva ANXA2 e ANXA5, por sua vez, foi associada aos tumores salivares malignos (Cardoso et al., 2019; Seccia et al., 2020). Mutlu et al. (2017), entretanto, detectaram regulação positiva da ANXA5 no AP.

A ANXA6, embora não tenha sido identificada em tumores de glândulas salivares, foi associada com vários outros tumores. Assim como as outras anexinas, a ANXA6 está associada com funções diferentes de acordo com o tipo de tumor. Alguns estudos apontam sua abundância como possível marcador tumoral para o câncer de colo de útero (Lomnytska et al., 2010) e pior prognóstico na leucemia mieloide aguda (Niu et al., 2019), enquanto outros implicam a ANXA6 como supressor de tumor no câncer gástrico, de mama, próstata e melanoma (Vilá de Muga et al., 2009; Wang et al., 2013; Qi et al., 2015). Tendo em vistas estes aspectos, faz-se necessário mais estudos que busquem elucidar o papel da ANXA6 na etiopatogênse dos tumores de glândula salivar.

A família das superóxidos dismutases (SOD), SOD cobre-zinco (SOD1), SOD de manganês (SOD2) e SOD extracelular (SOD3), tem um papel essencial na homeostase das espécies reativas de oxigênio (Hempel, Carrico e Melendez, 2011; Jung et al., 2019). As SODs são caracterizadas por converter o superóxido (O_2^-) em oxigênio molecular e peróxido de hidrogênio (H₂O₂). O H₂O₂ é posteriormente é convertido em água e oxigênio pela catalase e peroxiredoxina (Maynard et al., 2009; Che et al., 2016). Por desempenharem funções homeostáticas e no metabolismo celular, as SODs têm sido associadas como fatores cruciais para os processos de tumorigênese e carcinogênese (Maynard et al., 2009; Kim et al., 2017; Chenxia et al., 2019).

Inicialmente, a SOD2 foi definida como um supressor tumoral devido a demonstração da diminuição dos níveis de SOD2 em alguns tumores. Entretanto, estudos atuais relatam níveis heterogêneos de abundância, variando de acordo com o tipo e estágio do tumor (Liu et al., 2010; Dhar e St Clair, 2012; Che et al., 2016; Zou et al., 2019). De modo geral, a abundância da SOD2

em tumores tende a ser reduzida nos estágios iniciais e aumentar em estágios mais avançados e em tumores metastáticos (Liu et al., 2010; Hempel, Carrico e Melendez, 2011; Liu et al., 2012; Che et al., 2016). Em relação aos tumores de glândulas salivares, Chang et al. (2016) relataram que o aumento da SOD2 estava associado ao potencial invasivo e metastático do Carcinoma adenoide cístico. Baseado nesses resultados, a abundância da SOD2 no AP pode estar associada com o potencial metastático da lesão e com sua transformação maligna. Até o momento, o paciente que apresentou abundância da SOD2 encontra-se livre da doença sem apresentar recidivas ou transformação maligna. Contudo, vale ressaltar que a abundância da SOD2 está associada com diversos fatores, intrínsecos e extrínsecos, que podem refletir em alterações diferentes para cada tipo de tumor.

A família YWHA ou 14-3-3 é caracterizada por apresentar proteínas de ligação fosfoserina/fosfotreonina. As proteínas desta família são de bastante relevância por desempenharem consideráveis funções nas vias de sinalização, proliferação e diferenciação celular (Bridges e Moorhead, 2005; Morrison, 2009). A alta abundância de determinadas proteínas desta família tem sido implicada como possível marcador diagnóstico, prognóstico e alvo terapêutico (Radhakrishnan et al., 2011; Khorrami et al., 2017; Xu et al., 2020). Até o momento, não há relatos da abundância da 14-3-3 beta (YWHAB) da em tumores de glândulas salivares, entretanto, estudos prévios detectaram a YWHAE em amostras de AP, e associaram sua regulação positiva com atividades da antiapoptóticas (Donadio et al., 2013; Mutlu et al., 2017).

Há muito vem se especulando o papel da YWHAB como um fator oncogênico, o estudo em modelo animal realizado por Takihara, Matsuda e Hara (2000) evidenciou que a superexpressão YWHAB está relacionada com proliferação celular e tumorigênese de células NIH 3T3 em camundongos. Seguindo essa linha de raciocínio, diversos estudos têm mostrado tal relação. A análise de fluidos corporais (soro e urina) revelou que a altos níveis da YWHAB estavam associados com piores prognósticos no câncer hepatocelular e no carcinoma renal de células claras (Kaneko et al., 2016; Lin et al., 2017). Em adição, um estudo *in vitro* demonstrou aumento da YWHAB em linhagens celulares de osteossarcomas e sugeriu que inibição da mesma poderia ser utilizada como marcador alvo terapêutico (Wu et al., 2018). Diante de tais resultados, fica claro a relação da YWHAB com o processo de tumorigênese, entretanto faz-se necessário estudos mais aprofundados e específicos para compreender o seu papel na etiopatogênese do AP. Recentemente, a AFDN foi identificada no Adenocarcinoma polimorfo e no Carcinoma adenoide cístico de glândulas salivares (Fonseca et al., 2019), porém não houve nenhuma implicação com as lesões. Sabe-se que a AFDN é uma proteína de ligação ao filamento de actina que atua no sistema de adesão celular, essencial para organização de junções aderentes (Takai e Nakanishi, 2003; Mandai et al., 2013). Além disso, a AFDN está associada as nectinas, e em conjunto regulam diversos processos importantes para sobrevivência celular, como adesão, polarização, migração, diferenciação e entrada de patógenos (Takai et al., 2008; Mandai et al., 2013; Shah et al., 2018).

A AFDN foi relacionada com tumores de endométrio, cólon, mama e pâncreas, em estudos variados, nos quais evidenciaram que a perda da abundância da AFDN está associada com proliferação e invasão das células neoplásicas (Fournier et al., 2011; Sun et al., 2014; Yamamoto et al., 2015; Xu et al., 2015; Tabariès et al., 2019). Com isso, levantamos a hipótese que AFDN possa ter um papel de supressão tumoral na gênese do CXAP, uma vez a mesma foi encontrada em altos níveis no APR, e a perda de abundância acarreta em proliferação, migração e invasão celular em outros tumores. Entretanto, levando em consideração a transformação maligna do AP, a AFDN deveria ser identificada no AP ou CXAP para confirmar ou descartar essa hipótese.

As proteínas ATPase de cálcio retículo sarcoplasmático/endoplasmático (ATP2A) são importantes reguladores do cálcio. As diversas proteínas da família APT2A, codificadas por três genes (ATP2A1-3), possuem abundância que variam de acordo com o tecido e o estágio de desenvolvimento (Periasamy e Kalyanasundaram, 2007; Arbabian et al., 2011). Estudos com a ATP2A3 mostraram relação genética e proteica com a sinalização de cálcio, homeostasia do cálcio por meio da regulação das bombas de cálcio, proliferação e diferenciação celular, tais funções constituem importantes modelos de estudo na para carcinogênese (Arbabian et al., 2011; Izquierdo-Torres et al., 2017).

Contrariamente ao nosso estudo, a regulação negativa da ATP2A3 foi relatada em diversos tipos de cânceres, como câncer gástrico, cólon retal, mama, pulmão, tireoide e oral (Pacifico et al., 2003; Endo et al., 2004; Izquierdo-Torres et al., 2017; Arbabian et al., 2013; Meneses-Morales et al., 2019). A regulação positiva da ATP2A3 no CXAP pode ser um reflexo da heterogeneidade que os tumores de glândulas salivares, sendo necessário mais estudos para entender o mecanismo biológico desta proteína neste grupo de tumores.

Diante do exposto, pretende-se analisar, por meio de coloração imunoistoquímica, a abundância da CA2, AFDN e ATP2A3 nos grupos selecionados a fim de obtermos mais respostas sobre o papel destas proteínas na patogênese das lesões, além de incluir ou descartar tais proteínas como possíveis marcadores diagnósticos. Vale ressaltar que identificação, não só dessas três proteínas, mas de todas as proteínas exclusivas relatadas no presente estudo, possam não ser, necessariamente, exclusivas de cada lesão tendo em vista o quantitativo da amostra e da área microdisseccionada.

Em relação as proteínas compartilhadas, dentre as proteínas que exibiram diferenças estatisticamente significativas entre os subgrupos, quatorze foram selecionadas usando as duas abordagens avaliativas (**Tabela 9** e **12**). Em virtude de algumas proteínas terem sido encontradas em correlações e análises distintas, nesta sessão será abordada o papel das proteínas no contexto da tumorigênese e sua relação com a transformação maligna do AP ao invés de abordar os resultados por metodologia analítica.

Diante do exposto, a primeira proteína identificada foi a FABP5 na correlação AP x APR x CXAP por meio da análise com *imputation*, a qual evidenciou regulação positiva para o AP em relação ao APR. A FABP5 é uma transportadora intracelular cuja principal função está relacionada com o metabolismo de lipídeos e ácidos graxos (McKillop, Girardi e Thompson, 2019). Além disso, desempenha importante papel no transporte do ácido retinóico, inflamação, proliferação, diferenciação e sobrevida celular. É encontrada com frequência na epiderme, rim, pulmão, fígado, cérebro, glândulas mamárias e adipócitos (Liu et al., 2011; Kaczocha et al., 2012; McKillop, Girardi e Thompson, 2019). A desregulação proteica e genética tem se mostrado um modelo de estudo bastante pertinente no processo de tumorigênese (Kannan-Thulasiraman et al., 2010; Wang et al., 2016; Zhao et al., 2017).

Os eventos associados com alterações funcionais da FABP5 nas células tumorais afiguram ser inerentes ao tecido, uma vez que ela é identificada em células normais (McKillop, Girardi e Thompson, 2019). A FABP5 tem sido associada com um promotor tumoral em diversos tipos de câncer (Senga et al., 2018; Zhan et al., 2019). Zhao e colaboradores (2017) demonstraram que o silenciamento do *FABP5* inibe a proliferação e invasão celular no câncer gástrico. Nossos resultados, entretanto, vão contra ao que vem sendo relatado na literatura, uma vez que foi evidenciado regulação positiva no AP em relação ao APR. No contexto de transformação maligna do AP, era esperado que o APR apresentasse maior abundância do que o AP.

A IgJ ou JCHAIN é uma proteína encontrada em diversos tecidos do corpo humano sendo mais encontrada no trato gastrointestinal, sangue, tecido linfoide e nas glândulas salivares (Ramachandran et al., 2006; Burkard et al., 2011). Desempenha um importante papel na resposta imune, sendo responsável por ligar unidades de monômero de IgA ou IgM (Cruz-Rodrigues et al., 2016). Tanto a expressão gênica quanto a proteica, tem sido relatada em tumores. A regulação positiva foi sugerida como possível biomarcador para o câncer gástrico (Jiang et al., 2017) e preditor prognóstico em câncer de cabeça e pescoço (Liu et al., 2020). Além disso, um estudo em modelo animal evidenciou superexpressão da IgJ em amostras de camundongos com carcinoma colorretal em relação ao grupo controle (Wang et al., 2016).

A regulação positiva do IgJ é bem relatada em neoplasias hematopoiéticas sendo associada com um pior prognóstico na leucemia linfoblástica aguda (Harvey et al., 2010; Cruz-Rodriguez et al., 2016; Tomar, Agarwal e Kundu, 2019). Cruz-Rodriguez e colaboradores (2016) propuseram que a superexpressão do *IGJ*, em conjunto com outros genes, implica num pior prognóstico devido ao aumento da sobrevivência das células tumorais provavelmente mediante sinalização da via NF-kB. Apesar dos tumores de glândulas salivares apresentarem biologia diferente das neoplasias hematopoiéticas, tais dados corroboram com nossos achados, uma vez que a IgJ apresentou regulação negativa no AP e no APR em relação ao CXAP, na correlação AP x APR x CXAP. Assim a regulação negativa da IgJ poderia atuar como um fator supressor para transformação maligna do AP.

Na análise sem *imputation* da correlação AP x APR x CXAP, a APOA1 e HP exibiram regulação positiva para o AP e a SYCP1 para o APR. A relação dessas proteínas com a tumorigênese será abordada adiante. A APOA1 é a principal proteína estrutural e funcional da lipoproteína de alta densidade (HDL) (Mangaraj, Nanda e Panda, 2016). Além de desempenhar papeis no transporte e homeostase do colesterol, apresenta importantes funções no sistema imunológico, inflamação e no câncer (Borgquist et al., 2016; Georgila, Vyrla e Drakos, 2019).

Interessantemente, a HP apresentou regulação positiva para o AP quando comparado com o APR. Por ser uma proteína de fase aguda e ter concentrações elevadas na infecção, inflamação e tumorigênese (Andersen et al., 2017), no contexto de transformação maligna do AP, esperava-se que sua regulação positiva estivesse associada ao APR. Adicionalmente, a regulação negativa da HP foi correlacionada com atividades antitumorais no câncer de cólon (Sun et al., 2016) e sua expressão implicaria na progressão da doença tanto no câncer de cólon quanto no câncer de cabeça e pescoço (Mariño-Crespo et al., 2019; Li et al., 2020) além de

servir como um marcador diagnóstico para lesões potencialmente malignas para o câncer de colo de útero (Qiu et al., 2019).

Ao comparar o CXAP com o APR, percebe-se que há uma abundância mais elevada no CXAP (**Fig. 22A**), corroborando com todos os achados descritos anteriormente. Entretanto, quando comparamos o AP com o CXAP, nossos achados vão contra ao que vem sido relatado na literatura. Não houve nenhuma condição clínica que justificasse o aumento da HP sobre o APR e CXAP. Diante de tais aspectos, percebemos que a regulação positiva da HP esteja associada com fatores de promoção tumoral independente da natureza da lesão.

As apoliproteínas são reconhecidas por apresentarem atividades antiapoptótica. A apoliproteína E (APOE) foi identificada em amostras de AP. De acordo com o estudo de Mutlu e colaboradores (2017), a sua abundância estava associada com a ativação da TP53, reforçando sua função antiapoptótica. Alguns estudos relataram alta abundância da APOA1 no de câncer de cabeça e pescoço e no de mama masculina (Gourin, Zhi e Adam, 2009; Zografos et al., 2019), outros, entretanto, relataram baixa abundância no câncer colorretal, de endométrio, estômago, fígado, mama, pâncreas e pulmão (Ehmann et al., 2007; Farias-Eisner et al., 2010; Qin et al., 2013; Jung et al., 2015; Mangaraj, Nanda e Panda, 2016; Liu et al., 2017; Li et al., 2018, Zabłocka-Słowińska et al., 2019). Ratificando tais achados, o estudo analítico do perfil sérico de pacientes com tumores sólidos de Muntoni e companhia (2009) evidenciou níveis reduzidos de APOA1 em pacientes com câncer. Além disso, Zamanian-Daryoush et al. (2013), demonstraram redução de tumores e metástases em camundongos após a injeção de APOA1.

Os nossos resultados indicam que a regulação positiva da APOA1 no AP sobre o CXAP pode ser uma proteína relacionada com o retardo da transformação maligna, tendo em vista que a alta abundância desta proteína modula o sistema imunológico, inibe a angiogênese e promovem a expressão de macrófagos com fenótipo antitumorais (M1) (Zamanian-Daryoush et al., 2013; Mangaraj, Nanda e Panda, 2016). Em nossa análise, o AP 4 se apresentou como *outlier* (**Fig. 22B**), entretanto não há nenhuma evidência clínica (**Apêndice 1**) ou histopatológica que justifique esta alteração, o que nos leva a acreditar que esse aumento possa estar relacionado com outros fatores inerentes ao paciente.

A SYCP1 pertence a uma família de proteínas que são minimamente expressas no tecido normal, exceto nos tecidos germinativo, e altamente expressos em cânceres (Nielsen e Gjerstorff, 2016; Shida et al., 2020) O estudo de Sun e colaboradores (2017) relatou alta abundância de SYCP1 em neurogliomas e que sua regulação negativa da SYCP1 estava associada com a inibição da progressão do neuroglioma. Estes resultados, estão de acordo com os nossos tendo em vista que houve uma alta abundância da SYCP1 no CXAP e estava regulada negativamente no APR, podendo servir com uma proteína supressora para transformação maligna em CXAP (**Fig. 22C**). Curiosamente, o caso de CXAP que se apresentou como *outlier* apresentou grau de invasividade mínimo, intracapsular. Na correlação CXAP PREC x CXAP AVAN, a SYCP1 não foi selecionada nem apresentou diferenças estatisticamente significativa entre nesta correlação, entretanto, uma avaliação mais aprofundada da abundância da SYCP1 nos diferentes estágios de invasão do CXAP poderia nos trazer mais respostas acerca da patogênese da lesão.

A SLC4A1, importante proteína responsável pela homeostase de íons e regulação do pH intracelular (Xu et al., 2009; Wu et al., 2010), exibiu maior abundância no CXAP e regulação negativa no AP (**Fig. 22D**). A SLC4A1 tem diversos papeis importantes na carcinogênese, como mediação da proliferação celular por meio da ligação ao p16, alcalinização celular e regulação de vias de sinalização MAPK e Hedgehog envolvidas com a progressão tumoral (Xu et al., 2009; Wu et al., 2010; Suo et al., 2012; Shiozaki et al., 2017). Baseado nesses aspectos e diante dos nossos resultados, regulação negativa no AP e a alta abundância no CXAP, consideramos a SLC4A1 como uma proteína importante no contexto de transformação maligna do AP atuando como supressora do CXAP.

A AP1M1 foi identificada em duas correlações, uma sem *imputation* AP x APR e outra com *imputation* APR x CXAP. Curiosamente, foi encontrado regulação positiva no AP sobre o APR e negativa no CXAP sobre o APR. Ultimamente, além da regulação do transporte vesicular e a ligação de proteínas transmembranas, algumas funções relacionadas à progressão tumoral foram relatadas no estudo desta proteína (Kulpa et al., 2013). Foi relatado que sua interação com proteínas transmembranas acarreta em regulação de eventos celulares importantes, tais como hiperplasia, crescimento e proliferação (Park et al., 2013; Yoneyama et al., 2013). Assim, a regulação positiva dessa proteína nos tumores está associada com a progressão tumoral. Entretanto, a baixa abundância no APR quando comparado ao AP (**Fig. 22E**) no contexto de transformação maligna do AP é conflitante.

A regulação negativa do CXAP sobre o APR dos nossos achados, no contexto de progressão tumoral, também vai de contra ao que vem sendo reportado. Recentemente, um estudo in *vitro* demonstrou que regulação positiva da AP1M1 acelera a proliferação de células hepáticas neoplásicas (Kou et al., 2019). Adicionalmente, alta abundância da AP1M1 foi

sugerida como um possível biomarcador para metástases no SNC do câncer de mama triplo negativo (Rojas et al., 2019).

Assim, a regulação negativa no CXAP e a regulação positiva no AP sobre o APR nos leva a acreditar que essa proteína apresente um mecanismo biológico diferente nos tumores de glândulas salivares, principalmente na transformação maligna do AP. Outros fatores como ligação com proteínas secundárias e ativação ou inibição de vias proliferativas, podem estar associados com o aumento de Abundância no AP e diminuição no CXAP. Nossos resultados sugerem que a regulação negativa da AP1M1 esteja associada com a transformação maligna do AP.

Assim como a proteína anterior, a HBB foi encontrada em duas correlações: AP x APR sem *imputation* e APR x CXAP com *imputation*. Na primeira, foi observada regulação positiva para o AP em relação ao APR e regulação negativa para o APR em relação ao CXAP. Ponzetti e colaboradores (2017) relataram que, além do transporte de oxigênio, quando regulada positivamente, a HBB estava relacionada com a progressão do câncer de mama por meio da estimulação da invasão, migração e Abundância de fatores angiogênicos. Além disso, a HBB auxilia na sobrevivência das células tumorais durante a disseminação metastática pela corrente sanguínea (Zheng et al., 2017). O papel de supressor tumoral também foi relatado, entretanto, a regulação positiva da HBB seria desencadeada nas células normais do hospedeiro por fatores derivados das células tumorais (Maman et al., 2017).

Pelo fato de termos microdisseccionado apenas tecido tumoral, acreditamos que a Abundância de HBB identificada em nosso estudo seja proveniente das células tumorais. Seguindo a linha de transformação maligna do AP, tais evidências estão de acordo com a regulação negativa no APR em comparação com o CXAP. Na comparação AP x APR (**Fig. 22F**), entretanto, os achados de Ponzetti et al. (2017), vão contra nossos resultados. Outro fato intrigante, diz respeito aos achados de Onda et al. (2005), no qual a abundância de HBB não foi identificada em lesões de natureza benigna e tecido normal tireoidiano. Por terem biologias diferentes, a abundância positiva no AP pode estar relacionada com outros fatores, sendo necessários mais estudos acerca do HBB na patogênese do AP em especial.

A MYH9 é uma proteína bem reconhecida que desempenha importantes funções celulares, como organização do citoesqueleto, arquitetura tecidual, regulação da adesão e migração celular (Pecci et al., 2018). Desregulações na sua expressão, genética e proteica, tem sido implicada no câncer. Alguns estudos propuseram que a regulação negativa do MYH9

acelera o desenvolvimento tumoral e a progressão maligna (Schramek et al., 2014). Adicionalmente, Conti et al. (2015) evidenciaram que mutações no *MYH9* estão presentes em aproximadamente 10% de todos carcinomas de células escamosas de cabeça e pescoço e que sua regulação negativa, além de promover a tumorigênese, a mutação está ligada a mutações no *TP53*.

Outros estudos, todavia, relataram que a abundância da MYH9 está envolvida com atividades relacionadas a progressão tumoral, ou seja, oncogênicas (Liao et al., 2017; Ye et al., 2017). O trabalho recém publicado de Wang e colaboradores (2019) relatou que a alta abundância da MYH9 aumentou a migração e proliferação celular in *vitro* no câncer colorretal além de aumentar o crescimento celular em camundongos. Tais dados estão de acordo com os nossos resultados, o que nos leva a creditar que a MYH9 exerce um papel de promotor tumoral na transformação maligna do AP. Assim, no contexto de transformação maligna, quando regulada negativamente, a MYH9 atua como supressora para o desenvolvimento do CXAP.

A FLG é uma proteína que desempenha papeis na diferenciação e barreira epidérmica. Desregulações em sua expressão estão associadas com algumas doenças (Kawasaki et al., 2012; Pendaries et al., 2014; Dang et al., 2016). Leick e colaboradores (2019) evidenciaram que a regulação negativa do *FLG*, junto com *distonina*, está atrelada diminuição da proliferação celular de melanomas. Assim, a regulação positiva da FLG é um achado esperado em neoplasias epiteliais, ratificando nossos resultados.

Alterações genéticas, epigenéticas e proteicas na FLG foram associadas com diversas doenças de origem epitelial (Irvine, McLean e Leung et al., 2011; Kuang et al., 2016; Zhou, Bai e Li, 2018; Leick et al., 2019). Por ser uma proteína estrutural e funcional de células epiteliais, a regulação positiva no CXAP EP é justificada, uma vez que este subgrupo foi composto exclusivamente por CDS e tal neoplasia é caracterizada por apresentar diferenciação epitelial. Salerno et al. (2016), relataram baixa sobrevida e menor infiltração imune em melanomas e cânceres de ovário que apresentaram regulação positiva de FLG. A regulação positiva no CXAP EP, composto por CDS, pode estar relacionada com o comportamento mais agressivo desse grupo de tumores.

Interessantemente, o estudo de Lemound e colaboradores (2015) avaliou a Abundância da caspase 14 e sua co-expressão FLG, em tumores de glândulas salivares, incluindo AP e CXAP. Eles observaram que a FLG não foi detectada em casos carcinoma salivar e apenas um caso de AP exibiu fraca co-expressão de FLG. Tais resultados vão contra os nosso, uma vez que a regulação positiva em carcinomas salivares foi identificada em nosso estudo. Estudos mais aprofundados são necessários para maiores esclarecimentos sobre a função da FLG nessas neoplasias.

A DCD é uma proteína com atividade antimicrobiana, promove a sobrevivência dos neurônios e exibe a atividade da fosfatase (Lee Motoyama et al., 2007). Apesar de ser expressa em alguns carcinomas (Bancovik et al., 2015; Qiu et al., 2018; Zhang et al., 2018), seu papel não é bem estabelecido (Schittek, 2012). Especula-se que sua alta abundância possua atividades promotoras tumorais, por meio do aumento a proliferação celular e a resistência à apoptose (Porter et al., 2003; Stewart et al., 2008).

Zhang et al., (2018) relataram uma alta abundância da DCD no câncer gástrico quando comparado ao tecido gástrico normal e concluíram que essa elevada abundância está correlacionada com o estadiamento clínico, diferenciação tumoral e presença de metástase linfonodal, servindo como um preditor de pior prognóstico. Nossos resultados exibiram regulação positiva da DCD nos CXAP EP em relação ao CXAP MIO (**Fig. 22G**) e, curiosamente, o caso que exibiu a maior abundância de DCD (CXAP1) apresentou grau de invasão mínimo (IC) sem metástase linfonodal (**Apêndice 2**). Apesar do CXAP1 apresentar T3 no estadiamento clínico, não foi possível inferir correlações da DCD com o tamanho clínico tendo em vista que em outros tumores T3 e T4 não houve identificação desta proteína. A DCD poderia servir como um preditor prognóstico associado ao subtipo histológico, uma vez que os CDS são neoplasias mais agressivas. Tal fato justificaria a regulação positiva para o CXAP EP sobre o CXAP MIO.

Na correlação CXAP PREC x CXAP AVAN apenas uma proteína, KRT16, se enquadrou nos critérios de seleção. Trata-se de uma proteína com funções de suma importância na pele, atuando como modulara da imunidade na resposta ao rompimento da barreira epidérmica (Paris et al., 2013). O estudo de Riker e colaboradores (2008) identificou superexpressão do *KRT16* em carcinomas de células basais, carcinomas de células escamosas e melanomas.

Ademais, recentemente foi relatado superexpressão do KRT16 em adenocarcinomas pulmonares, estando associado com piores prognósticos sendo correlacionado com a presença de metástases. Tais dados estão de acordo com os nossos resultados, uma vez que os CXAP AVAN estão mais associados com metáteses quando comparado com aos CXAP PREC (Yuanhua et al., 2019). Apesar desses dados, é prudente avaliar com cautela a participação desta

proteína no contexto de tumorigênese. Estudos proteômicos que utilizaram a LCM detectaram essa proteína como um contaminante ao invés de pertencer ao proteoma da lesão estudada (Carnielli et al., 2018; Fonseca et al., 2019).

7 CONCLUSÃO

Nossos resultados demonstraram o perfil protêomico do AP ao longo da sua transformação maligna por meio de análise por MS. De acordo com a metodologia avaliativa e dos critérios utilizados neste trabalho, propusemos 15 proteínas (AFDN, AP1M1, APOA1, ATP2A3, CA2, DCD, FABP5, FLG, HBB, HP, IgJ, MYH9, SLC4A1, SYCP1 e KRT16) com potencial de assinatura proteica e marcadores associados com a progressão ou supressão da transformação maligna do AP (AP, APR e CXAP).

• Proteínas exclusivas

Em relação a assinatura proteica, propusemos a CA2 e AFDN para o AP e APR por podem estar associadas com funções de inibição para o desenvolvimento do CXAP. A ATP2A3 exibiu alta abundância no CXAP.

• Proteínas compartilhadas

AP x APR x CXAP

Regulação positiva da FABP5 no AP. A regulação negativa da IgJ no AP e APR pode atuar como um supressor para transformação em CXAP.

Regulação positiva da HP no AP. A regulação positiva da APOA1 e a regulação negativa da SYCP1 nas contrapartes benignas (AP e APR) podem atuar como inibidores para o desenvolvimento do CXAP.

<u>AP x CXAP</u>

A regulação negativa da SLC4A1 no AP pode atuar como supressor para a transformação maligna.

<u>AP x APR</u>

Regulação positiva da AP1M1 e da HBB no AP.

APR x CXAP

Regulação negativa do AP1M1, HBB e MYH9 no APR podem atuar como inibidores para a transformação maligna.

CXAP EP x CXAP MIO

A regulação positiva da FLG e DCD podem atuar como marcador de pior prognóstico associado ao subtipo histopatológico.

CXAP PREC x CXAP AVAN

Regulação negativa da KRT16 no CXAP PREC em relação ao CXAP AVAN.

Vale ressaltar que a validação destas proteínas e a investigação por outras metodologias são de fundamental importância afim de obtermos respostas mais concretas acerca deste complexo processo que é a transformação maligna do AP. Apesar das limitações que este estudo apresentou, área microdisseccionada e número de amostras, acreditamos que nossos resultados possam colaborar com a literatura atual além de servir como base para trabalhos futuros para o melhor entendimento sobre o complexo processo que é a transformação maligna do AP.

REFERÊNCIAS

- Abrahão AC, Santos Netto JN, Pires FR, Santos TC, Cabral MG. Clinicopathological characteristics of tumours of the intraoral minor salivar glands in 170 Brazilian patients. Br J Oral Maxillofac Surg. 2016 Jan;54(1):30-4.
- 2. Abu-Ghanem Y, Mizrachi A, Popovtzer A, Abu-Ghanem N, Feinmesser R. Recurrent pleomorphic adenoma of the parotid gland: Institutional experience and review of the literature. J Surg Oncol. 2016 Nov;114(6):714-718.
- 3. Adamus G, Yang S, Weleber RG. Unique epitopes for carbonic anhydrase II autoantibodies related to autoimmune retinopathy and cancer-associated retinopathy. Exp Eye Res. 2016 Jun;147:161-168.
- 4. Aebersold R, Mann M. Mass-spectrometric exploration of proteome structure and function. Nature. 2016 Sep 15;537(7620):347-55.
- 5. Agaimy A, Iro H, Zenk J. [Pediatric salivary gland tumors and tumor-like lesions]. Pathologe. 2017 Jul;38(4):294-302.
- 6. Altemani A, Martins MT, Freitas L, Soares F, Araújo NS, Araújo VC. Carcinoma ex pleomorphic adenoma (CXPA): immunoprofile of the cells involved in carcinomatous progression. Histopathology. 2005 Jun;46(6):635-41.
- 7. Alves FA, Perez DE, Almeida OP, Lopes MA, Kowalski LP. Pleomorphic adenoma of the submandibular gland: clinicopathological and immunohistochemical features of 60 cases in Brazil. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 2002 Dec;128(12):1400-3.
- 8. Alves VLA, Pérez-de-Oliveira ME, de Castro JFL, Vieira CL, Leão JC, Perez DEDC. Intraoral Pleomorphic Adenoma in Young Patients. J Craniofac Surg. 2018 Mar;29(2):e209-e211.
- 9. Andersen CBF, Stødkilde K, Sæderup KL, Kuhlee A, Raunser S, Graversen JH, Moestrup SK. Haptoglobin. Antioxid Redox Signal. 2017 May 10;26(14):814-831.
- 10. Andreasen S, Therkildsen MH, Bjørndal K, Homøe P. Pleomorphic adenoma of the parotid gland 1985-2010: A Danish nationwide study of incidence, recurrence rate, and malignant transformation. Head Neck. 2016 Apr;38 Suppl 1:E1364-9.
- 11. Antony J, Gopalan V, Smith RA, Lam AK. Carcinoma ex pleomorphic adenoma: a comprehensive review of clinical, pathological and molecular data. Head Neck Pathol. 2012 Mar;6(1):1-9.
- 12. Arbabian A, Brouland JP, Gélébart P, Kovàcs T, Bobe R, Enouf J, Papp B. Endoplasmic reticulum calcium pumps and cancer. Biofactors. 2011 May-Jun;37(3):139-49.
- 13. Arboleda LPA, Hoffmann IL, Cardinalli IA, Gallagher KPD, Santos-Silva AR, Mendonça RMH. Oral and maxillofacial cancer in pediatric patients: 30 years experience from a Brazilian reference center. Int J Pediatr Otorhinolaryngol. 2020 Jan 10;131:109879.

- 14. Asahina M, Saito T, Hayashi T, Fukumura Y, Mitani K, Yao T. Clinicopathological effect of PLAG1 fusion genes in pleomorphic adenoma and carcinoma ex pleomorphic adenoma with special emphasis on histological features. Histopathology. 2019 Feb;74(3):514-525.
- 15. Ashburner M, Ball CA, Blake JA, et al. Gene ontology: tool for the unification of biology. The Gene Ontology Consortium. Nat Genet. 2000;25(1):25-29.
- Augello C, Gregorio V, Bazan V, Cammareri P, Agnese V, Cascio S, Corsale S, Calò V, Gullo A, Passantino R, Gargano G, Bruno L, Rinaldi G, Morello V, Gerbino A, Tomasino RM, Macaluso M, Surmacz E, Russo A. TP53 and p16INK4A, but not H-KI-Ras, are involved in tumorigenesis and progression of pleomorphic adenomas. J Cell Physiol. 2006 Jun;207(3):654-9.
- Baker Bechmann M, Rotoli D, Morales M, Maeso Mdel C, García Mdel P, Ávila J, Mobasheri A, Martín-Vasallo P. Na,K-ATPase Isozymes in Colorectal Cancer and Liver Metastases. Front Physiol. 2016 Jan 29;7:9.
- Bancovik J, Moreira DF, Carrasco D, Yao J, Porter D, Moura R, Camargo A, Fontes-Oliveira CC, Malpartida MG, Carambula S, Vannier E, Strauss BE, Wakamatsu A, Alves VA, Logullo AF, Soares FA, Polyak K, Belizário JE. Dermcidin exerts its oncogenic effects in breast cancer via modulation of ERBB signaling. BMC Cancer. 2015 Feb 19;15:70.
- 19. Bartkova J, Horejsí Z, Koed K, Krämer A, Tort F, Zieger K, Guldberg P, Sehested M, Nesland JM, Lukas C, Ørntoft T, Lukas J, Bartek J. DNA damage response as a candidate anti-cancer barrier in early human tumorigenesis. Nature. 2005 Apr 14;434(7035):864-70.
- Bayer M, Angenendt L, Schliemann C, Hartmann W, König S. Are formalin-fixed and paraffin-embedded tissues fit for proteomic analysis? J Mass Spectrom. 2020 Aug;55(8):e4347
- Bell D, Bullerdiek J, Gnepp DR, Schwartz MR, Stenman G, Triantafyliou A. Pleomorphic Adenoma. In: El-Naggar AK, Chan JK, Grandis Jennifer R, Takata T, Slootweg PJ, organizadores. WHO Classification Head Neck Tumours. Fourth. 2017;185-186.
- 22. Bensimon A, Heck AJ, Aebersold R. Mass spectrometry-based proteomics and network biology. Annu Rev Biochem. 2012;81:379-405.
- 23. Bjørndal K, Krogdahl A, Therkildsen MH, Overgaard J, Johansen J, Kristensen CA, Homøe P, Sørensen CH, Andersen E, Bundgaard T, Primdahl H, Lambertsen K, Andersen LJ, Godballe C. Salivary gland carcinoma in Denmark 1990-2005: a national study of incidence, site and histology. Results of the Danish Head and Neck Cancer Group (DAHANCA). Oral Oncol. 2011 Jul;47(7):677-82.
- 24. Bridges D, Moorhead GB. 14-3-3 proteins: a number of functions for a numbered protein. Sci STKE. 2005 Aug 9;2005(296):re10.
- 25. Brown BF, Quon A, Dyck JR, Casey JR. Carbonic anhydrase II promotes cardiomyocyte hypertrophy. Can J Physiol Pharmacol. 2012 Dec;90(12):1599-610.

- 26. Burkard TR, Planyavsky M, Kaupe I, Breitwieser FP, Bürckstümmer T, Bennett KL, Superti-Furga G, Colinge J. Initial characterization of the human central proteome. BMC Syst Biol. 2011 Jan 26;5:17.
- Cardoso CM, de Jesus SF, de Souza MG, Queiroz LDRP, Santos EM, Dos Santos EP, Oliveira LP, Cordeiro Santos CK, Santos SHS, de Paula AMB, Farias LC, Guimaraes ALS. High levels of ANXA2 are characteristic of malignant salivary gland tumors. J Oral Pathol Med. 2019 Nov;48(10):929-934.
- Carlson ER, Schlieve T. Salivary Gland Malignancies. Oral Maxillofac Surg Clin North Am. 2019 Feb;31(1):125-144.
- 29. Carnielli CM, Macedo CCS, De Rossi T, Granato DC, Rivera C, Domingues RR, Pauletti BA, Yokoo S, Heberle H, Busso-Lopes AF, Cervigne NK, Sawazaki-Calone I, Meirelles GV, Marchi FA, Telles GP, Minghim R, Ribeiro ACP, Brandão TB, de Castro G Jr, González-Arriagada WA, Gomes A, Penteado F, Santos-Silva AR, Lopes MA, Rodrigues PC, Sundquist E, Salo T, da Silva SD, Alaoui-Jamali MA, Graner E, Fox JW, Coletta RD, Paes Leme AF. Combining discovery and targeted proteomics reveals a prognostic signature in oral cancer. Nat Commun. 2018 Sep 5;9(1):3598.
- 30. Chang B, Yang H, Jiao Y, Wang K, Liu Z, Wu P, Li S, Wang A. SOD2 deregulation enhances migration, invasion and has poor prognosis in salivary adenoid cystic carcinoma. Sci Rep. 2016 May 16;6:25918.
- 31. Che M, Wang R, Li X, Wang HY, Zheng XFS. Expanding roles of superoxide dismutases in cell regulation and cancer. Drug Discov Today. 2016 Jan;21(1):143-149.
- 32. Chien CH, Chuang JY, Yang ST, Yang WB, Chen PY, Hsu TI, Huang CY, Lo WL, Yang KY, Liu MS, Chu JM, Chung PH, Liu JJ, Chou SW, Chen SH, Chang KY. Enrichment of superoxide dismutase 2 in glioblastoma confers to acquisition of temozolomide resistance that is associated with tumor-initiating cell subsets. J Biomed Sci. 2019 Oct 19;26(1):77.
- 33. Chitturi RT, Veeravarmal V, Nirmal RM, Reddy BV. Myoepithelial Cells (MEC) of the Salivary Glands in Health and Tumours. J Clin Diagn Res. 2015 Mar;9(3):ZE14-8.
- 34. Christensen MV, Høgdall CK, Jochumsen KM, Høgdall EVS. Annexin A2 and cancer: A systematic review. Int J Oncol. 2018 Jan;52(1):5-18.
- Clamp M, Fry B, Kamal M, Xie X, Cuff J, Lin MF, Kellis M, Lindblad-Toh K, Lander ES. Distinguishing protein-coding and noncoding genes in the human genome. Proc Natl Acad Sci U S A. 2007 Dec 4;104(49):19428-33.
- 36. Clarós P, Choffor-Nchinda E, Lopez-Fortuny M, Zofia Sobolewska A, Clarós A. Lacrimal gland pleomorphic adenoma: a review of 52 cases, 15-year experience. Acta Otolaryngol. 2019 Jan;139(1):100-104.
- 37. Colella G, Cannavale R, Chiodini P. Meta-analysis of surgical approaches to the treatment of parotid pleomorphic adenomas and recurrence rates. J Craniomaxillofac Surg. 2015 Jul;43(6):738-45.

- Conti MA, Saleh AD, Brinster LR, Cheng H, Chen Z, Cornelius S, Liu C, Ma X, Van Waes C, Adelstein RS. Conditional deletion of nonmuscle myosin II-A in mouse tongue epithelium results in squamous cell carcinoma. Sci Rep. 2015 Sep 15;5:14068.
- 39. Cox J, Mann M. MaxQuant enables high peptide identification rates, individualized p.p.b.-range mass accuracies and proteome-wide protein quantification. Nat Biotechnol. 2008 Dec;26(12):1367-72.
- 40. Cruz-Rodriguez N, Combita AL, Enciso LJ, Quijano SM, Pinzon PL, Lozano OC, Castillo JS, Li L, Bareño J, Cardozo C, Solano J, Herrera MV, Cudris J, Zabaleta J. High expression of ID family and IGJ genes signature as predictor of low induction treatment response and worst survival in adult Hispanic patients with B-acute lymphoblastic leukemia. J Exp Clin Cancer Res. 2016 Apr 5;35:64.
- 41. da Silva LP, Serpa MS, Viveiros SK, Sena DAC, de Carvalho Pinho RF, de Abreu Guimarães LD, de Sousa Andrade ES, Dias Pereira JR, Silveira MMFD, Sobral APV, de Sousa SCOM, de Souza LB. Salivary gland tumors in a Brazilian population: A 20-year retrospective and multicentric study of 2292 cases. J Craniomaxillofac Surg. 2018 Dec;46(12):2227-2233.
- 42. Dang N, Ma X, Meng X, An L, Pang S. Dysregulated function of normal human epidermal keratinocytes in the absence of filaggrin. Mol Med Rep. 2016 Sep;14(3):2566-72.
- 43. de Arruda JAA, Silva LVO, Kato CNAO, Schuch LF, Batista AC, Costa NL, Tarquinio SBC, Rivero ERC, Carrard VC, Martins MD, Sobral APV, Mesquita RA. A multicenter study of malignant oral and maxillofacial lesions in children and adolescents. Oral Oncol. 2017 Dec;75:39-45.
- 44. de Brito BS, Gaspar NG, Egal ES, Sanchez-Romero C, Martins AS, Tincani ÁJ, de Oliveira Gondak R, de Almeida OP, Kowalski LP, Altemani A, Mariano FV. PLAG1 expression is maintained in recurrent pleomorphic adenoma. Virchows Arch. 2016 Oct;469(4):477-81.
- 45. de Morais EF, Pinheiro JC, Sena DAC, Galvão HC, de Souza LB, de Almeida Freitas R. Extracapsular invasion: A potential prognostic marker for Carcinoma expleomorphic adenoma of the salivary glands? A Systematic Review. J Oral Pathol Med. 2019 Jul;48(6):433-440.
- 46. Demasi AP, Furuse C, Soares AB, Altemani A, Araújo VC. Peroxiredoxin I, plateletderived growth factor A, and platelet-derived growth factor receptor alpha are overexpressed in carcinoma ex pleomorphic adenoma: association with malignant transformation. Hum Pathol. 2009 Mar;40(3):390-7.
- 47. Dhar SK, St Clair DK. Manganese superoxide dismutase regulation and cancer. Free Radic Biol Med. 2012 Jun 1-15;52(11-12):2209-22.
- Di Palma S, Lambros MB, Savage K, Jones C, Mackay A, Dexter T, Iravani M, Fenwick K, Ashworth A, Reis-Filho JS. Oncocytic change in pleomorphic adenoma: molecular evidence in support of an origin in neoplastic cells. J Clin Pathol. 2007 May;60(5):492-9.

- 49. Di Palma S. Carcinoma ex pleomorphic adenoma, with particular emphasis on early lesions. Head Neck Pathol. 2013 Jul;7 Suppl 1:S68-76.
- Díaz KP, Gondak R, Martins LL, de Almeida OP, León JE, Mariano FV, Altemani A, Vargas PA. Fatty acid synthase and Ki-67 immunoexpression can be useful for the identification of malignant component in carcinoma ex-pleomorphic adenoma. J Oral Pathol Med. 2019 Mar;48(3):232-238.
- 51. Donczo B, Guttman A. Biomedical analysis of formalin-fixed, paraffin-embedded tissue samples: The Holy Grail for molecular diagnostics. J Pharm Biomed Anal. 2018 Jun 5;155:125-134.
- 52. Dombrowski ND, Wolter NE, Irace AL, Cunningham MJ, Vargas SO, Perez+-Atayde AR, Robson CD, Rahbar R. Pleomorphic adenoma of the head and neck in children: presentation and management. Laryngoscope. 2019 Nov;129(11):2603-2609.
- 53. Domon B, Aebersold R. Options and considerations when selecting a quantitative proteomics strategy. Nat Biotechnol. 2010 Jul;28(7):710-21.
- Donadio E, Giusti L, Seccia V, Ciregia F, da Valle Y, Dallan I, Ventroni T, Giannaccini G, Sellari-Franceschini S, Lucacchini A. New insight into benign tumours of major salivary glands by proteomic approach. PLoS One. 2013 Aug 26;8(8):e71874.
- 55. D'Souza W, Saranath D. OMICS, Oral Cancer Molecular Landscapes, and Clinical Practice. OMICS. 2017 Dec;21(12):689-703.
- Dulguerov P, Todic J, Pusztaszeri M, Alotaibi NH. Why Do Parotid Pleomorphic Adenomas Recur? A Systematic Review of Pathological and Surgical Variables. Front Surg. 2017 May 15;4:26.
- 57. Egal ES, Mariano FV, Altemani AM, Metze K. Age and adenoma size are independent risk factors for the development of carcinoma ex pleomorphic adenoma. Oral Oncol. 2018 Sep;84:106-107.
- Ehmann M, Felix K, Hartmann D, Schnölzer M, Nees M, Vorderwülbecke S, Bogumil R, Büchler MW, Friess H. Identification of potential markers for the detection of pancreatic cancer through comparative serum protein expression profiling. Pancreas. 2007 Mar;34(2):205-14.
- 59. Ellies M, Laskawi R. Diseases of the salivary glands in infants and adolescents. Head Face Med. 2010 Feb 15;6:1.
- 60. El-Naggar AK, Chan JK, Grandis Jennifer R, Takata T, Slootweg PJ, organizadores. WHO Classification Head Neck Tumours. Fourth. 2017;347.
- 61. Endo Y, Uzawa K, Mochida Y, Shiiba M, Bukawa H, Yokoe H, Tanzawa H. Sarcoendoplasmic reticulum Ca(2+) ATPase type 2 downregulated in human oral squamous cell carcinoma. Int J Cancer. 2004 Jun 10;110(2):225-31.
- 62. Erickson LA. Pleomorphic Adenoma in the Parotid Gland. Mayo Clin Proc. 2017 Mar;92(3):e55-e56.

- 63. Ernst G, Guntinas-Lichius O, Hauberg-Lotte L, Trede D, Becker M, Alexandrov T, von Eggeling F. Histomolecular interpretation of pleomorphic adenomas of the salivary gland by matrix-assisted laser desorption ionization imaging and spatial segmentation. Head Neck. 2015 Jul;37(7):1014-21.
- 64. Espinosa CA, Fernández-Valle Á, Lequerica-Fernández P, de Villalaín L, de Vicente JC. Clinicopathologic and Surgical Study of Pleomorphic Adenoma of the Parotid Gland: Analysis of Risk Factors for Recurrence and Facial Nerve Dysfunction. J Oral Maxillofac Surg. 2018 Feb;76(2):347-354.
- 65. Ettl T, Schwarz-Furlan S, Gosau M, Reichert TE. Salivary gland carcinomas. Oral Maxillofac Surg. 2012 Sep;16(3):267-83.
- 66. Farias-Eisner G, Su F, Robbins T, Kotlerman J, Reddy S, Farias-Eisner R. Validation of serum biomarkers for detection of early- and late-stage endometrial cancer. Am J Obstet Gynecol. 2010 Jan;202(1):73.e1-5.
- 67. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Mathers C, Parkin DM, Piñeros M, Znaor A, Bray F. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. Int J Cancer. 2019 Apr 15;144(8):1941-1953.
- 68. Flores IL, Kawahara R, Miguel MC, Granato DC, Domingues RR, Macedo CC, Carnielli CM, Yokoo S, Rodrigues PC, Monteiro BV, Oliveira CE, Salmon CR, Nociti FH Jr, Lopes MA, Santos-Silva A, Winck FV, Coletta RD, Paes Leme AF. EEF1D modulates proliferation and epithelial-mesenchymal transition in oral squamous cell carcinoma. Clin Sci (Lond). 2016 May 1;130(10):785-99.
- 69. Fonseca FP, Carvalho Mde V, de Almeida OP, Rangel AL, Takizawa MC, Bueno AG, Vargas PA. Clinicopathologic analysis of 493 cases of salivary gland tumors in a Southern Brazilian population. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2012 Aug;114(2):230-9.
- 70. Fonseca FP, Macedo CCS, Dos Santos Costa SF, Leme AFP, Rodrigues RR, Pontes HAR, Altemani A, van Heerden WFP, Martins MD, de Almeida OP, Santos-Silva AR, Lopes MA, Vargas PA. Mass spectrometry-based proteome profile may be useful to differentiate adenoid cystic carcinoma from polymorphous adenocarcinoma of salivary glands. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2019 Dec;128(6):639-650.
- 71. Fournier G, Cabaud O, Josselin E, Chaix A, Adélaïde J, Isnardon D, Restouin A, Castellano R, Dubreuil P, Chaffanet M, Birnbaum D, Lopez M. Loss of AF6/afadin, a marker of poor outcome in breast cancer, induces cell migration, invasiveness and tumor growth. Oncogene. 2011 Sep 8;30(36):3862-74.
- 72. Freitas VM, Vilas-Boas VF, Pimenta DC, Loureiro V, Juliano MA, Carvalho MR, Pinheiro JJ, Camargo AC, Moriscot AS, Hoffman MP, Jaeger RG. SIKVAV, a laminin alpha1-derived peptide, interacts with integrins and increases protease activity of a human salivary gland adenoid cystic carcinoma cell line through the ERK 1/2 signaling pathway. Am J Pathol. 2007 Jul;171(1):124-38.
- 73. Fu JY, Wu CX, Shen SK, Zheng Y, Zhang CP, Zhang ZY. Salivary gland carcinoma in Shanghai (2003-2012): an epidemiological study of incidence, site and pathology. BMC Cancer. 2019 Apr 11;19(1):350.

- 74. Gao M, Hao Y, Huang MX, Ma DQ, Chen Y, Luo HY, Gao Y, Cao ZQ, Peng X, Yu GY. Salivary gland tumours in a northern Chinese population: a 50-year retrospective study of 7190 cases. Int J Oral Maxillofac Surg. 2017 Mar;46(3):343-349.
- 75. Georgila K, Vyrla D, Drakos E. Apolipoprotein A-I (ApoA-I), Immunity, Inflammation and Cancer. Cancers (Basel). 2019 Aug 1;11(8). pii: E1097.
- 76. Gerke V, Moss SE. Annexins: from structure to function. Physiol Rev. 2002 Apr;82(2):331-71.
- 77. Giusti L, Cetani F, Ciregia F, Da Valle Y, Donadio E, Giannaccini G, Banti C, Pardi E, Saponaro F, Basolo F, Berti P, Miccoli P, Pinchera A, Marcocci C, Lucacchini A. A proteomic approach to study parathyroid glands. Mol Biosyst. 2011 Mar;7(3):687-99.
- 78. Glikson E, Sagiv D, Mansour J, Bedrin L, Talmi YP, Alon EE. Recurrent pleomorphic adenoma: is treatment considerably delayed thus affecting surgical morbidity? Acta Otolaryngol. 2018 Apr;138(4):407-410.
- 79. Gnepp DR. Metastasizing pleomorphic adenoma in Barnes L, Eveson JW, Reichart PA, Sidranskiy D. World Health Organization classification of tumours Pathology and genetics of head and neck tumours, IARC,Lyon, France (2005).
- Gorgoulis VG, Vassiliou LV, Karakaidos P, Zacharatos P, Kotsinas A, Liloglou T, Venere M, Ditullio RA Jr, Kastrinakis NG, Levy B, Kletsas D, Yoneta A, Herlyn M, Kittas C, Halazonetis TD. Activation of the DNA damage checkpoint and genomic instability in human precancerous lesions. Nature. 2005 Apr 14;434(7035):907-13.
- 81. Gourin CG, Zhi W, Adam BL. Proteomic identification of serum biomarkers for head and neck cancer surveillance. Laryngoscope. 2009 Jul;119(7):1291-302.
- 82. Grawenda AM, O'Neill E. Clinical utility of RASSF1A methylation in human malignancies. Br J Cancer. 2015 Jul 28;113(3):372-81.
- 83. Griffith CC, Thompson LD, Assaad A, Purgina BM, Lai C, Bauman JE, Weinreb I, Seethala RR, Chiosea SI. Salivary duct carcinoma and the concept of early carcinoma ex pleomorphic adenoma. Histopathology. 2014 Dec;65(6):854-60.
- 84. Gupta A, Koochakzadeh S, Neskey DM, Nguyen SA, Lentsch EJ. Carcinoma ex pleomorphic adenoma: A review of incidence, demographics, risk factors, and survival. Am J Otolaryngol. 2019 Nov Dec;40(6):102279.
- 85. Hanash S. Disease proteomics. Nature. 2003 Mar 13;422(6928):226-32.
- Harrison W, Pittman P, Cummings T. Pleomorphic adenoma of the lacrimal gland: A review with updates on malignant transformation and molecular genetics. Saudi J Ophthalmol. 2018 Jan-Mar;32(1):13-16.
- 87. Harvey RC, Mullighan CG, Wang X, Dobbin KK, Davidson GS, Bedrick EJ, Chen IM, Atlas SR, Kang H, Ar K, Wilson CS, Wharton W, Murphy M, Devidas M, Carroll AJ, Borowitz MJ, Bowman WP, Downing JR, Relling M, Yang J, Bhojwani D, Carroll WL, Camitta B, Reaman GH, Smith M, Hunger SP, Willman CL. Identification of novel cluster groups in pediatric high-risk B-precursor acute lymphoblastic leucemia with

gene expression profiling: correlation with genome-wide DNA copy number alterations, clinical characteristics, and outcome. Blood. 2010 Dec 2;116(23):4874-84.

- 88. He Q, Takizawa Y, Hayasaka T, Masaki N, Kusama Y, Su J, Mineta H, Setou M. Increased phosphatidylcholine (16:0/16:0) in the folliculus lymphaticus of Warthin tumor. Anal Bioanal Chem. 2014 Sep;406(24):5815-25.
- 89. Heberle H, Meirelles GV, da Silva FR, Telles GP, Minghim R. InteractiVenn: a webbased tool for the analysis of sets through Venn diagrams. BMC Bioinformatics. 2015 May 22;16(1):169.
- Hellquist H, Paiva-Correia A, Vander Poorten V, Quer M, Hernandez-Prera JC, Andreasen S, Zbären P, Skalova A, Rinaldo A, Ferlito A. Analysis of the Clinical Relevance of Histological Classification of Benign Epithelial Salivary Gland Tumours. Adv Ther. 2019 Aug;36(8):1950-1974.
- 91. Hempel N, Carrico PM, Melendez JA. Manganese superoxide dismutase (SOD2) and redox-control of signaling events that drive metastasis. Anticancer Agents Med Chem. 2011 Feb;11(2):191-201.
- 92. Hitosugi T, Zhou L, Elf S, Fan J, Kang HB, Seo JH, Shan C, Dai Q, Zhang L, Xie J, Gu TL, Jin P, Alečković M, LeRoy G, Kang Y, Sudderth JA, DeBerardinis RJ, Luan CH, Chen GZ, Muller S, Shin DM, Owonikoko TK, Lonial S, Arellano ML, Khoury HJ, Khuri FR, Lee BH, Ye K, Boggon TJ, Kang S, He C, Chen J. Phosphoglycerate mutase 1 coordinates glycolysis and biosynthesis to promote tumor growth. Cancer Cell. 2012 Nov 13;22(5):585-600.
- 93. Hitosugi T, Zhou L, Fan J, Elf S, Zhang L, Xie J, Wang Y, Gu TL, Alečković M, LeRoy G, Kang Y, Kang HB, Seo JH, Shan C, Jin P, Gong W, Lonial S, Arellano ML, Khoury HJ, Chen GZ, Shin DM, Khuri FR, Boggon TJ, Kang S, He C, Chen J. Tyr26 phosphorylation of PGAM1 provides a metabolic advantage to tumours by stabilizing the active conformation. Nat Commun. 2013;4:1790.
- 94. Hu YH, Zhang CY, Xia RH, Tian Z, Wang LZ, Li J. Prognostic factors of carcinoma ex pleomorphic adenoma of the salivary glands, with emphasis on the widely invasive carcinoma: a clinicopathologic analysis of 361 cases in a Chinese population. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2016 Nov;122(5):598-608.
- 95. Huang Z, Ma L, Huang C, Li Q, Nice EC. Proteomic profiling of human plasma for cancer biomarker discovery. Proteomics. 2017 Mar;17(6).
- 96. Ihrler S, Guntinas-Lichius O, Agaimy A, Wolf A, Mollenhauer M. Histological, immunohistological and molecular characteristics of intraductal precursor of carcinoma ex pleomorphic adenoma support a multistep carcinogenic process. Virchows Arch. 2017 Jun;470(6):601-609.
- 97. Irvine AD, McLean WH, Leung DY. Filaggrin mutations associated with skin and allergic diseases. N Engl J Med. 2011 Oct 6;365(14):1315-27.
- Ito FA, Ito K, Vargas PA, de Almeida OP, Lopes MA. Salivary gland tumors in a Brazilian population: a retrospective study of 496 cases. Int J Oral Maxillofac Surg. 2005 Jul;34(5):533-6.

- 100. Ito H, Ishida M, Miyasaka C, Okano K, Sandoh K, Fujisawa T, Iwai H, Tsuta K. Prominent oncocytic metaplasia in pleomorphic adenoma: A potential diagnostic pitfall. Diagn Cytopathol. 2020 Apr 25.
- Izquierdo-Torres E, Hernández-Oliveras A, Meneses-Morales I, Rodríguez G, Fuentes-García G, Zarain-Herzberg Á. Resveratrol up-regulates ATP2A3 gene expression in breast cancer cell lines through epigenetic mechanisms. Int J Biochem Cell Biol. 2019 Aug;113:37-47.
- 102. Izquierdo-Torres E, Rodríguez G, Meneses-Morales I, Zarain-Herzberg A. ATP2A3 gene as an important player for resveratrol anticancer activity in breast cancer cells. Mol Carcinog. 2017 Jul;56(7):1703-1711.
- 103. Jiang B, Li S, Jiang Z, Shao P. Gastric Cancer Associated Genes Identified by an Integrative Analysis of Gene Expression Data. Biomed Res Int. 2017;2017:7259097.
- 104. Jung CH, Kim EM, Song JY, Park JK, Um HD. Mitochondrial superoxide dismutase 2 mediates γ-irradiation-induced cancer cell invasion. Exp Mol Med. 2019 Feb 12;51(2):1-10.
- 105. Jung YS, Ryu S, Chang Y, Yun KE, Park JH, Kim HJ, Cho YK, Sohn CI, Jeon WK, Kim BI, Choi K, Park DI. Associations Between Parameters of Glucose and Lipid Metabolism and Risk of Colorectal Neoplasm. Dig Dis Sci. 2015 Oct;60(10):2996-3004.
- 106. Kaczocha M, Vivieca S, Sun J, Glaser ST, Deutsch DG. Fatty acid-binding proteins transport N-acylethanolamines to nuclear receptors and are targets of endocannabinoid transport inhibitors. J Biol Chem. 2012 Jan 27;287(5):3415-24.
- 107. Kadletz L, Grasl S, Grasl MC, Perisanidis C, Erovic BM. Extracapsular dissection versus superficial parotidectomy in benign parotid gland tumors: The Vienna Medical School experience. Head Neck. 2017 Feb;39(2):356-360.
- 108. Kaneko S, Matsumoto K, Minamida S, Hirayama T, Fujita T, Kodera Y, Iwamura M. Incremental Expression of 14-3-3 Protein Beta/Alpha in Urine Correlates wit Advanced Stage and Poor Survival in Patients with Clear Cell Renal Cell Carcinoma. Asian Pac J Cancer Prev. 2016;17(3):1399-404.
- 109. Kannan-Thulasiraman P, Seachrist DD, Mahabeleshwar GH, Jain MK, Noy N. Fatty acid-binding protein 5 and PPARbeta/delta are critical mediators of epidermal growth factor receptor-induced carcinoma cell growth. J Biol Chem. 2010 Jun 18;285(25):19106-15.
- 110. Katabi N, Ghossein R, Ho A, Dogan S, Zhang L, Sung YS, Antonescu CR. Consistent PLAG1 and HMGA2 abnormalities distinguish carcinoma ex-pleomorphic adenoma from its de novo counterparts. Hum Pathol. 2015 Jan;46(1):26-33.

- 112. Kato H, Kawaguchi M, Ando T, Mizuta K, Aoki M, Matsuo M. Pleomorphic adenoma of salivary glands: common and uncommon CT and MR imaging features. Jpn J Radiol. 2018 Aug;36(8):463-471.
- 113. Kawahara R, Bollinger JG, Rivera C, Ribeiro AC, Brandão TB, Paes Leme AF, MacCoss MJ. A targeted proteomic strategy for the measurement of oral câncer candidate biomarkers in human saliva. Proteomics. 2016 Jan;16(1):159-73.
- 114. Kawasaki H, Nagao K, Kubo A, Hata T, Shimizu A, Mizuno H, Yamada T, Amagai M. Altered stratum corneum barrier and enhanced percutaneous immune responses in filaggrin-null mice. J Allergy Clin Immunol. 2012 Jun;129(6):1538-46.e6.
- 115. Kennedy RA. WHO is in and WHO is out of the mouth, salivary glands, and jaws sections of the 4th edition of the WHO classification of head and neck tumours. Br J Oral Maxillofac Surg. 2018 Feb;56(2):90-95. doi: 10.1016/j.bjoms.2017.12.009.
- 116. Khorrami A, Sharif Bagheri M, Tavallaei M, Gharechahi J. The functional significance of 14-3-3 proteins in cancer: focus on lung cancer. Horm Mol Biol Clin Investig. 2017 Aug 5;32(3). pii: /j/hmbci.2017.32.issue-3/hmbci-2017-0032/hmbci-2017-0032.xml.
- 117. Kiciński K, Mikaszewski B, Stankiewicz C. Risk factors for recurrence of pleomorphic adenoma. Otolaryngol Pol. 2016 Feb 29;70(3):1-7.
- 118. Kim CY, Whittington DA, Chang JS, Liao J, May JA, Christianson DW. Structural aspects of isozyme selectivity in the binding of inhibitors to carbonic anhydrases II and IV. J Med Chem. 2002 Feb 14;45(4):888-93.
- 119. Kim HY, Jung EK, Lee DH, Yoon TM, Lee JK, Lim SC. Clinical difference between benign and malignant tumors of the hard palate. Eur Arch Otorhinolaryngol. 2020 Mar;277(3):903-907.
- 120. Kim YS, Gupta Vallur P, Phaëton R, Mythreye K, Hempel N. Insights into the Dichotomous Regulation of SOD2 in Cancer. Antioxidants (Basel). 2017 Nov 3;6(4). pii: E86.
- 121. Knight J, Ratnasingham K. Metastasising pleomorphic adenoma: Systematic review. Int J Surg. 2015 Jul;19:137-45.
- 122. Korba M, Chloupek A, Dąbrowski J, Piętka T, Domański W, Biernacka B, Leśniak W. Pleomorphic adenoma the results of a retrospective analysis of 104 patients treated at the Clinical Department of Cranio-Maxillofacial Surgery, Clinic of Otolaryngology and Laryngologic Oncology of the Military Institute of Medicine. Otolaryngol Pol. 2017 Aug 31;71(4):34-36.
- 123. Kou Y, Yan X, Liu Q, Wei X, Zhang B, Li X, Pan W, Kong F, Wang Y, Zheng K, Tang R. HBV upregulates AP-1 complex subunit mu-1 expression via the JNK pathway to promote proliferation of liver cancer cells. Oncol Lett. 2019 Jul;18(1):456-464.

- 124. Kuang X, Sun L, Liu S, Zhao Z, Zhao D, Liu S, Luo B. Association of single nucleotide polymorphism rs2065955 of the filaggrin gene with susceptibility to Epstein-Barr virusassociated gastric carcinoma and EBV-negative gastric carcinoma. Virol Sin. 2016 Aug;31(4):306-13.
- 125. Kulpa DA, Del Cid N, Peterson KA, Collins KL. Adaptor protein 1 promotes crosspresentation through the same tyrosine signal in major histocompatibility complex class I as that targeted by HIV-1. J Virol. 2013 Jul;87(14):8085-98.
- 126. Kuo YL, Tu TY, Chang CF, Li WY, Chang SY, Shiao AS, Chu PY, Chan KT, Tai SK, Wang YF, Kao SC, Kao SY, Lo WL, Wu CH, Shu WH, Ma S, Wang TH. Extra-major salivary gland pleomorphic adenoma of the head and neck: a 10-year experience and review of the literature. Eur Arch Otorhinolaryngol. 2011 Jul;268(7):1035-40.
- 127. Lau R, Fernández-Coello A, Vidal-Sarró N, Céspedes D, Camins A, Taberna M, Gabarrós A. Brain metastasis of carcinoma ex pleomorphic adenoma of the parotid gland: case report and review of the literature. Acta Neurochir (Wien). 2017 Mar;159(3):459-463.
- 128. Lawal AO, Adisa AO, Kolude B, Adeyemi BF. Malignant salivary gland tumours of the head and neck region: a single institutions review. Pan Afr Med J. 2015 Feb 12;20:121.
- 129. Lee Motoyama JP, Kim-Motoyama H, Kim P, Nakagama H, Miyagawa K, Suzuki K. Identification of dermcidin in human gestational tissue and characterization of its proteolytic activity. Biochem Biophys Res Commun. 2007 Jun 15;357(4):828-33.
- 130. Leick KM, Rodriguez AB, Melssen MM, Benamar M, Lindsay RS, Eki R, Du KP, Parlak M, Abbas T, Engelhard VH, Slingluff CL Jr. The Barrier Molecules Junction Plakoglobin, Filaggrin, and Dystonin Play Roles in Melanoma Growth and Angiogenesis. Ann Surg. 2019 Oct;270(4):712-722.
- Lemound J, Stucki-Koch A, Stoetzer M, Kokemüller H, Gellrich NC, Kreipe H, Hussein K. Aberrant expression of caspase 14 in salivary gland carcinomas. J Oral Pathol Med. 2015 Jul;44(6):444-8.
- 132. Lewis JE, Olsen KD, Sebo TJ. Carcinoma ex pleomorphic adenoma: pathologic analysis of 73 cases. Hum Pathol. 2001 Jun;32(6):596-604.
- 133. Li SC, Lee CC, Hsu CM, Huang HB, Su YC. IL-6 induces haptoglobin expression. through activating STAT3 in human head and neck cancer. J Oral Pathol Med. 2020 Jan;49(1):49-54.
- 134. Li W, Lu H, Zhang H, Lai Y, Zhang J, Ni Y, Wang D. Sinonasal/nasopharyngeal pleomorphic adenoma and carcinoma ex pleomorphic adenoma: a report of 17 surgical cases combined with a literature review. Cancer Manag Res. 2019 Jun 17;11:5545-5555.
- 135. Li X, Liu ZL, Wu YT, Wu H, Dai W, Arshad B, Xu Z, Li H, Wu KN, Kong LQ. Status of lipid and lipoprotein in female breast cancer patients at initial diagnosis and during chemotherapy. Lipids Health Dis. 2018 Apr 20;17(1):91.

- 136. Liao Q, Li R, Zhou R, Pan Z, Xu L, Ding Y, Zhao L. LIM kinase 1 interacts with myosin-9 and alpha-actinin-4 and promotes colorectal cancer progression. Br J Cancer. 2017 Aug 8;117(4):563-571.
- 137. Lim CM, Hobson C, Kim S, Johnson JT. Clinical outcome of patients with carcinoma ex pleomorphic adenoma of the parotid gland: a comparative study from a single tertiary center. Head Neck. 2015 Apr;37(4):543-7.
- Lin H, Jiao X, Yu B, Du J, Xu H, Dong A, Wan C. Clinical significance of sérum 14-3-3 beta in patients with hepatocellular carcinoma. Cancer Biomark. 2017 Aug 23;20(2):143-150.
- 139. Lin LL, Huang HC, Juan HF. Revealing the molecular mechanism of gastric câncer marker annexin A4 in cancer cell proliferation using exon arrays. PLoS One. 2012;7(9):e44615.
- 140. Liu G, Zeng X, Wu B, Zhao J, Pan Y. RNA-Seq analysis of peripheral blood mononuclear cells reveals unique transcriptional signatures associated with radiotherapy response of nasopharyngeal carcinoma and prognosis of head and neck cancer. Cancer Biol Ther. 2020;21(2):139-146.
- 141. Liu RZ, Graham K, Glubrecht DD, Germain DR, Mackey JR, Godbout R. Association of FABP5 expression with poor survival in triple-negative breast cancer: implication for retinoic acid therapy. Am J Pathol. 2011 Mar;178(3):997-1008.
- 142. Liu X, Wang A, Lo Muzio L, Kolokythas A, Sheng S, Rubini C, Ye H, Shi F, Yu T, Crowe DL, Zhou X. Deregulation of manganese superoxide dismutase (SOD2) expression and lymph node metastasis in tongue squamous cell carcinoma. BMC Cancer. 2010 Jul 9;10:365.
- 143. Liu X, Zheng W, Wang W, Shen H, Liu L, Lou W, Wang X, Yang P. A new panel of pancreatic cancer biomarkers discovered using a mass spectrometry-based pipeline. Br J Cancer. 2017 Dec 5;117(12):1846-1854.
- 144. Lomnytska MI, Becker S, Hellman K, Hellström AC, Souchelnytskyi S, Mints M, Hellman U, Andersson S, Auer G. Diagnostic protein marker patterns in squamous cervical cancer. Proteomics Clin Appl. 2010 Jan;4(1):17-31.
- 145. Lopes MLDS, Barroso KMA, Henriques ÁCG, Dos Santos JN, Martins MD, de Souza LB. Pleomorphic adenomas of the salivary glands: retrospective multicentric study of 130 cases with emphasis on histopathological features. Eur Arch Otorhinolaryngol. 2017 Jan;274(1):543-551.
- 146. Lüers JC, Wittekindt C, Streppel M, Guntinas-Lichius O. Carcinoma ex pleomorphic adenoma of the parotid gland. Study and implications for diagnostics and therapy. Acta Oncol. 2009;48(1):132-6.
- 147. Mallick P, Kuster B. Proteomics: a pragmatic perspective. Nat Biotechnol.2010 Jul;28(7):695-709.

- 148. Maman S, Sagi-Assif O, Yuan W, Ginat R, Meshel T, Zubrilov I, Keisari Y, Lu W, Lu W, Witz IP. The Beta Subunit of Hemoglobin (HBB2/HBB) Suppresses Neuroblastoma Growth and Metastasis. Cancer Res. 2017 Jan 1;77(1):14-26.
- 149. Mandai K, Rikitake Y, Shimono Y, Takai Y. Afadin/AF-6 and canoe: roles in cell adhesion and beyond. Prog Mol Biol Transl Sci. 2013;116:433-54.
- 150. Manosalva R, Panwar A. The diagnostic challenge of salivary gland malignancies. Expert Rev Anticancer Ther. 2016 Oct;16(10):1001-2.
- 151. Mantsiou A, Makridakis M, Fasoulakis K, Katafigiotis I, Constantinides CA, Zoidakis J, Roubelakis MG, Vlahou A, Lygirou V. Proteomics Analysis of Formalin Fixed Paraffin Embedded Tissues in the Investigation of Prostate Cancer. J Proteome Res. 2020 Jul 2;19(7):2631-2642.
- 152. Mantsopoulos K, Goncalves M, Koch M, Iro H, Agaimy A. Submandibular gland pleomorphic adenoma: Histopathological capsular characteristics and correlation with the surgical outcome. Ann Diagn Pathol. 2018 Jun;34:166-169.
- 153. Mariano FV, Costa AF, Gondak RO, Martins AS, Del Negro A, Tincani ÁJ, Altemani A, de Almeida OP, Kowalski LP. Cellular Proliferation Index between Carcinoma Ex-Pleomorphic Adenoma and Pleomorphic Adenoma. Braz Dent J. 2015a Jul-Aug;26(4):416-21.
- 154. Mariano FV, da Silva SD, Chulan TC, de Almeida OP, Kowalski LP. Clinicopathological factors are predictors of distant metastasis from major salivary gland carcinomas. Int J Oral Maxillofac Surg. 2011a May;40(5):504-9.
- 155. Mariano FV, Egal ES, Pramio D, Fidalgo F, Sara É, Costa AF, de Oliveira Gondak R, Coletta RD, de Almeida OP, Kowalski LP, Victorino Krepischi AC, Altemani A. Evaluation of a subset of tumor suppressor gene for copy number and epigenitic changes in pleomorphic adenoma and carcinoma ex-pleomorphic adenoma carcinogenesis. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2016 Sep;122(3):322-31.
- 156. Mariano FV, Fidalgo F, Casarim ALM, Martins AS, Scarini JF, de Lima Souza RA, Egal ES, Kowalski LP, Krepischi ACV, Altemani A. Somatic copy number alterations in pleomorphic adenoma and recurrent pleomorphic adenoma. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2020 Jan;129(1):59-64.
- 157. Mariano FV, Gondak Rde O, Martins AS, Coletta RD, Paes de Almeida O, Kowalski LP, Krepischi AC, Altemani A. Genomic copy number alterations of primary and secondary metastasizing pleomorphic adenomas. Histopathology. 2015b Sep;67(3):410-5.
- 158. Mariano FV, Noronha AL, Gondak RO, Altemani AM, de Almeida OP, Kowalski LP. Carcinoma ex pleomorphic adenoma in a Brazilian population: clinico-pathological analysis of 38 cases. Int J Oral Maxillofac Surg. 2013a Jun;42(6):685-92.
- 159. Mariano FV, Rincon D, Gondak RO, Jorge R, Lopes MA, Altemani A, de Almeida OP, Kowalski LP. Carcinoma ex-pleomorphic adenoma of upper lip showing copy number loss of tumor suppressor genes. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2013b Jul;116(1):69-74.

- 160. Mariano FV, Saccomani LFV, Giovanetti K, Del Negro A, Kowalski LP, KrepischiACV, Altemani A. Genomic profile of a squamous cell carcinoma ex pleomorphic adenoma compared to a head and neck squamous cell carcinoma. Braz J Otorhinolaryngol. 2018 May - Jun;84(3):393-397.
- 161. Mariano FV, Vidaurre EC, Bologna-Molina RE, Carlos-Bregni R, Paes de Almeida O. Histopathological and immunohistochemical analysis of oncocytic pleomorphic adenoma. Indian J Pathol Microbiol. 2011b Jan-Mar;54(1):193-5.
- 162. Mariño-Crespo Ó, Cuevas-Álvarez E, Harding AL, Murdoch C, Fernández-Briera A, Gil-Martín E. Haptoglobin expression in human colorectal cancer. Histol Histopathol. 2019 Aug;34(8):953-963.
- 163. Mariz BALA, do Socorro Queiroz Feio P, Roza ALOC, de Andrade BAB, Agostini M, Romañach MJ, Fonseca FP, Pontes HAR, Ribeiro ACP, Brandão TB, Rocha AC, Vargas PA, Lopes MA, Santos-Silva AR. Clinical predictors of malignancy in palatal salivary gland tumors. Oral Dis. 2019 Nov;25(8):1919-1924.
- 164. Martin H, Jayasinghe J, Lowe T. Superficial parotidectomy versus extracapsular dissection: literature review and search for a gold standard technique. Int J Oral Maxillofac Surg. 2020 Feb;49(2):192-199.
- 165. Maruyama A, Tokumaru T, Kitamura K. Pleomorphic adenoma presenting with conductive hearing loss in the ear canal: a case report and review of the literature. J Med Case Rep. 2014 Jun 6;8:178.
- 166. Matsuyama A, Hisaoka M, Nagao Y, Hashimoto H. Aberrant PLAG1 expression in pleomorphic adenomas of the salivary gland: a molecular genetic and immunohistochemical study. Virchows Arch. 2011 May;458(5):583-92.
- 167. Maynard S, Schurman SH, Harboe C, de Souza-Pinto NC, Bohr VA. Base excision repair of oxidative DNA damage and association with cancer and aging. Carcinogenesis. 2009 Jan;30(1):2-10.
- 168. McKillop IH, Girardi CA, Thompson KJ. Role of fatty acid binding proteins (FABPs) in cancer development and progression. Cell Signal. 2019 Oct;62:109336.
- 169. McLoughlin L, Gillanders SL, Smith S, Young O. The role of adjuvante radiotherapy in management of recurrent pleomorphic adenoma of the parotid gland: a systematic review. Eur Arch Otorhinolaryngol. 2019 Feb;276(2):283-295.
- 170. Meneses-Morales I, Izquierdo-Torres E, Flores-Peredo L, Rodríguez G, Hernández-Oliveras A, Zarain-Herzberg Á. Epigenetic regulation of the human ATP2A3 gene promoter in gastric and colon cancer cell lines. Mol Carcinog. 2019 Jun;58(6):887-897.
- 171. Mito JK, Jo VY, Chiosea SI, Dal Cin P, Krane JF. HMGA2 is a specific immunohistochemical marker for pleomorphic adenoma and carcinoma expleomorphic adenoma. Histopathology. 2017 Oct;71(4):511-521.
- 172. Morrison DK. The 14-3-3 proteins: integrators of diverse signaling cues that impact cell fate and cancer development. Trends Cell Biol. 2009 Jan;19(1):16-23.

- 173. Muntoni S, Atzori L, Mereu R, Satta G, Macis MD, Congia M, Tedde A, Desogus A, Muntoni S. Serum lipoproteins and cancer. Nutr Metab Cardiovasc Dis. 2009 Mar;19(3):218-25.
- 174. Mussunoor S, Murray GI. The role of annexins in tumour development and progression. J Pathol. 2008 Oct;216(2):131-40.
- 175. Mutlu A, Ozturk M, Akpinar G, Kasap M, Kanli A. Proteomics analysis of pleomorphic adenoma of the human parotid gland. Eur Arch Otorhinolaryngol. 2017 Aug;274(8):3183-3195.
- 176. Nagpal M, Singh S, Singh P, Chauhan P, Zaidi MA. Tumor markers: A diagnostic tool. Natl J Maxillofac Surg. 2016 Jan-Jun;7(1):17-20.
- 177. Nielsen AY, Gjerstorff MF. Ectopic Expression of Testis Germ Cell Proteins in Cancer and Its Potential Role in Genomic Instability. Int J Mol Sci. 2016 Jun 6;17(6). pii: E890.
- 178. Niu Y, Yang X, Chen Y, Jin X, Xie Y, Tang Y, Li L, Liu S, Guo Y, Li X, Duan L, Wang H. Distinct prognostic values of Annexin family members expression in acute myeloid leukemia. Clin Transl Oncol. 2019 Sep;21(9):1186-1196.
- 179. Okano K, Arimoto T, Ishida M, Sandoh K, Fujisawa T, Iwai H, Tsuta K. Collagenous crystalloids in pleomorphic adenoma of the parotid gland. Diagn Cytopathol. 2019 Jun;47(6):612-613.
- Okano K, Ishida M, Sandoh K, Fujisawa T, Iwai H, Tsuta K. Cytological features of carcinoma ex pleomorphic adenoma of the salivary glands: A diagnostic challenge. Diagn Cytopathol. 2020 Feb;48(2):149-153.
- 181. Olsen KD, Lewis JE. Carcinoma ex pleomorphic adenoma: a clinicopathologic review. Head Neck. 2001 Sep;23(9):705-12.
- 182. Onda M, Akaishi J, Asaka S, Okamoto J, Miyamoto S, Mizutani K, Yoshida A, Ito K, Emi M. Decreased expression of haemoglobin beta (HBB) gene in anaplastic thyroid cancer and recovery of its expression inhibits cell growth. Br J Cancer. 2005 Jun 20;92(12):2216-24.
- 183. Pacifico F, Ulianich L, De Micheli S, Treglia S, Leonardi A, Vito P, Formisano S, Consiglio E, Di Jeso B. The expression of the sarco/endoplasmic reticulum Ca2+-ATPases in thyroid and its down-regulation following neoplastic transformation. J Mol Endocrinol. 2003 Jun;30(3):399-409.
- 184. Panaccione A, Zhang Y, Mi Y, Mitani Y, Yan G, Prasad ML, McDonald WH, El-Naggar AK, Yarbrough WG, Ivanov SV. Chromosomal abnormalities and molecular landscape of metastasizing mucinous salivary adenocarcinoma. Oral Oncol. 2017 Mar;66:38-45.
- 185. Paris F, Hurtado C, Azón A, Aguado L, Vizmanos JL. A new KRT16 mutation associated with a phenotype of pachyonychia congenita. Exp Dermatol. 2013 Dec;22(12):838-9.

- 186. Park KS, Sung WJ. Pleomorphic adenoma of the trachea: a case report. Korean J Pathol. 2013 Aug;47(4):399-401.
- 187. Park M, Song K, Reichardt I, Kim H, Mayer U, Stierhof YD, Hwang I, Jürgens G. Arabidopsis μ-adaptin subunit AP1M of adaptor protein complex 1 mediates late secretory and vacuolar traffic and is required for growth. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013 Jun 18;110(25):10318-23.
- 188. Patigaroo SA, Patigaroo FA, Ashraf J, Mehfooz N, Shakeel M, Khan NA, Kirmani MH. Pleomorphic adenoma of hard palate: an experience. J Maxillofac Oral Surg. 2014 Mar;13(1):36-41.
- 189. Pecci A, Ma X, Savoia A, Adelstein RS. MYH9: Structure, functions and role of nonmuscle myosin IIA in human disease. Gene. 2018 Jul 20;664:152-167.
- 190. Pendaries V, Malaisse J, Pellerin L, Le Lamer M, Nachat R, Kezic S, Schmitt AM, Paul C, Poumay Y, Serre G, Simon M. Knockdown of filaggrin in a three-dimensional reconstructed human epidermis impairs keratinocyte differentiation. J Invest Dermatol. 2014 Dec;134(12):2938-2946.
- 191. Pérez-De-Oliveira ME, Leite AA, de Lima Morais TM, Lopes MA, de Almeida OP, Vargas PA. Intraoral Pleomorphic Adenoma With Extensive Bone Formation. Int J Surg Pathol. 2019b Sep 8:1066896919872816.
- 192. Pérez-de-Oliveira ME, Leonel ACLDS, de Castro JFL, Carvalho EJA, Vargas PA, Perez DEDC. Histopathological Findings of Intraoral Pleomorphic Adenomas: A Retrospective Study of a Case Series. Int J Surg Pathol. 2019a Oct;27(7):729-735.
- 193. Periasamy M, Kalyanasundaram A. SERCA pump isoforms: their role in calcium transport and disease. Muscle Nerve. 2007 Apr;35(4):430-42.
- 194. Persson F, Andrén Y, Winnes M, Wedell B, Nordkvist A, Gudnadottir G, Dahlenfors R, Sjögren H, Mark J, Stenman G. High-resolution genomic profiling of adenomas and carcinomas of the salivary glands reveals amplification, rearrangement, and fusion of HMGA2. Genes Chromosomes Cancer. 2009 Jan;48(1):69-82.
- 195. Petreni A, Bonardi A, Lomelino C, Osman SM, ALOthman ZA, Eldehna WM, El-Haggar R, McKenna R, Nocentini A, Supuran CT. Inclusion of a 5-fluorouracil moiety in nitrogenous bases derivatives as human carbonic anhydrase IX and XII inhibitors produced a targeted action against MDA-MB-231 and T47D breast cancer cells. Eur J Med Chem. 2020 Mar 15;190:112112.
- 196. Picotti P, Bodenmiller B, Aebersold R. Proteomics meets the scientific method. Nat Methods. 2013 Jan;10(1):24-7.
- 197. Ponzetti M, Capulli M, Angelucci A, Ventura L, Monache SD, Mercurio C, Calgani A, Sanità P, Teti A, Rucci N. Non-conventional role of haemoglobin beta in breast malignancy. Br J Cancer. 2017 Sep 26;117(7):994-1006.
- 198. Porter D, Weremowicz S, Chin K, Seth P, Keshaviah A, Lahti-Domenici J, Bae YK, Monitto CL, Merlos-Suarez A, Chan J, Hulette CM, Richardson A, Morton CC, Marks J, Duyao M, Hruban R, Gabrielson E, Gelman R, Polyak K. A neural survival factor is

a candidate oncogene in breast cancer. Proc Natl Acad Sci U S A. 2003 Sep 16;100(19):10931-6.

- 199. Pusztaszeri MP, Faquin WC. Update in salivary gland cytopathology: Recent molecular advances and diagnostic applications. Semin Diagn Pathol. 2015 Jul;32(4):264-74.
- 200. Qi H, Liu S, Guo C, Wang J, Greenaway FT, Sun MZ. Role of annexin A6 in cancer. Oncol Lett. 2015 Oct;10(4):1947-1952.
- 201. Qin X, Chen Q, Sun C, Wang C, Peng Q, Xie L, Liu Y, Li S. High-throughput screening of tumor metastatic-related differential glycoprotein in hepatocelular carcinoma by iTRAQ combines lectin-related techniques. Med Oncol. 2013 Mar;30(1):420.
- 202. Qiu F, Chen F, Liu D, Xu J, He J, Xiao J, Cao L, Huang X. [LC-MS/MS-based screening of new protein biomarkers for cervical precancerous lesions and cervical cancer]. Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao. 2019 Jan 30;39(1):13-22.
- 203. Qiu F, Qiu F, Liu L, Liu J, Xu J, Huang X. The Role of Dermcidin in the Diagnosis and Staging of Hepatocellular Carcinoma. Genet Test Mol Biomarkers. 2018 Apr;22(4):218-223.
- 204. Radhakrishnan VM, Putnam CW, Qi W, Martinez JD. P53 suppresses expression of the 14-3-3 gamma oncogene. BMC Cancer. 2011 Aug 25;11:378.
- 205. Rai A, Sharma S, Shrivastava P, Singh M. A huge pleomorphic adenoma of the submandibular salivary gland. BMJ Case Rep. 2018 Mar 16;2018. pii: bcr-2017-222249.
- 206. Ramachandran P, Boontheung P, Xie Y, Sondej M, Wong DT, Loo JA. Identification of N-linked glycoproteins in human saliva by glycoprotein capture and mass spectrometry. J Proteome Res. 2006 Jun;5(6):1493-503.
- 207. Rebours C, Couloigner V, Galmiche L, Casiraghi O, Badoual C, Boudjemaa S, Chauvin A, Elmaleh M, Fresneau B, Fasola S, Garabédian EN, Van Den Abeele T, Orbach D; Pediatric French Rare Tumor Group. Pediatric salivary gland carcinomas: Diagnostic and therapeutic management. Laryngoscope. 2017 Jan;127(1):140-147.
- 208. Redder C P, Kandagal V S, Vibhute N, Ingaleshwar PS, Shetty SJ, Ahamad S. Myoepithelial cells: Current perspectives in salivary gland tumors. Clin Cancer Investig J 2013; 2:101-5.
- 209. Redenšek S, Dolžan V, Kunej T. From Genomics to Omics Landscapes of Parkinson's Disease: Revealing the Molecular Mechanisms. OMICS. 2018 Jan;22(1):1-16.
- 210. Rentero C, Blanco-Muñoz P, Meneses-Salas E, Grewal T, Enrich C. Annexins-Coordinators of Cholesterol Homeostasis in Endocytic Pathways. Int J Mol Sci. 2018 May 12;19(5). pii: E1444.
- Ricroch AE, Bergé JB, Kuntz M. Evaluation of genetically engineered crops using transcriptomic, proteomic, and metabolomic profiling techniques. Plant Physiol. 2011 Apr;155(4):1752-61.

- 212. Riker AI, Enkemann SA, Fodstad O, Liu S, Ren S, Morris C, Xi Y, Howell P, Metge B, Samant RS, Shevde LA, Li W, Eschrich S, Daud A, Ju J, Matta J. The gene expression profiles of primary and metastatic melanoma yields a transition point of tumor progression and metastasis. BMC Med Genomics. 2008 Apr 28;1:13.
- 213. Rito M, Fonseca I. Carcinoma ex-pleomorphic adenoma of the salivary glands has a high risk of progression when the tumor invades more than 2.5 mm beyond the capsule of the residual pleomorphic adenoma. Virchows Arch. 2016 Mar;468(3):297-303.
- 214. Rojas L K, Trilla-Fuertes L, Gámez-Pozo A, Chiva C, Sepúlveda J, Manso L, Prado-Vázquez G, Zapater-Moros A, López-Vacas R, Ferrer-Gómez M, Mendiola C, Espinosa E, Sabidó E, Ciruelos E, Vara JÁF. Proteomics characterisation of central nervous system metastasis biomarkers in triple negative breast cancer. Ecancermedicalscience. 2019 Jan 15;13:891.
- 215. Rotellini M, Palomba A, Baroni G, Franchi A. Diagnostic utility of PLAG1 immunohistochemical determination in salivary gland tumors. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2014 May-Jun;22(5):390-4.
- 216. Rout SK, Lath MK. Pleomorphic adenoma of the whole parotid gland: a rare clinical finding. J Craniofac Surg. 2013 Nov;24(6):2197-8.
- 217. Sadygov RG, Cociorva D, Yates JR 3rd. Large-scale database searching using tandem mass spectra: looking up the answer in the back of the book. Nat Methods. 2004 Dec;1(3):195-202.
- 218. Salehi S, Maleki Z. Diagnostic challenges and problem cases in salivary gland cytology: A 20-year experience. Cancer Cytopathol. 2018 Feb;126(2):101-111.
- 219. Salerno EP, Bedognetti D, Mauldin IS, Deacon DH, Shea SM, Pinczewski J, Obeid JM, Coukos G, Wang E, Gajewski TF, Marincola FM, Slingluff CL Jr. Human melanomas and ovarian cancers overexpressing mechanical barrier molecule genes lack immune signatures and have increased patient mortality risk. Oncoimmunology. 2016 Oct 18;5(12):e1240857.
- 220. Sarmento DJ, Morais ML, Costa AL, Silveira ÉJ. Minor intraoral salivary gland tumors: a clinical-pathological study. Einstein (Sao Paulo). 2016 Oct-Dec;14(4):508-512.
- 221. Satpathy Y, Spadigam AE, Dhupar A, Syed S. Epithelial and stromal patterns of pleomorphic adenoma of minor salivary glands: A histopathological and histochemical study. J Oral Maxillofac Pathol. 2014 Sep-Dec;18(3):379-85.
- 222. Scarini JF, Rosa LF, Souza RAL, Egal ESA, Tincani AJ, Martins AS, Kowalski LP, Graner E, Coletta RD, Carlos R, Gondak RO, de Almeida OP, Altemani AMAM, Bastos DC, Mariano FV. Gene and immunohistochemical expression of HIF-1α, GLUT-1, FASN, and adipophilin in carcinoma ex pleomorphic adenoma development. Oral Dis. 2020 Mar 16.
- 223. Schache AG, Hall G, Woolgar JA, Nikolaidis G, Triantafyllou A, Lowe D, Risk JM, Shaw RJ, Liloglou T. Quantitative promoter methylation differentiates carcinoma ex pleomorphic adenoma from pleomorphic salivary adenoma. Br J Cancer. 2010 Dec 7;103(12):1846-51.

- 224. Schapher M, Koch M, Agaimy A, Goncalves M, Mantsopoulos K, Iro H. Parotid pleomorphic adenomas: Factors influencing surgical techniques, morbidity, and long-term outcome relative to the new ESGS classification in a retrospective study. J Craniomaxillofac Surg. 2019 Sep;47(9):1356-1362.
- 225. Schittek B. The multiple facets of dermcidin in cell survival and host defense. J Innate Immun. 2012;4(4):349-60.
- 226. Schramek D, Sendoel A, Segal JP, Beronja S, Heller E, Oristian D, Reva B, Fuchs E. Direct in vivo RNAi screen unveils myosin IIa as a tumor suppressor of squamous cell carcinomas. Science. 2014 Jan 17;343(6168):309-13.
- 227. Seccia V, Navari E, Donadio E, Boldrini C, Ciregia F, Ronci M, Aceto A, Dallan I, Lucacchini A, Casani AP, Mazzoni MR, Giusti L. Proteomic Investigation of Malignant Major Salivary Gland Tumors. Head Neck Pathol. 2020 Jun;14(2):362-373.
- 228. Sedassari BT, Dos Santos HT, Mariano FV, da Silva Lascane NA, Altemani A, Sousa S. Carcinoma ex pleomorphic adenoma of minor salivary glands with major epithelial-myoepithelial component: clinicopathologic and immunohistochemical study of 3 cases. Ann Diagn Pathol. 2015b Jun;19(3):164-8.
- 229. Sedassari BT, Rodrigues MF, Mariano FV, Altemani A, Nunes FD, Sousa S. The Stem Cell Marker Bmi-1 Is Sensitive in Identifying Early Lesions of Carcinoma ex Pleomorphic Adenoma. Medicine (Baltimore). 2015a Jul;94(27):e1035.
- 230. Sedassari BT, Rodrigues MFSD, Conceição TS, Mariano FV, Alves VAF, Nunes FD, Altemani A, de Sousa SCOM. Increased SOX2 expression in salivary gland carcinoma ex pleomorphic adenoma progression: an association with adverse outcome. Virchows Arch. 2017 Dec;471(6):775-784.
- 231. Seethala RR, Stenman G. Update from the 4th Edition of the World Health Organization Classification of Head and Neck Tumours: Tumors of the Salivary Gland. Head Neck Pathol. 2017 Mar;11(1):55-67.
- 232. Seethala RR. Cytology of the Salivary Glands. Surg Pathol Clin. 2014 Mar;7(1):61-75.
- 233. Seethala RR. Salivary Gland Tumors: Current Concepts and Controversies. Surg Pathol Clin. 2017 Mar;10(1):155-176.
- 234. Senga S, Kawaguchi K, Kobayashi N, Ando A, Fujii H. A novel fatty acid-binding protein 5-estrogen-related receptor α signaling pathway promotes cell growth and energy metabolism in prostate cancer cells. Oncotarget. 2018 Aug 3;9(60):31753-31770. Sentani K, Ogawa I, Ozasa K, Sadakane A, Utada M, Tsuya T, Kajihara H, Yonehara S, Takeshima Y, Yasui W. Characteristics of 5015 Salivary Gland Neoplasms Registered in the Hiroshima Tumor Tissue Registry over a Period of 39 Years. J Clin Med. 2019 Apr 26;8(5). pii: E566.
- 235. Seok J, Hyun SJ, Jeong WJ, Ahn SH, Kim H, Jung YH. The Difference in the Clinical Features Between Carcinoma ex Pleomorphic Adenoma and Pleomorphic Adenoma. Ear Nose Throat J. 2019 Sep;98(8):504-509.

- 236. Shah AA, Mulla AF, Mayank M. Pathophysiology of myoepithelial cells in salivary glands. J Oral Maxillofac Pathol. 2016 Sep-Dec;20(3):480-490.
- 237. Shah AK, Venkatesan S, Katoch R, Jaiswal SS, Gambhir R, Bhardwaj R. Epithelial-Myoepithelial Carcinoma Ex Pleomorphic Adenoma in Breast: An Exotic Rarity. Med J Armed Forces India. 2011 Jan;67(1):74-6.
- 238. Shah J, Rouaud F, Guerrera D, Vasileva E, Popov LM, Kelley WL, Rubinstein E, Carette JE, Amieva MR, Citi S. A Dock-and-Lock Mechanism Clusters ADAM10 at Cell-Cell Junctions to Promote α-Toxin Cytotoxicity. Cell Rep. 2018 Nov 20;25(8):2132-2147.e7.
- 239. Shen T, Shi Q, Velosa C, Bai S, Thompson L, Simpson R, Wei S, Brandwein-Gensler M. Sinonasal renal cell-like adenocarcinomas: robust carbonic anhydrase expression. Hum Pathol. 2015 Nov;46(11):1598-606.
- 240. Shida A, Fukuyama T, Futawatari N, Ohmiya H, Ichiki Y, Yamashita T, Nishi Y, Kobayashi N, Yamazaki H, Watanabe M, Takahashi Y. Cancer/testis antigen, Kita-Kyushu lung cancer antigen-1 and ABCD stratification for diagnosing gastric cancers. World J Gastroenterol. 2020 Jan 28;26(4):424-432.
- 241. Shiozaki A, Kudou M, Ichikawa D, Shimizu H, Arita T, Kosuga T, Konishi H, Komatsu S, Fujiwara H, Okamoto K, Kishimoto M, Marunaka Y, Otsuji E. Expression and role of anion exchanger 1 in esophageal squamous cell carcinoma. Oncotarget. 2017 Mar 14;8(11):17921-17935.
- 242. Shoukair FL, Maly A, Haran TK, Hirshoren N, Abu Tair J. Maxillofacial diagnostic features of the enigmatic metastasizing pleomorphic adenoma. Int J Oral Maxillofac Surg. 2020 Jan 28. pii: S0901-5027(20)30002-3.
- 243. Sim DW, Oh IJ, Kim KS, Choi YD, Kwon YS. Pleomorphic adenoma of the trachea. J Bronchology Interv Pulmonol. 2014 Jul;21(3):230-3.
- 244. Simpson RH, Skálová A, Di Palma S, Leivo I. Recent advances in the diagnostic pathology of salivary carcinomas. Virchows Arch. 2014 Oct;465(4):371-84.
- 245. Singh K, Agarwal C, Pujani M, Verma P, Chauhan V. Carcinoma ex pleomorphic adenoma: A diagnostic challenge on cytology. Diagn Cytopathol. 2017 Jul;45(7):651-654.
- 246. Skálová A, Andrle P, Hostička L, Michal M. [Pleomorphic adenoma of salivary glands: diagnostic pitfalls and mimickers of malignancy]. Cesk Patol. 2012 Oct;48(4):179-83.
- 247. Soares AB, Altemani A, de Araújo VC. Study of histopathological, morphological and immunohistochemical features of recurrent pleomorphic adenoma: an attempt to predict recurrence of pleomorphic adenoma. J Oral Pathol Med. 2011 Apr;40(4):352-8.
- 248. Speight PM, Barrett AW. Salivary gland tumours. Oral Dis. 2002 Sep;8(5):229-40.
- 249. Sreeja C, Shahela T, Aesha S, Satish MK. Taxonomy of salivary gland neoplasm. J Clin Diagn Res. 2014 Mar;8(3):291-3.

- 250. Steele NP, Wenig BM, Sessions RB. A case of pleomorphic adenoma of the parotid gland metastasizing to a mediastinal lymph node. Am J Otolaryngol. 2007 Mar-Apr;28(2):130-3.
- 251. Stewart GD, Skipworth RJ, Ross JA, Fearon KCh, Baracos VE. The dermcidin gene in cancer: role in cachexia, carcinogenesis and tumour cell survival. Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 2008 May;11(3):208-13.
- 252. Sugimoto MA, Vago JP, Teixeira MM, Sousa LP. Annexin A1 and the Resolution of Inflammation: Modulation of Neutrophil Recruitment, Apoptosis, and Clearance. J Immunol Res. 2016;2016:8239258.
- 253. Sun AG, Wang MG, Li B, Meng FG. Down-regulation of miR-124 target protein SCP-1 inhibits neuroglioma cell migration. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2017 Feb;21(4):723-729.
- 254. Sun L, Hu S, Yu L, Guo C, Sun L, Yang Z, Qi J, Ran Y. Serum haptoglobin as a novel molecular biomarker predicting colorectal cancer hepatic metastasis. Int J Cancer. 2016 Jun 1;138(11):2724-31.
- 255. Sun TT, Wang Y, Cheng H, Xiao HZ, Xiang JJ, Zhang JT, Yu SB, Martin TA, Ye L, Tsang LL, Jiang WG, Xiaohua J, Chan HC. Disrupted interaction between CFTR and AF-6/afadin aggravates malignant phenotypes of colon cancer. Biochim Biophys Acta. 2014 Mar;1843(3):618-28.
- 256. Suo WH, Zhang N, Wu PP, Zhao L, Song LJ, Shen WW, Zheng L, Tao J, Long XD, Fu GH. Anti-tumour effects of small interfering RNA targeting anion exchanger 1 in experimental gastric cancer. Br J Pharmacol. 2012 Jan;165(1):135-47.
- 257. Suzuki M, Matsuzuka T, Saijo S, Takahara M, Harabuchi Y, Okuni T, Himi T, Kakizaki T, Fukuda S, Yamada K, Nagahashi T, Abe T, Shinkawa H, Katagiri K, Sato H, Fukui N, Ishikawa K, Suzuki T, Kobayashi T, Saito D, Saijo S, Tateda M, Hashimoto S, Ishida A, Kakehata S, Suzuki O, Hashimoto Y, Omori K. Carcinoma ex pleomorphic adenoma of the parotid gland: a multi-institutional retrospective analysis in the Northern Japan Head and Neck Cancer Society. Acta Otolaryngol. 2016 Nov;136(11):1154-1158.
- 258. Szklarczyk D, Morris JH, Cook H, Kuhn M, Wyder S, Simonovic M, Santos A, Doncheva NT, Roth A, Bork P, Jensen LJ, von Mering C. The STRING database in 2017: quality-controlled protein-protein association networks, made broadly accessible. Nucleic Acids Res. 2017 Jan 4;45(D1):D362-D368.
- 259. Tabariès S, McNulty A, Ouellet V, Annis MG, Dessureault M, Vinette M, Hachem Y, Lavoie B, Omeroglu A, Simon HG, Walsh LA, Kimbung S, Hedenfalk I, Siegel PM. Afadin cooperates with Claudin-2 to promote breast cancer metastasis. Genes Dev. 2019 Feb 1;33(3-4):180-193.
- 260. Takai Y, Ikeda W, Ogita H, Rikitake Y. The immunoglobulin-like cell adhesion molecule nectin and its associated protein afadin. Annu Rev Cell Dev Biol. 2008;24:309-42.
- 261. Takai Y, Nakanishi H. Nectin and afadin: novel organizers of intercelular junctions. J Cell Sci. 2003 Jan 1;116(Pt 1):17-27.

- 262. Takihara Y, Matsuda Y, Hara J. Role of the beta isoform of 14-3-3 proteins in cellular proliferation and oncogenic transformation. Carcinogenesis. 2000 Nov;21(11):2073-7.
- 263. Tian Z, Li L, Wang L, Hu Y, Li J. Salivary gland neoplasms in oral and maxillofacial regions: a 23-year retrospective study of 6982 cases in an eastern Chinese population. Int J Oral Maxillofac Surg. 2010 Mar;39(3):235-42.
- 264. Tomar AK, Agarwal R, Kundu B. Most Variable Genes and Transcription Factors in Acute Lymphoblastic Leukemia Patients. Interdiscip Sci. 2019 Dec;11(4):668-678. angaraj M, Nanda R, Panda S. Apolipoprotein A-I: A Molecule of Diverse Function. Indian J Clin Biochem. 2016 Jul;31(3):253-9.
- 265. Triantafyllou A, Thompson LD, Devaney KO, Bell D, Hunt JL, Rinaldo A, Vander Poorten V, Ferlito A. Functional Histology of Salivary Gland Pleomorphic Adenoma: An Appraisal. Head Neck Pathol. 2015 Sep;9(3):387-404.
- 266. Tu Y, Johnstone CN, Stewart AG. Annexin A1 influences in breast cancer: Controversies on contributions to tumour, host and immunoediting processes. Pharmacol Res. 2017 May;119:278-288.
- 267. Tyers M, Mann M. From genomics to proteomics. Nature. 2003 Mar 13;422(6928):193-7.
- 268. Urs AB, Augustine J, Negi D, Kumar RD, Ghosh S. Pleomorphic adenoma: a rare presentation in buccal salivary gland with extensive squamous and mucous metaplasia. Pan Afr Med J. 2019 Jun 26;33:147.
- 269. van Hees T, van Weert S, Witte B, René Leemans C. Tumors of the parapharyngeal space: the VU University Medical Center experience over a 20-year period. Eur Arch Otorhinolaryngol. 2018 Apr;275(4):967-972.
- 270. Vargas PA, Cheng Y, Barrett AW, Craig GT, Speight PM. Expression of Mcm-2, Ki-67 and geminin in benign and malignant salivary gland tumours. J Oral Pathol Med. 2008 May;37(5):309-18.
- 271. Vasconcelos AC, Nör F, Meurer L, Salvadori G, Souza LB, Vargas PA, Martins MD. Clinicopathological analysis of salivary gland tumors over a 15-year period. Braz Oral Res. 2016;30. pii: S1806-83242016000100208.
- 272. Vento SI, Numminen J, Kinnunen I, Rautiainen M, Tarkkanen J, Hagström J, Mäkitie AA. Pleomorphic adenoma in the nasal cavity: a clinicopathological study of ten cases in Finland. Eur Arch Otorhinolaryngol. 2016 Nov;273(11):3741-3745.
- 273. Vilá de Muga S, Timpson P, Cubells L, Evans R, Hayes TE, Rentero C, Hegemann A, Reverter M, Leschner J, Pol A, Tebar F, Daly RJ, Enrich C, Grewal T. Annexin A6 inhibits Ras signalling in breast cancer cells. Oncogene. 2009 Jan 22;28(3):363-77.
- 274. von Holstein SL, Therkildsen MH, Prause JU, Stenman G, Siersma VD, Heegaard S. Lacrimal gland lesions in Denmark between 1974 and 2007. Acta Ophthalmol. 2013 Jun;91(4):349-54.
- 275. Wagner VP, Martins MD, Genari B, do Amaral FB, Maciel AC, Martins MA, Munerato MC. Diagnostic challenge of a deep minor salivary gland neoplasm. Case Rep Otolaryngol. 2014;2014:608267.
- 276. Walther TC, Mann M. Mass spectrometry-based proteomics in cell biology. J Cell Biol. 2010 Aug 23;190(4):491-500.
- 277. Wang B, Qi X, Liu J, Zhou R, Lin C, Shangguan J, Zhang Z, Zhao L, Li G. MYH9 Promotes Growth and Metastasis via Activation of MAPK/AKT Signaling in Colorectal Cancer. J Cancer. 2019 Jan 29;10(4):874-884.
- 278. Wang H, Fundakowski C, Khurana JS, Jhala N. Fine-Needle Aspiration Biopsy of Salivary Gland Lesions. Arch Pathol Lab Med. 2015 Dec;139(12):1491-7.
- 279. Wang W, Chu HJ, Liang YC, Huang JM, Shang CL, Tan H, Liu D, Zhao YH, Liu TY, Yao SZ. FABP5 correlates with poor prognosis and promotes tumor cell growth and metastasis in cervical cancer. Tumour Biol. 2016 Nov;37(11):14873-14883.
- 280. Wang X, Zhang S, Zhang J, Lam E, Liu X, Sun J, Feng L, Lu H, Yu J, Jin H. Annexin A6 is down-regulated through promoter methylation in gastric cancer. Am J Transl Res. 2013 Aug 15;5(5):555-62.
- 281. Wang Y, Shan Q, Hou G, Zhang J, Bai J, Lv X, Xie Y, Zhu H, Su S, Li Y, Zi J, Lin L, Han W, Zhao X, Wang H, Xu N, Wu L, Lou X, Liu S. Discovery of potential colorectal cancer serum biomarkers through quantitative proteomics on the colonic tissue interstitial fluids from the AOM-DSS mouse model. J Proteomics. 2016 Jan 30;132:31-40.
- 282. Wang Y, Shang W, Lei X, Shen S, Zhang H, Wang Z, Huang L, Yu Z, Ong H, Yin X, Yang W, Zhang C. Opposing functions of PLAG1 in pleomorphic adenoma: a microarray analysis of PLAG1 transgenic mice. Biotechnol Lett. 2013 Sep;35(9):1377-85.
- 283. Wasserman JK, Dickson BC, Smith A, Swanson D, Purgina BM, Weinreb I. Metastasizing Pleomorphic Adenoma: Recurrent PLAG1/HMGA2 Rearrangements and Identification of a Novel HMGA2-TMTC2 Fusion. Am J Surg Pathol. 2019 Aug;43(8):1145-1151.
- 284. Weiler C, Zengel P, van der Wal JE, Guntinas-Lichius O, Schwarz S, Harrison JD, Kirchner T, Ihrler S. Carcinoma ex pleomorphic adenoma with special reference to the prognostic significance of histological progression: a clinicopathological investigation of 41 cases. Histopathology. 2011 Oct;59(4):741-50.
- 285. Williams MO, Ihrler S, Seethala R. Carcinoma Ex-Pleomorphic Adenoma. In: El-Naggar AK, Chan JK, Grandis Jennifer R, Takata T, Slootweg PJ, organizadores. WHO Classification Head Neck Tumours. Fourth. 2017;176-177.
- 286. Wiśniewski JR, Duś K, Mann M. Proteomic workflow for analysis of archival formalinfixed and paraffin-embedded clinical samples to a depth of 10 000 proteins. Proteomics Clin Appl. 2013 Apr;7(3-4):225-33.

- 287. Witt RL, Eisele DW, Morton RP, Nicolai P, Poorten VV, Zbären P. Etiology and management of recurrent parotid pleomorphic adenoma. Laryngoscope. 2015 Apr;125(4):888-93.
- 288. Wu J, Zhang YC, Suo WH, Liu XB, Shen WW, Tian H, Fu GH. Induction of anion exchanger-1 translation and its opposite roles in the carcinogenesis of gastric cancer cells and differentiation of K562 cells. Oncogene. 2010 Apr 1;29(13):1987-96.
- 289. Wu Q, Zhu J, Liu F, Liu J, Li M. Downregulation of 14-3-3β inhibits proliferation and migration in osteosarcoma cells. Mol Med Rep. 2018 Feb;17(2):2493-2500.
- 290. Wu YC, Wang YP, Cheng SJ, Chen HM, Sun A, Chang JY. Clinicopathological study of 74 palatal pleomorphic adenomas. J Formos Med Assoc. 2016 Jan;115(1):25-30.
- 291. Xia L, Hu Y, Gu T, Wang L, Tian Z. Promoter hypermethylation may contribute to E-cadherin repression in the human salivary carcinoma ex pleomorphic adenoma. Int J Oncol. 2018 Feb;52(2):496-504.
- 292. Xie S, Wang K, Xu H, Hua RX, Li TZ, Shan XF, Cai ZG. PRISMA-Extracapsular Dissection Versus Superficial Parotidectomy in Treatment of Benign Parotid Tumors: Evidence From 3194 Patients. Medicine (Baltimore). 2015 Aug;94(34):e1237.
- 293. Xu B, Aneja A, Ghossein R, Katabi N. Salivary gland epithelial neoplasms in pediatric population: a single-institute experience with a focus on the histologic spectrum and clinical outcome. Hum Pathol. 2017 Sep;67:37-44.
- 294. Xu B, Wang L, Borsu L, Ghossein R, Katabi N, Ganly I, Dogan S. A proportion of primary squamous cell carcinomas of the parotid gland harbour high-risk human papillomavirus. Histopathology. 2016 Dec;69(6):921-929.
- 295. Xu C, Du Z, Ren S, Liang X, Li H. MiR-129-5p sensitization of lung câncer cells to etoposide-induced apoptosis by reducing YWHAB. J Cancer. 2020 Jan 1;11(4):858-866.
- 296. Xu WQ, Song LJ, Liu Q, Zhao L, Zheng L, Yan ZW, Fu GH. Expression of anion exchanger 1 is associated with tumor progress in human gastric cancer. J Cancer Res Clin Oncol. 2009 Oct;135(10):1323-30.
- 297. Xu Y, Chang R, Peng Z, Wang Y, Ji W, Guo J, Song L, Dai C, Wei W, Wu Y, Wan X, Shao C, Zhan L. Loss of polarity protein AF6 promotes pancreatic câncer metastasis by inducing Snail expression. Nat Commun. 2015 May 26;6:7184.
- 298. Yakob M, Fuentes L, Wang MB, Abemayor E, Wong DT. Salivary biomarkers for detection of oral squamous cell carcinoma current state and recent advances. Curr Oral Health Rep. 2014 Jun 1;1(2):133-141.
- 299. Yamamoto T, Mori T, Sawada M, Matsushima H, Ito F, Akiyama M, Kitawaki J. Loss of AF-6/afadin induces cell invasion, suppresses the formation of glandular structures and might be a predictive marker of resistance to chemotherapy in endometrial cancer. BMC Cancer. 2015 Apr 12;15:275.

- 300. Yates JR, Ruse CI, Nakorchevsky A. Proteomics by mass spectrometry: approaches, advances, and applications. Annu Rev Biomed Eng. 2009;11:49-79.
- 301. Ye G, Huang K, Yu J, Zhao L, Zhu X, Yang Q, Li W, Jiang Y, Zhuang B, Liu H, Shen Z, Wang D, Yan L, Zhang L, Zhou H, Hu Y, Deng H, Liu H, Li G, Qi X. MicroRNA-647 Targets SRF-MYH9 Axis to Suppress Invasion and Metastasis of Gastric Cancer. Theranostics. 2017 Aug 2;7(13):3338-3353.
- 302. Ye P, Gao Y, Mao C, Guo CB, Yu GY, Peng X. Carcinoma Ex Pleomorphic Adenoma: Is It a High-Grade Malignancy? J Oral Maxillofac Surg. 2016 Oct;74(10):2093-104.
- 303. Yoneyama Y, Matsuo M, Take K, Kabuta T, Chida K, Hakuno F, Takahashi S. The AP-1 complex regulates intracellular localization of insulin receptor substrate 1, which is required for insulin-like growth factor I-dependent cell proliferation. Mol Cell Biol. 2013 May;33(10):1991-2003.
- 304. Yuanhua L, Pudong Q, Wei Z, Yuan W, Delin L, Yan Z, Geyu L, Bo S. TFAP2A Induced KRT16 as an Oncogene in Lung Adenocarcinoma via EMT. Int J Biol Sci. 2019 Jun 2;15(7):1419-1428.
- 305. Zabłocka-Słowińska K, Płaczkowska S, Skórska K, Prescha A, Pawełczyk K, Porębska I, Kosacka M, Grajeta H. Oxidative stress in lung cancer patients is associated with altered serum markers of lipid metabolism. PLoS One. 2019 Apr 11;14(4):e0215246.
- 306. Zamanian-Daryoush M, Lindner D, Tallant TC, Wang Z, Buffa J, Klipfell E, Parker Y, Hatala D, Parsons-Wingerter P, Rayman P, Yusufishaq MS, Fisher EA, Smith JD, Finke J, DiDonato JA, Hazen SL. The cardioprotective protein apolipoprotein A1 promotes potent anti-tumorigenic effects. J Biol Chem. 2013 Jul 19;288(29):21237-52.
- 307. Zbären P, Vander Poorten V, Witt RL, Woolgar JA, Shaha AR, Triantafyllou A, Takes RP, Rinaldo A, Ferlito A. Pleomorphic adenoma of the parotid: formal parotidectomy or limited surgery? Am J Surg. 2013 Jan;205(1):109-18.
- 308. Zhan YZ, Liu F, Zhang Y, Mo XY, Cheng WD, Wang W. [FABP5 promotes cell growth, invasion and metastasis in cervical cancer]. Zhonghua Zhong Liu Za Zhi. 2019 Mar 23;41(3):200-207.
- 309. Zhang C, Wang H, Chen Z, Zhuang L, Xu L, Ning Z, Zhu Z, Wang P, Meng Z. Carbonic anhydrase 2 inhibits epithelial-mesenchymal transition and metastasis in hepatocellular carcinoma. Carcinogenesis. 2018 Apr 5;39(4):562-570.
- 310. Zhang D, Wu H, Zhang X, Ding X, Huang M, Geng M, Li H, Xie Z. Phosphoglycerate Mutase 1 Predicts the Poor Prognosis of Oral Squamous Cell Carcinoma and is Associated with Cell Migration. J Cancer. 2017 Jul 5;8(11):1943-1951.
- 311. Zhang J, Ding W, Kuai X, Ji Y, Zhu Z, Mao Z, Wang Z. Dermcidin as a novel binding protein of lncRNA STCAT3 and its effect on prognosis in gastric cancer. Oncol Rep. 2018 Nov;40(5):2854-2863.
- 312. Zhao G, Wu M, Wang X, Du Z, Zhang G. Effect of FABP5 gene silencing on the proliferation, apoptosis and invasion of human gastric SGC-7901 cancer cells. Oncol Lett. 2017 Oct;14(4):4772-4778.

- 313. Zhao J, Wang J, Yu C, Guo L, Wang K, Liang Z, Lou J. Prognostic factors affecting the clinical outcome of carcinoma ex pleomorphic adenoma in the major salivary gland. World J Surg Oncol. 2013 Aug 8;11(1):180.
- 314. Zheng Y, Miyamoto DT, Wittner BS, Sullivan JP, Aceto N, Jordan NV, Yu M, Karabacak NM, Comaills V, Morris R, Desai R, Desai N, Emmons E, Milner JD, Lee RJ, Wu CL, Sequist LV, Haas W, Ting DT, Toner M, Ramaswamy S, Maheswaran S, Haber DA. Expression of β-globin by cancer cells promotes cell survival during bloodborne dissemination. Nat Commun. 2017 Feb 9;8:14344.
- 315. Zhou Q, Bai WL, Li JX. [Study on the mutation of Filaggrin gene in nasal polyps]. Lin Chung Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi. 2018 Feb;32(3):214-216.
- 316. Zhou R, Huang W, Yao Y, Wang Y, Li Z, Shao B, Zhong J, Tang M, Liang S, Zhao X, Tong A, Yang J. CA II, a potential biomarker by proteomic analysis, exerts significant inhibitory effect on the growth of colorectal cancer cells. Int J Oncol. 2013 Aug;43(2):611-21.
- 317. Zografos E, Anagnostopoulos AK, Papadopoulou A, Legaki E, Zagouri F, Marinos E, Tsangaris GT, Gazouli M. Serum Proteomic Signatures of Male Breast Cancer. Cancer Genomics Proteomics. 2019 Mar-Apr;16(2):129-137.
- 318. Zuo J, Zhao M, Liu B, Han X, Li Y, Wang W, Zhang Q, Lv P, Xing L, Shen H, Zhang X. TNF-α-mediated upregulation of SOD-2 contributes to cell proliferation and cisplatin resistance in esophageal squamous cell carcinoma. Oncol Rep. 2019 Oct;42(4):1497-1506.

APÊNDICES

Apêndice 1 - Características clínicas dos casos de AP

Caso	Sexo	Idade	Localização	Hábitos	Sintomatologia	Aspecto clínico	Evolução (meses)	Tamanho (cm)	Tratamento	Recidiva	Situação atual
1	М	61	Parótida	Sem hábitos	Aumento de volume	Endurecida	12	6,0	Parotidectomia Superficial	Não	Vivo sem doença
2	М	60	Palato	Ex-tabagista, Ex-etilista	Aumento de volume e sangramento	Fibroelástica e móvel	36	2,5	Maxilectomia subtotal	Não	Vivo sem doença
3	F	32	Submandibular	Tabagista, etilista	Aumento de volume	Endurecida e móvel	24	3,0	Submandibulectomia	Não	Vivo sem doença
4	F	69	Parótida	Sem hábitos	Aumento de volume	Endurecida e fixa	08	3,0	Parotidectomia superficial	Não	Vivo sem doença
5	М	31	Parótida	Tabagista	Aumento de volume	Endurecida e móvel	36	2,5	Parotidectomia superficial	Não	Vivo sem doença

F: Feminino, M: Masculino.

Caso	Sexo	Idade	Localização	Sintomatologia	Evolução (meses)	Subtipo	Invasão	APR	Sistema TNM	Estadiamento	Tratamento	Recidiva/ Metástase tardia	Situação atual
1	М	54	Parótida	Aumento de volume, sangramento	NI	CDS	IC	Não	T3N0M0	III	Cirurgia	Não/Não	Morto por outras causas
2	М	51	Parótida	Aumento de volume	48	CDS	IC	Não	T1N0M0	Ι	Cirurgia e radioterapia	Não/Não	Vivo sem doença
3	NI	NI	Parótida	NI	NI	CDS	FI	Sim	NI	NI	Cirurgia	NI	NI
4	М	73	Parótida	Aumento de volume, dor	48	CDS	FI	Sim	T4aN2M0	IVa	Cirurgia e radioterapia	Não/Não	NI
5	F	74	Palato	Aumento de volume	360	CME	IC	Não	T2N0M0	Π	Cirurgia	Sim/Sim (Órbita)	Morto pela doença
6	F	57	Parótida	NI	NI	CME	IC	Não	NI	NI	NI	NI	NI
7	М	72	Parótida	Aumento de volume	48	CME	FI	Não	T4aN1M0	IVa	Cirurgia e radioterapia	Não/Não	NI
8	М	55	Parótida	Aumento de volume	96	CME	FI	Não	T3N0M0	III	Cirurgia	Não/Não	NI
9	М	66	Parótida	Aumento de volume	180	CEME	IC	Sim	T3N0M0	III	Cirurgia e radioterapia	Não/Não	Vivo sem doença
10	F	50	Parótida	Aumento de volume	240	CEME	MI	Sim	T3N1M0	III	Cirurgia	NI	NI
11	F	66	Parótida	Aumento de volume	NI	CEME	MI	Não	T1N0M0	Ι	Cirurgia	NI	NI
12	F	59	Parótida	Aumento de volume, dor	12	CEME	FI	Não	T3N0M0	III	Cirurgia e radioterapia	Não/Não	Vivo sem doença

M: Masculino, NI: Não informado, F: Feminino; CDS: Carcinoma do ducto salivar, CM: Carcinoma mioepitelial, CEM: Carcinoma epitelial-mioepitelial; IC: Intracapsular,

FC: Francamente invasivo, MI: Minimamente invasivo.

Código da proteína	Código das principais proteínas	Nome da proteína	Gene da proteína
P01023; P20742; P20742-2	P01023	Alpha-2-macroglobulin	A2M
H0YMF1; P16112; P16112-2; A0A087X1T7; P16112- 3; Q6PID9; H0YK70	H0YMF1; P16112; P16112-2; A0A087X1T7; P16112-3; Q6PID9; H0YK70	Aggrecan core protein; Aggrecan core protein 2	ACAN
P60712; P60709; A0A2R8Y793; A0A2R8YGF8; E7EVS6; G5E9R0; C9JZR7; C9JUM1; C9JTX5; P63267-2; A0A2R8YEA7; A5A3E0; Q6S8J3; P0CG38; Q9BYX7; F8WCH0; P0CG39; A0A2R8YFE2	P60712; P60709; A0A2R8Y793; A0A2R8YGF8; E7EVS6; G5E9R0	Actin, cytoplasmic 1; Actin, cytoplasmic 1, N-terminally processed	ACTB
Q562R1	Q562R1	Beta-actin-like protein 2	ACTBL2
P12814-4; P12814-3; P12814; P12814-2; H9KV75; H7C5W8; H0YJW3; H0YJ11; O43707; O43707-2; F5GXS2; O43707-3; H7C144	P12814-4; P12814-3; P12814; P12814-2; H9KV75; H7C5W8; H0YJW3; H0YJ11; O43707; O43707-2; F5GXS2; O43707-3; H7C144	Alpha-actinin-1; Alpha-actinin-4	ACTN1; ACTN4
P61158; Q9P1U1; B4DXW1; Q9P1U1-3; Q9P1U1-2; C9IZN3; Q9C0K3; H7C4J1; A0A0A0MTI9	P61158; Q9P1U1; B4DXW1; Q9P1U1- 3; Q9P1U1-2; C9IZN3; Q9C0K3; H7C4J1; A0A0A0MTI9	Actin-related protein 3; Actin-related protein 3B; Actin-related protein 3C	ACTR3; ACTR3B; ACTR3C
Q9NZD4	Q9NZD4	Alpha-hemoglobin-stabilizing protein	AHSP
P13716-2; P13716; B7ZBK6	P13716-2; P13716	Delta-aminolevulinic acid dehydratase	ALAD
P02768-1; P02768; A0A0C4DGB6; B7WNR0; D6RHD5; H0YA55; C9JKR2; P02768-2; A0A087WWT3; P02768-3; H7C013	P02768-1; P02768; A0A0C4DGB6; B7WNR0; D6RHD5; H0YA55; C9JKR2; P02768-2; A0A087WWT3; P02768-3	Serum albumin	ALB

P00352	P00352	Retinal dehydrogenase 1	ALDH1A1
P49189-3; P49189; P49189-2	P49189-3; P49189; P49189-2	4-trimethylaminobutyraldehyde dehydrogenase	ALDH9A1
P04075-2; J3KPS3; P04075; H3BQN4; H3BPS8; H3BR04; H3BUH7; H3BU78; H3BMQ8	P04075-2; J3KPS3; P04075; H3BQN4; H3BPS8; H3BR04; H3BUH7	Fructose-bisphosphate aldolase A; Fructose-bisphosphate aldolase	ALDOA
P04745; P19961; P04746; P19961-2; Q5T085; P04746- 2; Q3MHH8; H7BZQ8; Q5T084; C9J2Z5; C9JWK7	P04745; P19961; P04746; P19961-2; Q5T085	Alpha-amylase 1; Alpha-amylase 2B; Pancreatic alpha-amylase	AMY1A; AMY2B; AMY2A; AMY1B
P04083; Q5T3N1; Q5T3N0	P04083; Q5T3N1	Annexin A1; Annexin	ANXA1
P07355-2; P07355; A6NMY6; H0YN42; H0YMU9; H0YMD0; H0YM50; H0YKS4; H0YNP5; H0YMM1; H0YL33; H0YN28; H0YNA0; H0YMW4; H0YKX9; H0YMT9; H0YLV6; H0YKZ7; H0YKL9; H0YKV8; H0YKN4; H0YMD9; H0YN52; H0YNB8; H0YLE2	P07355-2; P07355; A6NMY6; H0YN42; H0YMU9; H0YMD0; H0YM50; H0YKS4; H0YNP5; H0YMM1; H0YL33; H0YN28; H0YNA0	Annexin A2; Putative annexin A2- like protein; Annexin	ANXA2; ANXA2P2
P08758; E9PHT9; D6RBL5; D6RBE9; D6RCN3	P08758; E9PHT9; D6RBL5; D6RBE9	Annexin A5; Annexin	ANXA5
P08133; P08133-2; E5RK69; E7EMC6; E5RFF0; H0YC77	P08133; P08133-2; E5RK69; E7EMC6; E5RFF0; H0YC77	Annexin A6; Annexin	ANXA6
K7EPJ8; K7ER75; K7EQ90	K7EPJ8; K7ER75; K7EQ90	AP-1 complex subunit mu-1	AP1M1
P02647; F8W696	P02647; F8W696	Apolipoprotein A-I; Truncated apolipoprotein A-I	APOA1
P05089-2; P05089; P05089-3	P05089-2; P05089; P05089-3	Arginase-1	ARG1
Q2M1Z3	Q2M1Z3	Rho GTPase-activating protein 31	ARHGAP31
J3QQX2; P52565; J3KTF8; J3KRE2	J3QQX2; P52565; J3KTF8; J3KRE2	Rho GDP-dissociation inhibitor 1	ARHGDIA

Q93084-5; Q93084-6; Q93084; P16615; Q93084-7; Q93084-3; P16615-4; O14983; P16615-3; Q93084-2; Q93084-4; P16615-2; P16615-5; O14983-2; H7C5W9; O14983-3	Q93084-5; Q93084-6; Q93084; P16615; Q93084-7; Q93084-3; P16615-4; O14983; P16615-3; Q93084-2; Q93084- 4; P16615-2; P16615-5; O14983-2; H7C5W9; O14983-3	Sarcoplasmic/endoplasmic reticulum calcium ATPase 3; Sarcoplasmic/endoplasmic reticulum calcium ATPase 2; Sarcoplasmic/endoplasmic reticulum calcium ATPase 1	ATP2A3; ATP2A2; ATP2A1
P25705; P25705-2; K7EK77; K7ERX7; K7EJP1; K7EQH4; P25705-3; K7ESA0	P25705; P25705-2; K7EK77; K7ERX7; K7EJP1; K7EQH4; P25705-3	ATP synthase subunit alpha, mitochondrial	ATP5A1
P06576; H0YH81; F8W079; F8W0P7	P06576; H0YH81; F8W079; F8W0P7	ATP synthase subunit beta, mitochondrial; ATP synthase subunit beta	ATP5B
P25311; C9JEV0; H7BZJ8	P25311; C9JEV0	Zinc-alpha-2-glycoprotein	AZGP1
P30043; A0A2R8YEP4; M0R192; M0QZL1; A0A2R8Y7Y9	P30043; A0A2R8YEP4; M0R192; M0QZL1; A0A2R8Y7Y9	Flavin reductase (NADPH)	BLVRB
Q5VYJ5; U5GXS0	Q5VYJ5; U5GXS0	MAM and LDL-receptor class A domain-containing protein C10orf112	C10orf112
P01024	P01024	Complement C3; Complement C3 beta chain; Complement C3 alpha chain; C3a anaphylatoxin; Complement C3b alpha chain; Complement C3c alpha chain fragment 1; Complement C3dg fragment; Complement C3g fragment; Complement C3d fragment; Complement C3f fragment; Complement C3c alpha chain fragment 2	С3
A0A0G2JPR0; P0C0L4; P0C0L5; A0A0G2JL54; A0A140TA29; A0A140TA32; A0A140TA44; A0A140TA49; F5GXS0; P0C0L4-2; A0A3B3ISA6	A0A0G2JPR0; P0C0L4; P0C0L5; A0A0G2JL54; A0A140TA29; A0A140TA32; A0A140TA44;	Complement C4-A; Complement C4 beta chain; Complement C4-A alpha chain; C4a anaphylatoxin; C4b-A;	C4A; C4B

	A0A140TA49; F5GXS0; P0C0L4-2; A0A3B3ISA6	C4d-A; Complement C4 gamma chain; Complement C4-B; Complement C4 beta chain; Complement C4-B alpha chain; C4a anaphylatoxin; C4b-B; C4d-B; Complement C4 gamma chain	
Q5TEZ5	Q5TEZ5	Uncharacterized protein C6orf163	C6orf163
P00915; E5RHP7; E5RFE7; E5RH81; H0YBE2; E5RG43; E5RIF9; E5RJI8; E5RG81; E5RFL2; E5RGU8; E5RJF6; E5RII2; E5RHS7	P00915; E5RHP7; E5RFE7; E5RH81; H0YBE2; E5RG43; E5RIF9; E5RJI8	Carbonic anhydrase 1	CA1
P00918	P00918	Carbonic anhydrase 2	CA2
P23280; P23280-3; P23280-2; F8W148	P23280; P23280-3; P23280-2; F8W148	Carbonic anhydrase 6	CA6
Q9NZT1	Q9NZT1	Calmodulin-like protein 5	CALML5
P31944	P31944	Caspase-14; Caspase-14 subunit p19; Caspase-14 subunit p10	CASP14
P04040	P04040	Catalase	CAT
Q99832; Q99832-3; Q99832-4; Q99832-2	Q99832; Q99832-3; Q99832-4; Q99832- 2	T-complex protein 1 subunit eta	CCT7
G8JLG2; Q15517; Q2L6G8	G8JLG2; Q15517; Q2L6G8	Corneodesmosin	CDSN
P12277	P12277	Creatine kinase B-type	СКВ
P10909-2; P10909-5; P10909; P10909-4; P10909-3; H0YC35; H0YAS8; H0YLK8; E7ERK6	P10909-2; P10909-5; P10909; P10909-4; P10909-3; H0YC35; H0YAS8	Clusterin; Clusterin beta chain; Clusterin alpha chain; Clusterin	CLU
Q8N3K9	Q8N3K9	Cardiomyopathy-associated protein 5	CMYA5
P12109; A0A087X0S5	P12109; A0A087X0S5	Collagen alpha-1(VI) chain	COL6A1

P12110; P12110-2; P12110-3; H7C0M5	P12110; P12110-2; P12110-3; H7C0M5	Collagen alpha-2(VI) chain	COL6A2
P12111; P12111-2; P12111-4; E7ENL6; P12111-5; P12111-3	P12111; P12111-2; P12111-4; E7ENL6	Collagen alpha-3(VI) chain	COL6A3
P21291; E9PP21	P21291; E9PP21	Cysteine and glycine-rich protein 1	CSRP1
P01037	P01037	Cystatin-SN	CST1
P09228	P09228	Cystatin-SA	CST2
P01036	P01036	Cystatin-S	CST4
P28325	P28325	Cystatin-D	CST5
P01040; C9J0E4	P01040; C9J0E4	Cystatin-A	CSTA
A0A1B0GU03; A0A1B0GU92; P07339; A0A1B0GWE8; A0A1B0GVD5; A0A1B0GV23; A0A1B0GVP3; A0A1B0GW44; H7C469; C9JH19; F8WD96; F8W787	A0A1B0GU03; A0A1B0GU92; P07339; A0A1B0GWE8; A0A1B0GVD5; A0A1B0GV23; A0A1B0GVP3; A0A1B0GW44; H7C469; C9JH19; F8WD96; F8W787	Cathepsin D; Cathepsin D light chain; Cathepsin D heavy chain	CTSD
P81605; P81605-2	P81605; P81605-2	Dermcidin; Survival-promoting peptide; DCD-1	DCD
Q13838-2; Q13838; O00148; Q5STU3; A0A0G2JJZ9; A0A140T9X3; H0Y400	Q13838-2; Q13838; O00148; Q5STU3; A0A0G2JJZ9; A0A140T9X3; H0Y400	Spliceosome RNA helicase DDX39B; ATP-dependent RNA helicase DDX39A	DDX39B; DDX39A; BAT1
Q9UGM3-6; Q9UGM3-7; Q9UGM3; Q9UGM3-3; Q9UGM3-5; Q9UGM3-2; Q9UGM3-8; Q9UGM3-4; Q9UGM3-9	Q9UGM3-6; Q9UGM3-7; Q9UGM3; Q9UGM3-3; Q9UGM3-5; Q9UGM3-2; Q9UGM3-8; Q9UGM3-4; Q9UGM3-9	Deleted in malignant brain tumors 1 protein	DMBT1
A0A075B6G3; P11532; A0A087WTU7; E9PDN5; A0A087WV90; P11532-4; P11532-2; P11532-3	A0A075B6G3; P11532; A0A087WTU7; E9PDN5; A0A087WV90; P11532-4; P11532-2; P11532-3	Dystrophin	DMD
Q08554; Q08554-2	Q08554; Q08554-2	Desmocollin-1	DSC1

Q02413; Q02413-2	Q02413	Desmoglein-1	DSG1
P15924; P15924-3; P15924-2	P15924; P15924-3; P15924-2	Desmoplakin	DSP
A0A2U3TZH3; Q05639; P68104; Q5VTE0; A0A087WVQ9; P68104-2	A0A2U3TZH3; Q05639; P68104; Q5VTE0; A0A087WVQ9; P68104-2	Elongation factor 1-alpha 2; Elongation factor 1-alpha 1; Putative elongation factor 1-alpha-like 3	EEF1A2; EEF1A1; EEF1A1P5
I3L504; P63241-2; P63241; Q6IS14; Q9GZV4; I3L397; C9J4W5; C9J7B5; F8WCJ1	I3L504; P63241-2; P63241; Q6IS14; Q9GZV4; I3L397; C9J4W5; C9J7B5; F8WCJ1	Eukaryotic translation initiation factor 5A-1; Eukaryotic translation initiation factor 5A-1-like; Eukaryotic translation initiation factor 5A-2	EIF5A; EIF5AL1; EIF5A2
A0A2R8Y6G6; P06733; P06733-2; K7EM90; P09104; P13929; P13929-2; P09104-2; P13929-3; F5H0C8; E5RGZ4; K7EKN2; K7EPM1; A0A2R8YEM5; E5RG95; E5RI09; A0A2R8Y879; F5H1C3; A0A2R8YEG5; K7ERS8; A0A2R8Y798	A0A2R8Y6G6; P06733; P06733-2	Alpha-enolase	ENO1
Q09472	Q09472	Histone acetyltransferase p300	<i>EP300</i>
P16452-2; P16452; P16452-3; F5H563; H3BTE6; H3BPV8	P16452-2; P16452; P16452-3; F5H563; H3BTE6; H3BPV8	Erythrocyte membrane protein band 4.2	EPB42
Q01469; I6L8B7	Q01469; I6L8B7	Fatty acid-binding protein, epidermal	FABP5
P98095-2; P98095	P98095-2; P98095	Fibulin-2	FBLN2
P02671; P02671-2; A0A087WUA0	P02671; P02671-2; A0A087WUA0	Fibrinogen alpha chain; Fibrinopeptide A; Fibrinogen alpha chain	FGA
P02675; D6REL8; P02676	P02675; D6REL8	Fibrinogen beta chain; Fibrinopeptide B; Fibrinogen beta chain	FGB
C9JC84; P02679; C9JEU5; P02679-2	C9JC84; P02679; C9JEU5; P02679-2	Fibrinogen gamma chain	FGG

P20930; P20930	P20930; P20930	Filaggrin	FLG
Q5D862; Q5D862	Q5D862; Q5D862	Filaggrin-2	FLG2
P02751-15; P02751-7; P02751; P02751-11; P02751-3; P02751-17; P02751-5; P02751-6; P02751-4; P02751-8; P02751-13; P02751-14; P02751-9; P02751-10; P02751-12; P02751-16; H0Y7Z1; P02751-2	P02751-15; P02751-7; P02751; P02751- 11; P02751-3; P02751-17; P02751-5; P02751-6; P02751-4; P02751-8; P02751- 13; P02751-14; P02751-9; P02751-10; P02751-12	Fibronectin; Anastellin; Ugl-Y1; Ugl- Y2; Ugl-Y3	FN1
Q14697-2; Q14697; F5H6X6	Q14697-2; Q14697; F5H6X6	Neutral alpha-glucosidase AB	GANAB
P04406; P04406-2; E7EUT5	P04406; P04406-2; E7EUT5	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	GAPDH
P32455	P32455	Interferon-induced guanylate-binding protein 1	GBP1
P00505; P00505-2	P00505; P00505-2	Aspartate aminotransferase, mitochondrial	GOT2
Q15743	Q15743	Ovarian cancer G-protein coupled receptor 1	GPR68
P06396; A0A0A0MT01; A0A0A0MS51; P06396-3; P06396-4; P06396-2; Q3SX14; Q5T0I0; A0A0U1RQL8	P06396; A0A0A0MT01; A0A0A0MS51; P06396-3; P06396-4; P06396-2; Q3SX14	Gelsolin	GSN
P09211; A8MX94; A0A087X2E9	P09211; A8MX94; A0A087X2E9	Glutathione S-transferase P	GSTP1
P07305; P07305-2	P07305; P07305-2	Histone H1.0	H1F0
P10915; D6RBS1; D6RG04; D6RFI7; D6RBX9; D6RAK7; D6RC59	P10915; D6RBS1; D6RG04; D6RFI7; D6RBX9; D6RAK7; D6RC59	Hyaluronan and proteoglycan link protein 1	HAPLN1
P69905; G3V1N2; A0A2R8Y7C0	P69905; G3V1N2; A0A2R8Y7C0	Hemoglobin subunit alpha	HBA1; HBA2
P68871; A0A2R8Y7R2; F8W6P5; A0A0J9YWK4; P02100; A8MUF7	P68871; A0A2R8Y7R2; F8W6P5	Hemoglobin subunit beta; LVV- hemorphin-7	HBB

P02042; E9PFT6; E9PEW8; C9JRG0	P02042; E9PFT6; E9PEW8	Hemoglobin subunit delta	HBD
A0A2R8Y7X9; P69891; P69892; E9PBW4	A0A2R8Y7X9; P69891; P69892	Hemoglobin subunit gamma-1; Hemoglobin subunit gamma-2	HBG1; HBG2
P16403; P16402; P10412; Q02539; P22492	P16403; P16402; P10412	Histone H1.2; Histone H1.3; Histone H1.4	HIST1H1C; HIST1H1D; HIST1H1E
P04908; Q7L7L0; Q93077; A0A0U1RRH7; A0A0U1RR32; P16104; Q96QV6; P0C0S8; P20671; Q6FI13; Q8IUE6; Q16777; Q9BTM1; Q96KK5; Q99878; Q9BTM1-2; A0A3B3IS11; P0C0S5; Q71UI9; C9J0D1; Q71UI9-2; H0YFX9; Q71UI9-5	P04908; Q7L7L0; Q93077; A0A0U1RRH7; A0A0U1RR32; P16104; Q96QV6; P0C0S8; P20671; Q6FI13; Q8IUE6; Q16777; Q9BTM1; Q96KK5; Q99878	Histone H2A type 1-B/E; Histone H2A type 3; Histone H2A type 1-C; Histone H2A.x; Histone H2A type 1- A; Histone H2A type 1; Histone H2A type 1-D; Histone H2A type 2-A; Histone H2A type 2-B; Histone H2A type 2-C; Histone H2A.J; Histone H2A type 1-H; Histone H2A type 1-J	HIST1H2AB; HIST3H2A; HIST1H2AC; H2AFX; HIST1H2AA; HIST1H2AG; HIST1H2AD; HIST2H2AA3; HIST2H2AB; HIST2H2AC; H2AFJ; HIST1H2AH; HIST1H2AJ
U3KQK0; Q5QNW6-2; O60814; P57053; P58876; P62807; Q5QNW6; Q93079; Q99877; Q99879; Q99880; P06899; P23527; P33778; Q16778; Q8N257; Q96A08; A0A2R8Y619	U3KQK0; Q5QNW6-2; O60814; P57053; P58876; P62807; Q5QNW6; Q93079; Q99877; Q99879; Q99880; P06899; P23527; P33778; Q16778; Q8N257	Histone H2B type 1-K; Histone H2B type F-S; Histone H2B type 1-D; Histone H2B type 1-C/E/F/G/I; Histone H2B type 2-F; Histone H2B type 1-H; Histone H2B type 1-N; Histone H2B type 1-M; Histone H2B type 1-L; Histone H2B type 1-J; Histone H2B type 1-O; Histone H2B type 1-B; Histone H2B type 2-E; Histone H2B type 3-B	HIST1H2BK; H2BFS; HIST1H2BD; HIST1H2BC; HIST2H2BF; HIST1H2BH; HIST1H2BN; HIST1H2BM; HIST1H2BL; HIST1H2BJ; HIST1H2BO; HIST1H2BB; HIST2H2BE; HIST3H2BB
K7ES00; P68431; P84243; Q16695; Q5TEC6; Q71DI3; Q6NXT2; K7EK07; B4DEB1; K7EP01; K7EMV3	K7ES00; P68431; P84243; Q16695; Q5TEC6; Q71DI3; Q6NXT2; K7EK07; B4DEB1; K7EP01; K7EMV3	Histone H3.1; Histone H3.3; Histone H3.1t; Histone H3; Histone H3.2; Histone H3.3C	HIST1H3A; H3F3A; HIST3H3; HIST2H3PS2; HIST2H3A; H3F3C
P62805	P62805	Histone H4	HIST1H4A
Q14103; Q14103-2; Q14103-3; Q14103-4; H0Y8G5; D6RAF8; H0YA96; D6RF44; O14979; A0A087WUK2; O14979-2; O14979-3; D6RBQ9	Q14103; Q14103-2; Q14103-3; Q14103- 4; H0Y8G5; D6RAF8; H0YA96; D6RF44; O14979; A0A087WUK2; O14979-2; O14979-3; D6RBQ9	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein D0; Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein D-like	HNRNPD; HNRPDL

G8JLB6; P31943; P55795; E9PCY7; P52597; H0YB39; H0YBD7; H0YBG7	G8JLB6; P31943; P55795; E9PCY7; P52597; H0YB39; H0YBD7; H0YBG7	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H; Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H, N- terminally processed; Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H2; Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein F; Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein F, N- terminally processed	HNRNPH1; HNRNPH2; HNRNPF
P61978-2; P61978; P61978-3; Q5T6W2; S4R359	P61978-2; P61978; P61978-3; Q5T6W2	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K	HNRNPK
O43390-2; O43390; O60506; O60506-2; O60506-3; O43390-4; O60506-4; B7Z645; F6UXX1	O43390-2; O43390; O60506; O60506-2; O60506-3; O43390-4; O60506-4; B7Z645; F6UXX1	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein R; Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein Q	HNRNPR; SYNCRIP
P00738; J3QLC9; P00738-2; H0Y300; J3QR68; A0A0C4DGL8; A0A087WU08; H3BS21; P00739-2; P00739; A0A0A0MRD9; J3KRH2; H3BMJ7; J3QQI8; J3KSV1	P00738; J3QLC9; P00738-2; H0Y300; J3QR68; A0A0C4DGL8; A0A087WU08; H3BS21	Haptoglobin; Haptoglobin alpha chain; Haptoglobin beta chain	НР
P02790; Q9BS19	P02790	Hemopexin	НРХ
Q86YZ3; Q86YZ3	Q86YZ3; Q86YZ3	Hornerin	HRNR
P07900-2; P07900; P08238	P07900-2; P07900; P08238	Heat shock protein HSP 90-alpha; Heat shock protein HSP 90-beta	HSP90AA1; HSP90AB1
A0A0G2JIW1; P0DMV8; P0DMV9; P0DMV8-2; P34931; Q53FA3; V9GZ37	A0A0G2JIW1; P0DMV8; P0DMV9; P0DMV8-2; P34931; Q53FA3; V9GZ37	Heat shock 70 kDa protein 1-like	HSPA1L
P11021	P11021	78 kDa glucose-regulated protein	HSPA5
P17066; P48741	P17066; P48741	Heat shock 70 kDa protein 6; Putative heat shock 70 kDa protein 7	HSPA6; HSPA7
P04792; F8WE04	P04792; F8WE04	Heat shock protein beta-1	HSPB1

P10809; E7ESH4; E7EXB4; C9JL25; P10809-2; C9JCQ4; C9JL19	P10809; E7ESH4; E7EXB4; C9JL25; P10809-2; C9JCQ4; C9JL19	60 kDa heat shock protein, mitochondrial	HSPD1
P98160; A0A3B3IT11; A0A0U1RQT3	P98160	Basement membrane-specific heparan sulfate proteoglycan core protein; Endorepellin; LG3 peptide	HSPG2
A0A286YEY1; P01876; A0A0G2JMB2; A0A286YEY5; P01877	A0A286YEY1; P01876; A0A0G2JMB2	Ig alpha-1 chain C region	IGHA1
A0A0A0MS08; P01857; A0A0A0MS07	A0A0A0MS08; P01857; A0A0A0MS07	Ig gamma-1 chain C region	IGHG1
A0A286YFJ8; A0A286YEY4; P01861; P01859; A0A286YES1; P01860	A0A286YFJ8; A0A286YEY4; P01861; P01859; A0A286YES1; P01860	Ig gamma-4 chain C region; Ig gamma-2 chain C region; Ig gamma-3 chain C region	IGHG4; IGHG2; IGHG3
A0A1B0GUU9; P01871-2; P01871	A0A1B0GUU9; P01871-2; P01871	Ig mu chain C region	IGHM
A0A0B4J1V1; A0A0B4J1X5; A0A0J9YVY3; P01762; P01763; P01772; P01780; P0DP02; A0A0C4DH42; P01767	A0A0B4J1V1; A0A0B4J1X5; A0A0J9YVY3; P01762; P01763; P01772; P01780; P0DP02; A0A0C4DH42; P01767	Immunoglobulin heavy variable 3-21	IGHV3-21
P01591; D6RD17; D6RHJ6; C9JA05	P01591; D6RD17; D6RHJ6; C9JA05	Immunoglobulin J chain	JCHAIN
P01834	P01834	Ig kappa chain C region	IGKC
A0A0C4DH25; P01619	A0A0C4DH25; P01619	Immunoglobulin kappa variable 3D- 20	IGKV3D-20
P06312	P06312	Ig kappa chain V-IV region	IGKV4-1
A0A0B4J231; B9A064; P0CF74; P0CG04; P0DOY2; P0DOY3; A0M8Q6	A0A0B4J231; B9A064; P0CF74; P0CG04; P0DOY2; P0DOY3; A0M8Q6	Immunoglobulin lambda-like polypeptide 5; Ig lambda-6 chain C region; Ig lambda-1 chain C regions; Ig lambda-7 chain C region	IGLL5; IGLC6; IGLC1; IGLC7

P08514; P08514-2; A0A3B3IU79; P08514-3; K7EP83	P08514; P08514-2; A0A3B3IU79; P08514-3; K7EP83	Integrin alpha-IIb; Integrin alpha-IIb heavy chain; Integrin alpha-IIb light chain, form 1; Integrin alpha-IIb light chain, form 2	ITGA2B
P07476	P07476	Involucrin	IVL
P14923; C9JKY1; C9JK18; C9J826; C9JTX4; A0A2R8Y5A3; P35222; A0A2R8Y7Z0; A0A2R8YCH5; B4DGU4; A0A2R8Y5Z1; A0A2R8Y750; A0A2R8Y5C3; A0A2R8Y543; A0A2R8Y804; A0A2R8Y6G0; K7ERP3; C9JPI2	P14923	Junction plakoglobin	JUP
Q5T749	Q5T749	Keratinocyte proline-rich protein	KPRP
P04264; P04264	P04264; P04264	Keratin, type II cytoskeletal 1	KRT1
P13645; P13645; P02535-1; Q7Z3Y7; Q7Z3Y7; Q148H6; Q7Z3Y8; Q7Z3Y8; Q2M2I5; Q2M2I5; Q7Z3Z0; Q7Z3Z0	P13645; P13645	Keratin, type I cytoskeletal 10	KRT10
P13646-1	P13646-1	Keratin, type I cytoskeletal 13	KRT13
P02533; P02533; Q6IFX2; Q61782; Q99456; Q99456; Q9D312; P35900; P35900; P05784; A0A3B3ITG2; K7ENV3; O76014; Q7Z3Y9; Q7Z3Y9; O76013; O76013; O76015; O76015; A2AB72; O76014; P05783; O76013-2; F8VZY9; Q8N1A0; Q8N1A0; Q8N1A0-2	P02533; P02533	Keratin, type I cytoskeletal 14	KRT14
P19012; P19012; A8MT21; P19012-2; C9JTG5	P19012; P19012	Keratin, type I cytoskeletal 15	KRT15
P08779; P08779; Q3ZAW8; Q9Z2K1; K7ENW6	P08779; P08779	Keratin, type I cytoskeletal 16	KRT16
Q04695; Q04695; K7EPJ9; A0A3B3IS58; K7ESE1	Q04695; Q04695	Keratin, type I cytoskeletal 17	KRT17
P08727; P08727; C9JM50; P19001; K7EMS3	P08727; P08727; C9JM50; P19001	Keratin, type I cytoskeletal 19	KRT19

P35908; P35908; Q01546; Q01546; H0YID6	P35908; P35908	Keratin, type II cytoskeletal 2 epidermal	KRT2
Q15323; Q9UE12; Q15323; Q14525; Q14525; O76009; Q6NTB9; O76009; Q497I4; EFSEQ: XP_986630; Q92764; Q14532; Q14532; C4AM86; Q92764; A2A5Y0; Q9D646	Q15323; Q9UE12; Q15323; Q14525; Q14525; O76009; Q6NTB9; O76009; Q497I4	Keratin, type I cuticular Ha1; Keratin, type I cuticular Ha3-II; Keratin, type I cuticular Ha3-I	KRT31; KRT33B; KRT33A
P19013; P19013; F8VZR6; F8VX05	P19013; P19013	Keratin, type II cytoskeletal 4	KRT4
P13647; P13647; H0YI76; H0YIN9; F8W0C6; F8VV57; F8VU69	P13647; P13647	Keratin, type II cytoskeletal 5	KRT5
P02538; P02538; Q8IWY7	P02538; P02538	Keratin, type II cytoskeletal 6A	KRT6A
P48668; P48668	P48668; P48668	Keratin, type II cytoskeletal 6C	KRT6C
P08729; Q3KNV1; P08729; Q9DCV7; A0A1W2PRP1	P08729; Q3KNV1; P08729	Keratin, type II cytoskeletal 7	KRT7
Q32MB2; Q86Y46; F8W1S1; Q7RTS7; Q7RTS7; Q86Y46-2; Q3SY84; Q3SY84; H0YIC5; H0YIG3	Q32MB2; Q86Y46; F8W1S1; Q7RTS7; Q7RTS7; Q86Y46-2; Q3SY84; Q3SY84; H0YIC5	Keratin, type II cytoskeletal 73; Keratin, type II cytoskeletal 74; Keratin, type II cytoskeletal 71	KRT73; KRT74; KRT71
Q7Z794; Q7Z794; F8VS61	Q7Z794; Q7Z794	Keratin, type II cytoskeletal 1b	KRT77
Q7RTT2; Q8N1N4-2; Q8N1N4; Q8N1N4-2	Q7RTT2; Q8N1N4-2; Q8N1N4; Q8N1N4-2	Keratin, type II cytoskeletal 78	KRT78
Q5XKE5; Q5XKE5	Q5XKE5; Q5XKE5	Keratin, type II cytoskeletal 79	KRT79
P05787-2; P05787; P05787; H-INV:HIT000292931; F8VUG2; Q9H552; REFSEQ: XP_092267	P05787-2; P05787; P05787; H- INV:HIT000292931; F8VUG2	Keratin, type II cytoskeletal 8	KRT8
Q6KB66-3; Q6KB66-1; Q6KB66; Q6KB66-2; Q0VBK2	Q6KB66-3; Q6KB66-1; Q6KB66; Q6KB66-2	Keratin, type II cytoskeletal 80	KRT80

Q14533; Q14533; P78385; Q6NT21; P78385; O43790; O43790; A0A087X106; P78386; P78386; Q61726; A6NCN2; U3KPR1	Q14533; Q14533; P78385; Q6NT21; P78385; O43790; O43790; A0A087X106; P78386; P78386; Q61726; A6NCN2; U3KPR1	Keratin, type II cuticular Hb1; Keratin, type II cuticular Hb3; Keratin, type II cuticular Hb6; Keratin, type II cuticular Hb5; Keratin-81-like protein	KRT81; KRT83; KRT86; KRT85
Q6ISB0; Q9NSB2; Q9NSB2	Q6ISB0; Q9NSB2; Q9NSB2	Keratin, type II cuticular Hb4	KRT84
P35527; P35527; K7EQQ3	P35527; P35527; K7EQQ3	Keratin, type I cytoskeletal 9	KRT9
Q13751	Q13751	Laminin subunit beta-3	LAMB3
B7ZB85; B7ZB84; B0QY11	B7ZB85; B7ZB84; B0QY11	LARGE xylosyl- and glucuronyltransferase 1	LARGE
Q5T751; Q5T753; Q5T754; Q5TCM9; Q5T752; Q5T7P2	Q5T751; Q5T753; Q5T754; Q5TCM9; Q5T752; Q5T7P2	Late cornified envelope protein 1C; Late cornified envelope protein 1E; Late cornified envelope protein 1F; Late cornified envelope protein 5A; Late cornified envelope protein 1D; Late cornified envelope protein 1A	LCE1C; LCE1E; LCE1F; LCE5A; LCE1D; LCE1A
O14633; Q5TA81; Q5T7P3; Q5TA82; Q5TA79; Q5TA78; Q9BYE3; Q5TA76	O14633; Q5TA81; Q5T7P3; Q5TA82; Q5TA79; Q5TA78; Q9BYE3; Q5TA76	Late cornified envelope protein 2B; Late cornified envelope protein 2C; Late cornified envelope protein 1B; Late cornified envelope protein 2D; Late cornified envelope protein 2A; Late cornified envelope protein 4A; Late cornified envelope protein 3D; Late cornified envelope protein 3A	LCE2B; LCE2C; LCE1B; LCE2D; LCE2A; LCE4A; LCE3D; LCE3A
P31025; Q5VSP4	P31025; Q5VSP4	Lipocalin-1; Putative lipocalin 1-like protein 1	LCN1; LCN1P1
P09382	P09382	Galectin-1	LGALS1
P47929	P47929	Galectin-7	LGALS7

P02545; P02545-6; P02545-2; P02545-3; Q3BDU5; P02545-4; P02545-5; Q5TCI8; A0A0C4DGC5; H0YAB0	P02545; P02545-6; P02545-2; P02545-3; Q3BDU5; P02545-4; P02545-5; Q5TCI8	Prelamin-A/C; Lamin-A/C	LMNA
P22079; F5H386; P22079-2	P22079; F5H386; P22079-2	Lactoperoxidase	LPO
P02788; E7ER44; E7EQB2; P02788-2; Q0IIK2; Q29443	P02788; E7ER44; E7EQB2; P02788-2	Lactotransferrin; Kaliocin-1; Lactoferroxin-A; Lactoferroxin-B; Lactoferroxin-C	LTF
P51884; Q05443	P51884; Q05443	Lumican	LUM
P61626; A0A0B4J259; F8VV32	P61626; A0A0B4J259; F8VV32	Lysozyme C	LYZ
H0YI09; Q9H8H3; F8VQX6	H0YI09; Q9H8H3; F8VQX6	Methyltransferase-like protein 7A	METTL7A
P14174	P14174	Macrophage migration inhibitory factor	MIF
P55196-5; J3KN01; P55196; P55196-1; A8MQ02; P55196-3; Q5TIG5; P55196-6; P55196-2; H0Y8L4; H0Y9I0	P55196-5; J3KN01; P55196; P55196-1; A8MQ02; P55196-3; Q5TIG5; P55196- 6; P55196-2; H0Y8L4; H0Y9I0	Afadin	MLLT4
Q92665	Q92665	28S ribosomal protein S31, mitochondrial	MRPS31
Q9HC84; P98088	Q9HC84	Mucin-5B	MUC5B
P35579; P35579-2	P35579; P35579-2	Myosin-9	МҮН9
Q32MK0; Q32MK0-4	Q32MK0; Q32MK0-4	Putative myosin light chain kinase 3	MYLK3
P47888; P47893	P47888; P47893	Olfactory receptor 3A3; Olfactory receptor 3A2	OR3A3; OR3A2
I3L3D5; P07737	I3L3D5; P07737	Profilin-1	PFN1
P18669	P18669	Phosphoglycerate mutase 1	PGAM1

P00558; P00558-2	P00558; P00558-2	Phosphoglycerate kinase 1	PGK1
P01833	P01833	Polymeric immunoglobulin receptor; Secretory component	PIGR
P12273	P12273	Prolactin-inducible protein	PIP
P14618; P14618-2; H3BTN5; B4DNK4; H3BQ34; P14618-3; H3BTJ2; H3BUW1; H3BT25; H3BU13; H3BQZ3; H3BN34	P14618; P14618-2; H3BTN5; B4DNK4; H3BQ34; P14618-3; H3BTJ2; H3BUW1	Pyruvate kinase isozymes M1/M2; Pyruvate kinase	РКМ2
Q13835; Q13835-2	Q13835; Q13835-2	Plakophilin-1	PKP1
Q15149; Q15149-2; Q15149-3; Q15149-6; Q15149-4; Q15149-5; Q15149-9; Q15149-8; Q15149-7; H0YDN1	Q15149; Q15149-2; Q15149-3; Q15149- 6; Q15149-4; Q15149-5; Q15149-9; Q15149-8; Q15149-7	Plectin	PLEC
Q04941	Q04941	Proteolipid protein 2	PLP2
P00491; G3V5M2; G3V393	P00491; G3V5M2; G3V393	Purine nucleoside phosphorylase	PNP
Q8WVV4-1; Q8WVV4; Q8WVV4-3	Q8WVV4-1; Q8WVV4	Protein POF1B	POF1B
Q15063; Q15063-5; B1ALD9; Q15063-3; Q15063-2; Q15063-4; Q15063-6; Q15063-7	Q15063; Q15063-5; B1ALD9; Q15063- 3; Q15063-2; Q15063-4; Q15063-6; Q15063-7	Periostin	POSTN
P62937; C9J5S7; F8WE65; P62937-2	P62937; C9J5S7; F8WE65; P62937-2	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A; Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	PPIA
Q06830; A0A0A0MSI0; A0A0A0MRQ5; Q13162; H7C3T4	Q06830; A0A0A0MSI0; A0A0A0MRQ5	Peroxiredoxin-1	PRDX1
P32119; A6NIW5; P32119-2	P32119; A6NIW5	Peroxiredoxin-2	PRDX2
P30041	P30041	Peroxiredoxin-6	PRDX6

A6XMV9; E7EQ64; A0A0J9YYC8; P07477; P07477; P07478; Q8NHM4; A6XMV8; H0Y8D1	A6XMV9; E7EQ64; A0A0J9YYC8; P07477; P07477; P07478; Q8NHM4; A6XMV8; H0Y8D1	Trypsin-1; Alpha-trypsin chain 1; Alpha-trypsin chain 2; Trypsin-2; Putative trypsin-6	PRSS1; PRSS2; TRY6
P35030; P35030-4; P35030-2; P35030-3; P35030-5; B1AN99	P35030; P35030-4; P35030-2; P35030-3; P35030-5; B1AN99	Trypsin-3	PRSS3
Q8NF86; I3L3D7	Q8NF86; I3L3D7	Serine protease 33	PRSS33
P06454; P06454-2; B8ZZQ6	P06454; P06454-2; B8ZZQ6	Prothymosin alpha; Thymosin alpha- 1	РТМА
P26022	P26022	Pentraxin-related protein PTX3	РТХ3
Q86YS3; Q86YS3-2; K7EL58	Q86YS3; Q86YS3-2; K7EL58	Rab11 family-interacting protein 4	RAB11FIP4
J3QQ67; Q07020; H0YHA7; G3V203; Q07020-2; F8VUA6; A0A075B7A0; F8VYV2	J3QQ67; Q07020; H0YHA7; G3V203; Q07020-2; F8VUA6; A0A075B7A0; F8VYV2	60S ribosomal protein L18	RPL18
P18124; A8MUD9	P18124; A8MUD9	60S ribosomal protein L7	RPL7
P04843; B7Z4L4	P04843; B7Z4L4	Dolichyl-diphosphooligosaccharide protein glycosyltransferase subunit 1	RPN1
P62280; M0QZC5; M0R1H5	P62280; M0QZC5; M0R1H5	40S ribosomal protein S11	RPS11
P62269; Q5GGW2; A0A0G2JQH2	P62269; Q5GGW2; A0A0G2JQH2	40S ribosomal protein S18	RPS18
P62857	P62857	40S ribosomal protein S28	RPS28
P23396-2; P23396; E9PL09; H0YEU2; E9PPU1; H0YCJ7; E9PK82; H0YF32; F2Z2S8; E9PJH4; E9PQ96	P23396-2; P23396; E9PL09; H0YEU2; E9PPU1; H0YCJ7; E9PK82; H0YF32; F2Z2S8; E9PJH4; E9PQ96	40S ribosomal protein S3	RPS3
Q9HCY8	Q9HCY8	Protein S100-A14	S100A14
Q5RHS7	Q5RHS7	Protein S100-A2	S100A2

P06703; R4GN98	P06703; R4GN98	Protein S100-A6	S100A6
P31151; Q86SG5	P31151; Q86SG5	Protein S100-A7; Protein S100-A7A	S100A7; S100A7A
P05109	P05109	Protein S100-A8	S100A8
P06702	P06702	Protein S100-A9	S100A9
Q13228-4; Q13228; F8WCR4; F2Z2W8; Q13228-3; Q13228-2; H0Y532; A6PVX1; C9JVL0	Q13228-4; Q13228; F8WCR4; F2Z2W8; Q13228-3; Q13228-2; H0Y532; A6PVX1; C9JVL0	Selenium-binding protein 1	SELENBP1
P04279; P04279-2	P04279; P04279-2	Semenogelin-1; Alpha-inhibin-92; Alpha-inhibin-31; Seminal basic protein	SEMG1
Q02383	Q02383	Semenogelin-2	SEMG2
A0A024R6I7; P01009; A0A0G2JRN3; P01009-2; P01009-3; G3V544; A0A0B4J278; G3V387; G3V5R8	A0A024R6I7; P01009; A0A0G2JRN3; P01009-2	Alpha-1-antitrypsin; Short peptide from AAT	SERPINA1
P01011; G3V3A0	P01011; G3V3A0	Alpha-1-antichymotrypsin; Alpha-1- antichymotrypsin His-Pro-less	SERPINA3
Q96P63-2; Q96P63	Q96P63-2; Q96P63	Serpin B12	SERPINB12
P29508; P29508-2; P48594; H0Y5H9; C9JZ65	P29508; P29508-2; P48594; H0Y5H9; C9JZ65	Serpin B3; Serpin B4	SERPINB3; SERPINB4
P31947; P31947-2	P31947; P31947-2	14-3-3 protein sigma	SFN
P02730; P02730-2; A0A0A0MS98	P02730; P02730-2; A0A0A0MS98	Band 3 anion transport protein	SLC4A1
P37840; P37840-3; E7EPV7; P37840-2; H6UYS7	P37840; P37840-3; E7EPV7; P37840-2; H6UYS7	Alpha-synuclein	SNCA
P04179; P04179-4; P04179-3; F5GYZ5; F5H4R2; P04179-2; F5H3C5	P04179; P04179-4; P04179-3; F5GYZ5; F5H4R2; P04179-2; F5H3C5	Superoxide dismutase [Mn], mitochondrial	SOD2
P08294; M0R1V4	P08294	Extracellular superoxide dismutase [Cu-Zn]	SOD3

P22532; P35325; P22531; P35326; Q9BYE4; Q96RM1	P22532; P35325; P22531; P35326; Q9BYE4	Small proline-rich protein 2D; Small proline-rich protein 2B; Small proline-rich protein 2E; Small proline-rich protein 2A; Small proline-rich protein 2G	SPRR2D; SPRR2B; SPRR2E; SPRR2A; SPRR2G
P02549; P02549-2	P02549; P02549-2	Spectrin alpha chain, erythrocyte	SPTA1
P11277-2; P11277; P11277-3; H0YJE6	P11277-2; P11277; P11277-3; H0YJE6	Spectrin beta chain, erythrocyte	SPTB
P51571; A6NLM8	P51571; A6NLM8	Translocon-associated protein subunit delta	SSR4
P27105; F8VSL7; P27105-2	P27105; F8VSL7	Erythrocyte band 7 integral membrane protein	STOM
Q15431; A0A087WZC3; Q5VXJ5	Q15431; A0A087WZC3; Q5VXJ5	Synaptonemal complex protein 1	SYCP1
O15061; A0A075B7B1; O15061-2; H0YL34; C9JIE4; O15061-3	O15061; A0A075B7B1; O15061-2; H0YL34; C9JIE4; O15061-3	Synemin	SYNM
Q8IYF3; Q8IYF3-3; Q8IYF3-2	Q8IYF3; Q8IYF3-3; Q8IYF3-2	Testis-expressed sequence 11 protein	TEX11
P02787; H7C5E8	P02787; H7C5E8	Serotransferrin	TF
Q9GZM7; Q9GZM7-3; F6SDV2	Q9GZM7; Q9GZM7-3; F6SDV2	Tubulointerstitial nephritis antigen- like	TINAGL1
P60174; P60174-1; P60174-4; U3KPZ0; U3KQF3	P60174; P60174-1; P60174-4; U3KPZ0; U3KQF3	Triosephosphate isomerase	TPI1
Q6ZN40; A0A0S2Z4G6; P09493; P09493-10; P09493- 3; P09493-4; P09493-9; H0YKP3; Q5TCU8; A7XZE4; Q3SX28; P07951; P07951-2; Q5TCU3; P09493-6; P09493-7; P09493-8; H0YKX5; A0A087WTJ7; H0YKZ6; H0YLS7	Q6ZN40; A0A0S2Z4G6; P09493; P09493-10; P09493-3; P09493-4; P09493-9; H0YKP3; Q5TCU8; A7XZE4; Q3SX28; P07951; P07951-2; Q5TCU3; P09493-6; P09493-7; P09493- 8; H0YKX5; A0A087WTJ7; H0YKZ6; H0YLS7	Tropomyosin alpha-1 chain; Tropomyosin beta chain	TPM1; TPM2; TPM2b

A0A075B6Z2	A0A075B6Z2	T cell receptor alpha joining 56 TRAJ56	
A0A087WT59; P02766; A0A087WV45	A0A087WT59; P02766; A0A087WV45	Transthyretin	TTR
ENSEMBL:ENSBTAP00000016242; P68363; P68363- 2; F5H5D3; Q9BQE3; F8VVB9; Q71U36; P68366; P68366-2; Q71U36-2; A0A1W2PQM2; P0DPH7; P0DPH8; Q6PEY2; P0DPH7-2; F8VQQ4; C9JDS9; F8VS66; F8VRZ4; F8VWV9; F8VX09; F8VRK0; C9J2C0; Q9NY65; Q9NY65-2; Q9H853; F8W0F6; F8VXZ7	ENSEMBL:ENSBTAP00000016242; P68363; P68363-2; F5H5D3; Q9BQE3; F8VVB9; Q71U36; P68366; P68366-2; Q71U36-2; A0A1W2PQM2	Tubulin alpha-1B chain; Tubulin alpha-1C chain; Tubulin alpha-1A chain; Tubulin alpha-4A chain	TUBA1B; TUBA1C; TUBA1A; TUBA4A
P07437; Q5JP53; Q13885; Q9BVA1; A0A0B4J269; Q13509; P68371; Q5ST81; Q13509-2; G3V2A3; ENSEMBL:ENSBTAP00000025008; Q9H4B7; Q9BUF5; A6NNZ2; P04350; Q3ZCM7; Q5SQY0; A0A075B736; K7ESM5; G3V2N6; G3V3R4; G3V2R8; G3V5W4	P07437; Q5JP53; Q13885; Q9BVA1; A0A0B4J269; Q13509; P68371; Q5ST81; Q13509-2	Tubulin beta chain; Tubulin beta-2A chain; Tubulin beta-2B chain; Tubulin beta-3 chain; Tubulin beta- 4B chain	TUBB; TUBB2A; TUBB2B; TUBB3; TUBB4B
P49411	P49411	Elongation factor Tu, mitochondrial	TUFM
P10599; P10599-2	P10599; P10599-2	Thioredoxin	TXN
P22314; P22314-2; Q5JRR6	P22314; P22314-2; Q5JRR6	Ubiquitin-like modifier-activating enzyme 1	UBA1
P0CG48; Q96C32; P0CG47; Q5PY61; J3QKN0; F5GXK7; F5H747; P62979; F5H388; B4DV12; F5H265; F5H2Z3; F5GYU3; P62987; F5H6Q2; J3QTR3; J3QS39; A0A2R8Y422; M0R2S1; M0R1M6; Q49A90; M0R1V7; F5GZ39; J3QSA3	P0CG48; Q96C32; P0CG47; Q5PY61; J3QKN0; F5GXK7; F5H747; P62979; F5H388; B4DV12; F5H265; F5H2Z3; F5GYU3; P62987; F5H6Q2; J3QTR3; J3QS39; A0A2R8Y422; M0R2S1; M0R1M6; Q49A90; M0R1V7	Polyubiquitin-C; Ubiquitin; Polyubiquitin-B; Ubiquitin; Ubiquitin-40S ribosomal protein S27a; Ubiquitin; 40S ribosomal protein S27a; Ubiquitin-60S ribosomal protein L40; Ubiquitin; 60S ribosomal protein L40	UBC; UBB; RPS27A; UBA52
Q5TAP6	Q5TAP6	U3 small nucleolar RNA-associated protein 14 homolog C	UTP14C

P55072; C9IZA5; C9JUP7	P55072; C9IZA5; C9JUP7	Transitional endoplasmic reticulum ATPase	VCP
P08670; B0YJC4; B0YJC5; A0A1B0GTT5; P17661; A0A1B0GVG8; P07197; E7ESP9; E7EMV2; P07196; P07197-2; Q16352; P41219-2; P41219; H7C5W5	P08670; B0YJC4	Vimentin	VIM
P04004; Q3ZBS7	P04004	Vitronectin; Vitronectin V65 subunit; Vitronectin V10 subunit; Somatomedin-B	VTN
Q14508; Q14508-3; Q14508-2	Q14508; Q14508-3; Q14508-2	WAP four-disulfide core domain protein 2	WFDC2
Q5T750	Q5T750	Skin-specific protein 32	XP32/C1orf68
P31946; P31946-2; A0A0J9YWE8; Q4VY19; Q4VY20	P31946; P31946-2	14-3-3 protein beta/alpha; 14-3-3 protein beta/alpha, N-terminally processed	YWHAB
P27348; E9PG15	P27348; E9PG15	14-3-3 protein theta	YWHAQ
E7EX29; P63104; Q04917; P63104-2; B0AZS6; E7ESK7; H0YB80; B7Z2E6; E7EVZ2; E9PD24; E5RIR4; E5RGE1	E7EX29; P63104; Q04917; P63104-2; B0AZS6; E7ESK7; H0YB80; B7Z2E6; E7EVZ2; E9PD24; E5RIR4; E5RGE1	14-3-3 protein zeta/delta; 14-3-3 protein eta	YWHAZ; YWHAH
Q96DA0; A0A0C4DGN4; I3L3X0; I3L1H9	Q96DA0; A0A0C4DGN4	Zymogen granule protein 16 homolog B	ZG16B
Q9UGI0	Q9UGI0	Ubiquitin thioesterase ZRANB1	ZRANB1

Apêndice 4 - Proteínas exclusivas identificadas e quantificadas nos grupos estudados

Código Uniprot da proteína	Nome da proteína	Gene da proteína	Grupo
P31946; P31946-2	14-3-3 protein beta/alpha;14-3-3 protein beta/alpha, N- terminally processed	YWHAB	AP
Q92665	28S ribosomal protein S31, mitochondrial	MRPS31	AP
P62280; M0QZC5; M0R1H5	40S ribosomal protein S11	RPS11	AP
P49189-3; P49189; P49189-2	4-trimethylaminobutyraldehyde dehydrogenase	ALDH9A1	AP
J3QQ67; Q07020; H0YHA7; G3V203; Q07020- 2; F8VUA6; A0A075B7A0; F8VYV2	60S ribosomal protein L18	RPL18	AP
P18124; A8MUD9	60S ribosomal protein L7	RPL7	AP
H0YMF1; P16112; P16112-2; A0A087X1T7; P16112-3; Q6PID9; H0YK70	Aggrecan core protein; Aggrecan core protein 2	ACAN	AP
P01011; G3V3A0	Alpha-1-antichymotrypsin; Alpha-1-antichymotrypsin His-Pro-less	SERPINA3	AP
Q9NZD4	Alpha-hemoglobin-stabilizing protein	AHSP	AP
P37840; P37840-3; E7EPV7; P37840-2; H6UYS7	Alpha-synuclein	SNCA	AP
P08133; P08133-2; E5RK69; E7EMC6; E5RFF0; H0YC77	Annexin A6; Annexin	ANXA6	AP
P00505; P00505-2	Aspartate aminotransferase, mitochondrial	GOT2	AP
P00918	Carbonic anhydrase 2	CA2	AP
P12110; P12110-2; P12110-3; H7C0M5	Collagen alpha-2(VI) chain	COL6A2	AP

P12111; P12111-2; P12111-4; E7ENL6	Collagen alpha-3(VI) chain	COL6A3	AP
P21291; E9PP21	Cysteine and glycine-rich protein 1	CSRP1	AP
P04843; B7Z4L4	Dolichyl-diphosphooligosaccharideprotein glycosyltransferase subunit 1	RPN1	AP
I3L504; P63241-2; P63241; Q6IS14; Q9GZV4; I3L397; C9J4W5; C9J7B5; F8WCJ1	Eukaryotic translation initiation factor 5A-1; Eukaryotic translation initiation factor 5A-1-like; Eukaryotic translation initiation factor 5A-2	EIF5A; EIF5AL1; EIF5A2	AP
P07305; P07305-2	Histone H1.0	H1F0	AP
P10915; D6RBS1; D6RG04; D6RFI7; D6RBX9; D6RAK7; D6RC59	Hyaluronan and proteoglycan link protein 1	HAPLN1	AP
A0A1B0GUU9; P01871-2; P01871	Ig mu chain C region	IGHM	AP
P32455	Interferon-induced guanylate-binding protein 1	GBP1	AP
P51884; Q05443	Lumican	LUM	AP
P14174	Macrophage migration inhibitory factor	MIF	AP
Q5VYJ5; U5GXS0	MAM and LDL-receptor class A domain-containing protein C10orf112	C10orf112	AP
H0YI09; Q9H8H3; F8VQX6	Methyltransferase-like protein 7A	METTL7A	AP
Q14697-2; Q14697; F5H6X6	Neutral alpha-glucosidase AB	GANAB	AP
P26022	Pentraxin-related protein PTX3	РТХ3	AP
Q15149; Q15149-2; Q15149-3; Q15149-6; Q15149-4; Q15149-5; Q15149-9; Q15149-8; Q15149-7	Plectin	PLEC	AP
P00491; G3V5M2; G3V393	Purine nucleoside phosphorylase	PNP	AP

Q32MK0; Q32MK0-4	Putative myosin light chain kinase 3	MYLK3	AP
Q8NF86; I3L3D7	Serine protease 33	PRSS33	AP
P11277-2; P11277; P11277-3; H0YJE6	Spectrin beta chain, erythrocyte	SPTB	AP
Q13838-2; Q13838; O00148; Q5STU3; A0A0G2JJZ9; A0A140T9X3; H0Y400	Spliceosome RNA helicase DDX39B; ATP-dependent RNA helicase DDX39A	DDX39B; DDX39A; BAT1	AP
P04179; P04179-4; P04179-3; F5GYZ5; F5H4R2; P04179-2; F5H3C5	Superoxide dismutase [Mn], mitochondrial	SOD2	AP
P55072; C9IZA5; C9JUP7	Transitional endoplasmic reticulum ATPase	VCP	AP
P51571; A6NLM8	Translocon-associated protein subunit delta	SSR4	AP
A0A087WT59; P02766; A0A087WV45	Transthyretin	TTR	AP
ENSEMBL:ENSBTAP00000016242; P68363; P68363-2; F5H5D3; Q9BQE3; F8VVB9; Q71U36; P68366; P68366-2; Q71U36-2; A0A1W2PQM2	Tubulin alpha-1B chain;Tubulin alpha-1C chain;Tubulin alpha-1A chain;Tubulin alpha-4A chain	UBA1	AP
P55196-5; J3KN01; P55196; P55196-1; A8MQ02; P55196-3; Q5TIG5; P55196-6; P55196-2; H0Y8L4; H0Y9I0	Afadin	AFDN	APR
A0A0B4J1V1; A0A0B4J1X5; A0A0J9YVY3; P01762; P01763; P01772; P01780; P0DP02; A0A0C4DH42; P01767	Ig heavy chain V-III region TRO; Ig heavy chain V-III region WEA; Ig heavy chain V-III region KOL; Ig heavy chain V-III region JON; Ig heavy chain V-III region BUT		
		IGHV3-21	APR
P07476	Involucrin	IVL	APR
P18669	Phosphoglycerate mutase 1	PGAM1	APR

P10809; E7ESH4; E7EXB4; C9JL25; P10809-2; C9JCQ4; C9JL19	60 kDa heat shock protein, mitochondrial	HSPD1	CXAP
P61158; Q9P1U1; B4DXW1; Q9P1U1-3; Q9P1U1-2; C9IZN3; Q9C0K3; H7C4J1; A0A0A0MTI9	Actin-related protein 3; Actin-related protein 3B; Actin- related protein 3C	ACTR3; ACTR3B; ACTR3C	CXAP
Q8N3K9	Cardiomyopathy-associated protein 5	CMYA5	CXAP
P12277	Creatine kinase B-type	СКВ	CXAP
P49411	Elongation factor Tu, mitochondrial	TUFM	CXAP
P61978-2; P61978; P61978-3; Q5T6W2	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K	HNRNPK	CXAP
P08514; P08514-2; A0A3B3IU79; P08514-3; K7EP83	Integrin alpha-IIb; Integrin alpha-IIb heavy chain; Integrin alpha-IIb light chain, form 1; Integrin alpha-IIb light chain, form 2	ITGA2B	СХАР
Q6ISB0; Q9NSB2; Q9NSB2	Keratin, type II cuticular Hb4	KRT84	CXAP
Q13751	Laminin subunit beta-3	LAMB3	CXAP
Q5T751; Q5T753; Q5T754; Q5TCM9; Q5T752; Q5T7P2	Late cornified envelope protein 1C; Late cornified envelope protein 1E; Late cornified envelope protein 1F; Late cornified envelope protein 5A; Late cornified envelope protein 1D; Late cornified envelope protein 1A	LCE1C; LCE1E; LCE1F; LCE5A; LCE1D; LCE1A	СХАР
Q5RHS7	Protein S100-A2	S100A2	CXAP
P00352	Retinal dehydrogenase 1	ALDH1A1	CXAP
Q93084-5; Q93084-6; Q93084; P16615; Q93084- 7; Q93084-3; P16615-4; O14983; P16615-3;	Sarcoplasmic/endoplasmic reticulum calcium ATPase 3; Sarcoplasmic/endoplasmic reticulum calcium ATPase 2; Sarcoplasmic/endoplasmic reticulum calcium ATPase 1	ATP2A3; ATP2A2; ATP2A1	СХАР

Q93084-2; Q93084-4; P16615-2; P16615-5; O14983-2; H7C5W9; O14983-3

Q02383	Semenogelin-2	SEMG2	CXAP
A0A075B6Z2	T cell receptor alpha joining 56	TRAJ56	CXAP
Q99832; Q99832-3; Q99832-4; Q99832-2	T-complex protein 1 subunit eta	CCT7	CXAP
Q5TAP6	U3 small nucleolar RNA-associated protein 14 homolog C	UTP14C	CXAP

Apêndice 5 - Processos biológicos envolvidos com as proteínas exclusivas do grupo AP

Termo ID	Processo biológico	Nº de proteínas exclusivas	Nº total de proteínas envolvidas	TFD	Proteínas envolvidas	Grupo
GO:1901566	Processo biossintético de compostos organonitrogênio	13	1370	0.0017	ACAN, ALDH9A1, EIF5A, GOT2, LUM, MRPS31, PNP, RPL18, RPL7, RPN1, RPS11, SNCA, VCP	AP
GO:0002274	Ativação de leucócitos mielóides	8	574	0.0106	GIG25, METTL7A, MIF, PNP, PTX3, SNCA, TTR, VCP	AP
GO:0030198	Organização da matriz extracelular	6	296	0.0128	ACAN, COL6A2, COL6A3, HAPLN1, LUM, TTR	AP
GO:0034655	Processo catabólico composto contendo nucleobase	6	394	0.0160	H1F0, PNP, RPL18, RPL7, RPS11, VCP	AP
GO:0043312	Degranulação de neutrófilos	7	485	0.0160	GIG25, METTL7A, MIF, PNP, PTX3, TTR, VCP	AP
GO:0051259	Oligomerização de complexos proteicos	7	512	0.0160	ANXA6, COL6A2, GBP1, MIF, SOD2, VCP, YWHAB	AP
GO:0046903	Secreção	9	1070	0.0187	CA2, GIG25, GOT2, METTL7A, MIF, PNP, PTX3, TTR, VCP	AP
GO:1901564	Processo metabólico do composto organonitrogênio	21	5281	0.0187	ACAN, AHSP, ALDH9A1, EIF5A, GANAB, GOT2, LUM, MRPS31, MYLK3, PNP, PRSS33, RPL18, RPL7, RPN1, RPS11, SNCA, SPTB, TTR, UBA1, VCP, YWHAB	AP
GO:0006810	Transporte	18	4130	0.0201	ANXA6, CA2, DDX39B, EIF5A, GIG25, GOT2, METTL7A, MIF, PNP, PTX3, RPL18, RPL7, RPS11, SNCA, SPTB, TTR, VCP, YWHAB	AP

GO:0002252	Processo efetor imunológico	8	927	0.0218	GBP1, GIG25, METTL7A, MIF, PNP, PTX3, TTR, VCP	AP
GO:0042340	Processo catabólico de sulfato de queratan	2	12	0.0218	ACAN, LUM	AP
GO:0051260	Homooligomerização de proteínas	5	312	0.0218	ANXA6, GBP1, MIF, SOD2, VCP	AP
GO:0043933	Organização de subunidades complexas contendo proteínas	11	1770	0.0223	ANXA6, COL6A2, DDX39B, GBP1, H1F0, LUM, MIF, MRPS31, SOD2, VCP, YWHAB	AP
GO:0009057	Processo catabólico de macromoléculas	8	970	0.0248	ACAN, H1F0, LUM, RPL18, RPL7, RPS11, UBA1, VCP	AP
GO:0065008	Regulação da qualidade biológica	16	3559	0.0273	AHSP, ALDH9A1, ANXA6, CA2, GIG25, GOT2, MALRD1, MIF, MYLK3, PTX3, SNCA, SOD2, SPTB, TTR, VCP, YWHAB	AP
GO:0002082	Regulação da fosforilação oxidativa	2	17	0.0299	SNCA, VCP	AP
GO:0006412	Tradução	5	362	0.0312	EIF5A, MRPS31, RPL18, RPL7, RPS11	AP
GO:0051149	Regulação positiva da diferenciação de células musculares	3	85	0.0312	DDX39B, MYLK3, SOD2	AP
GO:0006614	Proteína cotranslacional dependente de SRP direcionada para a membrana	3	92	0.0337	RPL18, RPL7, RPS11	AP
GO:0044070	Regulação do transporte de ânions	3	91	0.0337	CA2, MIF, SNCA	AP
GO:0071840	Organização de componentes celulares ou biogênese	20	5342	0.0337	ACAN, ANXA6, COL6A2, COL6A3, DDX39B, GBP1, H1F0, HAPLN1, LUM, MIF, MRPS31, MYLK3, PLEC, RPL7, SNCA, SOD2, SPTB, TTR, VCP, YWHAB	AP
GO:1901575	Processo catabólico de substância orgânica	10	1609	0.0337	ACAN, GOT2, H1F0, LUM, PNP, RPL18, RPL7, RPS11, UBA1, VCP	AP

GO:0044248	Processo catabólico celular	10	1646	0.0356	ACAN, GOT2, H1F0, LUM, PNP, RPL18, RPL7, RPS11, UBA1, VCP	AP
GO:0006886	Transporte intracelular de proteínas	7	836	0.0376	DDX39B, EIF5A, RPL18, RPL7, RPS11, VCP, YWHAB	AP
GO:0043457	Regulação da respiração celular	2	23	0.0377	SNCA, VCP	AP
GO:0019538	Processo metabólico de proteínas	17	4194	0.0382	ACAN, AHSP, EIF5A, GANAB, MRPS31, MYLK3, PRSS33, RPL18, RPL7, RPN1, RPS11, SNCA, SPTB, TTR, UBA1, VCP, YWHAB	AP
GO:0046907	Transporte intracelular	9	1390	0.0382	DDX39B, EIF5A, RPL18, RPL7, RPS11, SNCA, SPTB, VCP, YWHAB	AP
GO:0071702	Transporte de substâncias orgânicas	11	2040	0.0423	CA2, DDX39B, EIF5A, GOT2, PNP, RPL18, RPL7, RPS11, SNCA, VCP, YWHAB	AP

ID: identificação, Nº: Número, TFD: Taxa de falsa descoberta

Termo ID	Processo biológico	Nº de proteínas exclusivas	Nº total de proteínas envolvidas	TFD	Proteínas envolvidas	Grupo
GO:0018149	Reticulação de peptídeos	5	59	2.79e-07	FLG, IVL, LOR, SPRR1A, SPRR3	APR
GO:0030855	Diferenciação celular epitelial	8	649	5.93e-07	F11R, FLG, IVL, LOR, AFDN, PGK1, SPRR1A, SPRR3	APR
GO:0006735	Regeneração de NADH	4	25	6.36e-07	ENO1, ENO3, PGAM1, PGK1	APR
GO:0061621	Glicólise canônica	4	25	6.36e-07	ENO1, ENO3, PGAM1, PGK1	APR
GO:0061718	Processo catabólico de glicose para piruvato	4	25	6.36e-07	ENO1, ENO3, PGAM1, PGK1	APR
GO:0070268	Cornificação	5	112	6.57e-07	FLG, IVL, LOR, SPRR1A, SPRR3	APR
GO:0006757	Geração de ATP a partir do ADP	4	39	8.22e-07	ENO1, ENO3, PGAM1, PGK1	APR
GO:0042866	Processo biossintético de piruvato	4	42	1.00e-06	ENO1, ENO3, PGAM1, PGK1	APR
GO:0006094	Gliconeogênese	4	46	1.22e-06	ENO1, ENO3, PGAM1, PGK1	APR
GO:0009435	Processo biossintético NAD	4	51	1.51e-06	ENO1, ENO3, PGAM1, PGK1	APR
GO:0006090	Processo metabólico de piruvato	4	66	2.61e-06	ENO1, ENO3, PGAM1, PGK1	APR
GO:0009888	Desenvolvimento de tecidos	9	1626	2.61e-06	ENO3, F11R, FLG, IVL, LOR, AFDN, PGK1, SPRR1A, SPRR3	APR
GO:0006754	Processo biossintético de ATP	4	75	3.59e-06	ENO1, ENO3, PGAM1, PGK1	APR

Apêndice 6 - Processos biológicos envolvidos com as proteínas exclusivas do grupo APR e CXAP após adição de proteínas intermediárias

GO:0009168	Processo biossintético de monofosfato de ribonucleosídeo de purina	4	98	8.52e-06	ENO1, ENO3, PGAM1, PGK1	APR
GO:0009166	Processo catabólico de nucleotídeos	4	101	9.11e-06	ENO1, ENO3, PGAM1, PGK1	APR
GO:0006006	Processo metabólico de glicose	4	113	1.18e-05	ENO1, ENO3, PGAM1, PGK1	APR
GO:0048869	Processo de desenvolvimento celular	10	3533	6.97e-05	F11R, FLG, HRAS, IVL, LOR, AFDN, PGK1, PVRL3, SPRR1A, SPRR3	APR
GO:0009167	Processo metabólico de monofosfato de ribonucleosídeo purina	4	230	0.00012	ENO1, ENO3, PGAM1, PGK1	APR
GO:0048856	Desenvolvimento da estrutura anatômica	11	5085	0.00015	ENO3, F11R, FLG, HRAS, IVL, LOR, AFDN, PGK1, PVRL3, SPRR1A, SPRR3	APR
GO:0090557	Estabelecimento de barreira intestinal endotelial	2	10	0.00023	F11R, AFDN	APR
GO:0012501	Morte celular programada	6	1042	0.00025	FLG, HRAS, IVL, LOR, SPRR1A, SPRR3	APR
GO:0030154	Diferenciação celular	9	3457	0.00047	F11R, FLG, IVL, LOR, AFDN, PGK1, PVRL3, SPRR1A, SPRR3	APR
GO:0045216	Organização de junção célula-célula	3	168	0.0012	F11R, AFDN, PVRL3	APR
GO:1901564	Processo metabólico do composto organonitrogênio	10	5281	0.0017	ENO1, ENO3, FLG, HRAS, IVL, LOR, PGAM1, PGK1, SPRR1A, SPRR3	APR
GO:2000249	Regulação da reorganização do citoesqueleto de actina	2	35	0.0017	F11R, HRAS	APR
GO:0034260	Regulação negativa da atividade da gtpase	2	46	0.0027	F11R, HRAS	APR
GO:2001169	Regulação do processo biossintético de ATP	2	47	0.0028	ENO1, PGAM1	APR
GO:1903578	Regulação do processo metabólico de ATP	2	62	0.0046	ENO1, PGAM1	APR
GO:0016310	Fosforilação	5	1236	0.0049	ENO1, ENO3, HRAS, PGAM1, PGK1	APR
------------	--	---	------	----------	---	------
GO:0034332	Organização junção adherens	2	74	0.0063	AFDN, PVRL3	APR
GO:0048513	Desenvolvimento de órgãos animais	7	2926	0.0069	FLG, HRAS, IVL, LOR, PVRL3, SPRR1A, SPRR3	APR
GO:0043547	Regulação positiva da atividade da gtpase	3	406	0.0117	F11R, HRAS, AFDN	APR
GO:0009314	Resposta à radiação	3	425	0.0132	F11R, HRAS, IVL	APR
GO:0009628	Resposta ao estímulo abiótico	4	1052	0.0204	F11R, HRAS, IVL, PGK1	APR
GO:0006464	Processo de modificação de proteínas celulares	6	2999	0.0412	FLG, HRAS, IVL, LOR, SPRR1A, SPRR3	APR
GO:0019538	Processo metabólico de proteínas	7	4194	0.0493	FLG, HRAS, IVL, LOR, PGK1, SPRR1A, SPRR3	APR
GO:0034314	Nucleação de actina mediada por complexo Arp2 / 3	6	19	8.94e-11	ACTR3, ARPC1B, ARPC2, ARPC3, ARPC4, ARPC5	CXAP
GO:0038096	Via de sinalização do receptor Fc- gama envolvida na fagocitose	6	73	4.51e-08	ACTR3, ARPC1B, ARPC2, ARPC3, ARPC4, ARPC5	СХАР
GO:0048013	Via de sinalização do receptor de efrina	6	79	4.51e-08	ACTR3, ARPC1B, ARPC2, ARPC3, ARPC4, ARPC5	CXAP
GO:0002757	Transdução de sinal de ativação da resposta imune	7	332	1.90e-06	ACTR3, ARPC1B, ARPC2, ARPC3, ARPC4, ARPC5, HSPD1	СХАР
GO:0070358	Motilidade celular dependente da polimerização de actina	3	6	3.12e-06	ACTR3, ARPC2, ARPC3	CXAP
GO:0010638	Regulação positiva da organização das organelas	7	552	3.00e-05	ACTR3, ARPC1B, ARPC2, ARPC3, ARPC4, ARPC5, CCT7	СХАР

GO:0002684	Regulação positiva do processo do sistema imunológico	8	882	4.72e-05	ACTR3, ARPC1B, ARPC2, ARPC3, ARPC4, ARPC5, HSPD1, ITGA2B	СХАР
GO:0006897	Endocitose	6	510	0.00022	ACTR3, ARPC1B, ARPC2, ARPC3, ARPC4, ARPC5	CXAP
GO:0051130	Regulação positiva da organização dos componentes celulares	8	1128	0.00022	ACTR3, ARPC1B, ARPC2, ARPC3, ARPC4, ARPC5, CCT7, HNRNPK	CXAP
GO:0002252	Processo efetor imunológico	7	927	0.00057	ACTR3, ARPC1B, ARPC2, ARPC3, ARPC4, ARPC5, HSPD1	СХАР
GO:0007010	Organização do citoesqueleto	7	953	0.00066	ACTR3, ARPC1B, ARPC2, ARPC3, ARPC4, ARPC5, KRT84	СХАР
GO:0030041	Polimerização de filamentos de actina	2	26	0.0058	ARPC2, ARPC4	CXAP
GO:0065008	Regulação da qualidade biológica	11	3559	0.0059	ACTR3, ALDH1A1, ARPC1B, ARPC2, ARPC3, ARPC4, ARPC5, CCT7, CKB, HSPD1, ITGA2B	СХАР
GO:0006458	Dobragem de proteínas 'de novo'	2	39	0.0120	CCT7, HSPD1	CXAP
GO:0061024	Organização da membrana	5	729	0.0121	ACTR3, ARPC2, ARPC3, ARPC4, ARPC5	CXAP
GO:0016192	Transporte mediado por vesículas	7	1699	0.0189	ACTR3, ARPC1B, ARPC2, ARPC3, ARPC4, ARPC5, ITGA2B	СХАР
GO:0002376	Processo do sistema imunológico	8	2370	0.0273	ACTR3, ARPC1B, ARPC2, ARPC3, ARPC4, ARPC5, HSPD1, SEMG2	CXAP
GO:0061077	Dobragem de proteínas mediada por chaperona	2	63	0.0273	CCT7, HSPD1	CXAP
GO:0048870	Motilidade celular	5	914	0.0295	ACTR3, ARPC2, ARPC3, ARPC5, S100A2	CXAP

	Organização de componentes colulares			ACTR3, ARPC1B, ARPC2, ARPC3, ARPC4,		
GO:0071840	Organização de componentes celulares	12	5342	0.0440	ARPC5, HSPD1, ITGA2B, KRT84, LAMB3,	CXAP
	ou biogenese				SEMG2, UTP14C	

Termo ID	Processo biológico	№ de proteínas	Nº total de proteínas envolvidas	TFD	Proteínas envolvidas	Subgrupo
GO:0008544	Desenvolvimento epidérmico	7	403	1.17e-08	FABP5, S100A7, SPRR1B, SPRR2A, SPRR2D, SPRR2E, SPRR2F	AP x APR x CXAP
GO:0018149	Reticulação de peptídeos	5	59	1.17e-08	SPRR1B, SPRR2A, SPRR2D, SPRR2E, SPRR2F	AP x APR x CXAP
GO:0030216	Diferenciação de queratinócitos	6	267	5.54e-08	S100A7, SPRR1B, SPRR2A, SPRR2D, SPRR2E, SPRR2F	AP x APR x CXAP
GO:0070268	Cornificação	5	112	6.36e-08	SPRR1B, SPRR2A, SPRR2D, SPRR2E, SPRR2F	AP x APR x CXAP
GO:0032501	Processo organizacional multicelular	8	6507	0.0200	CST4, IgJ, S100A7, SPRR1B, SPRR2A, SPRR2D, SPRR2E, SPRR2F	AP x APR x CXAP
GO:0019730	Resposta humoral antimicrobiana	2	143	0.0318	IgJ, S100A7	AP x APR x CXAP
GO:0006782	Processo biossintético do protoporfirinogênio IX	5	8	1.21e-10	ALAD, ALAS1, ALAS2, HMBS, UROS	AP x APR
GO:0046501	Processo metabólico do protoporfirinogênio IX	5	10	1.41e-10	ALAD, ALAS1, ALAS2, HMBS, UROS	AP x APR

Apêndice 7 - Interações significativas após adição de proteínas intermediárias pela análise com *imputation*

GO:0042168	Processo metabólico heme	5	30	5.04e-09	ALAD, ALAS1, ALAS2, HMBS, UROS	AP x APR
GO:0051186	Processo metabólico do cofator	6	467	4.61e-05	AKT1, ALAD, ALAS1, ALAS2, HMBS, UROS	AP x APR
GO:0002366	Ativação de leucócitos envolvidos na resposta imune	6	616	0.00021	ALAD, CST3, CTSB, CTSD, CTSH, LGALS1	AP x APR
GO:0070541	Resposta ao íon platina	2	3	0.00036	ALAD, UROS	AP x APR
GO:0002376	Processo do sistema imunológico	9	2370	0.00045	AKT1, ALAD, ALAS2, CST3, CTSB, CTSD, CTSH, LGALS1, VIM	AP x APR
GO:0009719	Resposta ao estímulo endógeno	7	1353	0.0010	AKT1, ALAD, CDC5L, CST3, CTSB, CTSH, UROS	AP x APR
GO:0009725	Resposta ao hormônio	6	854	0.0010	AKT1, ALAD, CDC5L, CST3, CTSB, CTSH	AP x APR
GO:0010033	Resposta à substância orgânica	9	2815	0.0010	AKT1, ALAD, CDC5L, CST3, CTSB, CTSH, LGALS1, UROS, VIM	AP x APR
GO:0043312	Degranulação de neutrófilos	5	485	0.0010	ALAD, CST3, CTSB, CTSD, CTSH	AP x APR
GO:0070887	Resposta celular a estímulos químicos	9	2672	0.0010	AKT1, ALAD, CDC5L, CST3, CTSB, CTSH, LGALS1, UROS, VIM	AP x APR

GO:0001666	Resposta à hipóxia	4	288	0.0015	AKT1, ALAD, ALAS2, CST3	AP x APR
GO:0006955	Resposta imune	7	1560	0.0015	ALAD, CST3, CTSB, CTSD, CTSH, LGALS1, VIM	AP x APR
GO:0071310	Resposta celular à substância orgânica	8	2219	0.0015	AKT1, ALAD, CDC5L, CTSB, CTSH, LGALS1, UROS, VIM	AP x APR
GO:0097067	Resposta celular ao estímulo do hormônio tireoidiano	2	16	0.0021	CTSB, CTSH	AP x APR
GO:1901564	Processo metabólico do composto organonitrogênio	11	5281	0.0024	AKT1, ALAD, ALAS1, ALAS2, CST3, CTSB, CTSD, CTSH, HMBS, LGALS1, UROS	AP x APR
GO:0045109	Organização intermediária de filamentos	2	22	0.0035	DES, VIM	AP x APR
GO:1901566	Processo biossintético de compostos organonitrogênio	6	1370	0.0055	AKT1, ALAD, ALAS1, ALAS2, HMBS, UROS	AP x APR
GO:0046685	Resposta a substância contendo arsênico	2	30	0.0057	ALAD, UROS	AP x APR
GO:0001893	Desenvolvimento da placenta materna	2	31	0.0059	AKT1, CTSB	AP x APR
GO:0014070	Resposta ao composto cíclico orgânico	5	873	0.0060	AKT1, ALAD, CDC5L, CST3, LGALS1	AP x APR
GO:0007565	Gravidez feminina	3	180	0.0062	AKT1, CST3, CTSB	AP x APR
GO:1901700	Resposta ao composto contendo oxigênio	6	1427	0.0062	AKT1, ALAD, CDC5L, CST3, CTSH, LGALS1	AP x APR
GO:0010035	Resposta a substância inorgânica	4	491	0.0073	AKT1, ALAD, CST3, UROS	AP x APR

GO:0030574	Processo catabólico de colágeno	2	37	0.0075	CTSB, CTSD	AP x APR
GO:0030049	Deslizamento do filamento muscular	2	38	0.0078	DES, VIM	AP x APR
GO:0010712	Regulação do processo metabólico do colágeno	2	39	0.0079	CST3, VIM	AP x APR
GO:0048678	Resposta a lesão axonal	2	43	0.0087	CST3, LGALS1	AP x APR
GO:1990090	Resposta celular ao estímulo do fator de crescimento nervoso	2	44	0.0089	AKT1, CDC5L	AP x APR
GO:0031330	Regulação negativa do processo catabólico celular	3	234	0.0103	AKT1, ALAD, CST3	AP x APR
GO:0060429	Desenvolvimento epitélio	5	1055	0.0108	AKT1, CST3, CTSB, CTSH, VIM	AP x APR
GO:0031295	Costimulação de células T	2	52	0.0109	AKT1, LGALS1	AP x APR
GO:0032870	Resposta celular ao estímulo hormonal	4	585	0.0109	AKT1, CDC5L, CTSB, CTSH	AP x APR
GO:2000116	Regulação da atividade da endopeptidase do tipo cisteína	3	243	0.0109	AKT1, CST3, CTSH	AP x APR
GO:0032963	Processo metabólico de colágeno	2	54	0.0114	CTSB, CTSD	AP x APR
GO:0030163	Processo catabólico de proteínas	4	615	0.0119	AKT1, CTSB, CTSD, CTSH	AP x APR
GO:0046686	Resposta ao íon cádmio	2	56	0.0119	AKT1, ALAD	AP x APR

GO:0071495	Resposta celular a estímulos endógenos	5	1106	0.0119	AKT1, CDC5L, CTSB, CTSH, UROS	AP x APR
GO:0051129	Regulação negativa da organização dos componentes celulares	4	632	0.0128	AKT1, CST3, LGALS1, VIM	AP x APR
GO:0030855	Diferenciação celular epitelial	4	649	0.0136	AKT1, CST3, CTSB, VIM	AP x APR
GO:0006807	Processo metabólico composto de nitrogênio	12	8349	0.0175	AKT1, ALAD, ALAS1, ALAS2, CDC5L, CST3, CTSB, CTSD, CTSH, HMBS, LGALS1, UROS	AP x APR
GO:0046677	Resposta ao antibiótico	3	305	0.0175	ALAD, CST3, UROS	AP x APR
GO:0001101	Resposta a ácido químico	3	323	0.0202	AKT1, ALAD, CTSH	AP x APR
GO:0030162	Regulação da proteólise	4	742	0.0212	AKT1, ALAD, CST3, CTSH	AP x APR
GO:0031329	Regulação do processo catabólico celular	4	743	0.0212	AKT1, ALAD, CST3, VIM	AP x APR
GO:0070542	Resposta ao ácido graxo	2	82	0.0215	AKT1, ALAD	AP x APR
GO:0010038	Resposta ao íon metálico	3	339	0.0221	AKT1, ALAD, UROS	AP x APR
GO:0045861	Regulação negativa da proteólise	3	349	0.0235	AKT1, ALAD, CST3	AP x APR
GO:1901655	Resposta celular à cetona	2	90	0.0246	AKT1, CDC5L	AP x APR
GO:0021782	Desenvolvimento de células da glia	2	91	0.0248	AKT1, VIM	AP x APR
GO:0042176	Regulação do processo catabólico de proteínas	3	368	0.0264	AKT1, ALAD, CST3	AP x APR

GO:0044237	Processo metabólico celular	12	8797	0.0265	AKT1, ALAD, ALAS1, ALAS2, CDC5L, CST3, CTSB, CTSD, CTSH, HMBS, LGALS1, UROS	AP x APR
GO:0006979	Resposta ao estresse oxidativo	3	373	0.0267	AKT1, ALAD, CST3	AP x APR
GO:0048513	Desenvolvimento de órgãos animais	7	2926	0.0267	AKT1, ALAS2, CST3, CTSB, CTSH, LGALS1, VIM	AP x APR
GO:0033993	Resposta ao lipídio	4	825	0.0273	AKT1, ALAD, CST3, CTSH	AP x APR
GO:0097435	Organização das fibras supramoleculares	3	383	0.0280	CST3, DES, VIM	AP x APR
GO:0048608	Desenvolvimento da estrutura reprodutiva	3	405	0.0314	AKT1, CST3, CTSB	AP x APR
GO:0010243	Resposta ao composto organonitrogênio	4	876	0.0317	AKT1, ALAD, CDC5L, UROS	AP x APR
GO:2000117	Regulação negativa da atividade da endopeptidase do tipo cisteína	2	110	0.0317	AKT1, CST3	AP x APR
GO:0043488	Regulação da estabilidade do RNAm	2	113	0.0325	AKT1, VIM	AP x APR
GO:0043067	Regulação da morte celular programada Resposta celular ao	5	1516	0.0331	AKT1, CST3, CTSB, CTSH, LGALS1	AP x APR
GO:1901701	composto contendo oxigênio	4	896	0.0331	AKT1, CDC5L, CST3, LGALS1	AP x APR
GO:0071704	Processo metabólico de substância orgânica	12	9135	0.0336	AKT1, ALAD, ALAS1, ALAS2, CDC5L, CST3, CTSB, CTSD, CTSH, HMBS, LGALS1, UROS	AP x APR
GO:0006915	Processo apoptótico	4	915	0.0345	AKT1, CST3, CTSH, LGALS1	AP x APR

	Regulação negativa do					
GO:0042177	processo catabólico de proteínas	2	121	0.0351	ALAD, CST3	AP x APR
GO:0010975	Regulação do desenvolvimento da projeção de neurônios	3	443	0.0360	AKT1, LGALS1, VIM	AP x APR
GO:0034614	Resposta celular a espécies reativas de oxigênio	2	124	0.0360	AKT1, CST3	AP x APR
GO:0019538	Processo metabólico de proteínas	8	4194	0.0381	AKT1, ALAS2, CST3, CTSB, CTSD, CTSH, HMBS, LGALS1	AP x APR
GO:0031667	Resposta aos níveis de nutrientes	3	455	0.0381	AKT1, ALAD, CST3	AP x APR
GO:0050896	Resposta ao estímulo	11	7824	0.0381	AKT1, ALAD, ALAS2, CDC5L, CST3, CTSB, CTSD, CTSH, LGALS1, UROS, VIM	AP x APR
GO:0071345	Resposta celular ao estímulo de citocinas	4	953	0.0381	AKT1, ALAD, CDC5L, VIM	AP x APR
GO:0006950	Resposta ao estresse	7	3267	0.0392	AKT1, ALAD, ALAS2, CDC5L, CST3, LGALS1, VIM	AP x APR
GO:0010634	Regulação positiva da migração de células epiteliais	2	136	0.0393	AKT1, CTSH	AP x APR
GO:0010977	Regulação negativa do desenvolvimento da projeção de neurônios	2	136	0.0393	LGALS1, VIM	AP x APR
GO:0048878	Homeostase química	4	995	0.0400	AKT1, ALAS2, CTSH, LGALS1	AP x APR
GO:0071417	Resposta celular ao composto organonitrogênio	3	485	0.0405	AKT1, CDC5L, UROS	AP x APR
GO:0071407	Resposta celular ao composto cíclico orgânico	3	505	0.0442	AKT1, CDC5L, LGALS1	AP x APR

GO:0019882	Processamento e apresentação de antígenos	2	158	0.0466	CTSD, CTSH	AP x APR
GO:0030154	Diferenciação celular	7	3457	0.0473	AKT1, ALAS2, CDC5L, CST3, CTSB, LGALS1, VIM	AP x APR
GO:0071248	Resposta celular ao íon metálico	2	162	0.0482	AKT1, ALAD	AP x APR
GO:0009743	Resposta ao carboidrato	2	164	0.0483	CST3, LGALS1	AP x APR
GO:0050690	Regulação da resposta da defesa ao vírus por vírus	5	30	3.54e-08	AP1B1, AP1G1, AP1M1, AP1S1, AP1S2	APR x CXAP
GO:0019886	Processamento de antígenos e apresentação do antígeno peptídico exógeno via MHC classe II	5	96	4.19e-06	AP1B1, AP1G1, AP1M1, AP1S1, AP1S2	APR x CXAP
GO:0071702	Transporte de substâncias orgânicas	10	2040	4.62e-05	AP1B1, AP1G1, AP1M1, AP1S1, AP1S2, HBA1, HBB, LMNA, MYH9, SLC4A1	APR x CXAP
GO:0016192	Transporte mediado por vesículas	9	1699	0.00011	AP1B1, AP1G1, AP1M1, AP1S1, AP1S2, ECM1, HBA1, HBB, MYH9	APR x CXAP
GO:0016032	Processo viral	6	571	0.00022	AP1B1, AP1G1, AP1M1, AP1S1, AP1S2, KRT8	APR x CXAP
GO:0015701	Transporte de bicarbonato	3	44	0.00036	HBA1, HBB, SLC4A1	APR x CXAP
GO:0071705	Transporte composto de nitrogênio	8	1690	0.00087	AP1B1, AP1G1, AP1M1, AP1S1, AP1S2, HBB, LMNA, MYH9	APR x CXAP
GO:0006886	Transporte intracelular de proteínas	6	836	0.0013	AP1B1, AP1G1, AP1M1, AP1S1, AP1S2, LMNA	APR x CXAP

GO:0035646	Transporte de endossoma para melanossoma	2	10	0.0015	AP1G1, AP1M1	APR x CXAP
GO:0006810	Transporte	11	4130	0.0017	AP1B1, AP1G1, AP1M1, AP1S1, AP1S2, ECM1, HBA1, HBB, LMNA, MYH9, SLC4A1	APR x CXAP
GO:0015031	Transporte de proteínas	7	1391	0.0017	AP1B1, AP1G1, AP1M1, AP1S1, AP1S2, LMNA, MYH9	APR x CXAP
GO:0015671	Transporte de oxigênio	2	15	0.0018	HBA1, HBB	APR x CXAP
GO:0051179	Localização	12	5233	0.0018	AP1B1, AP1G1, AP1M1, AP1S1, AP1S2, ECM1, HBA1, HBB, LMNA, MYH9, S100A2, SLC4A1	APR x CXAP
GO:0042744	Processo catabólico de peróxido de hidrogênio	2	20	0.0028	HBA1, HBB	APR x CXAP
GO:0051649	Estabelecimento de localização na célula	7	1616	0.0029	AP1B1, AP1G1, AP1M1, AP1S1, AP1S2, LMNA, MYH9	APR x CXAP
GO:0032438	Organização melanossômica	2	26	0.0043	AP1G1, AP1M1	APR x CXAP
GO:0042743	Processo metabólico de peróxido de hidrogênio	2	31	0.0055	HBA1, HBB	APR x CXAP
GO:0051146	Diferenciação celular estriada	3	182	0.0070	KRT8, LMNA, MYH9	APR x CXAP
GO:0006898	Endocitose mediada por receptores	3	209	0.0087	AP1S1, HBA1, HBB	APR x CXAP
GO:0006897	Endocitose	4	510	0.0090	AP1S1, HBA1, HBB, MYH9	APR x CXAP
GO:0051704	Processo multi-organismo	7	2222	0.0134	AP1B1, AP1G1, AP1M1, AP1S1, AP1S2, KRT8, WFDC2	APR x CXAP

GO:0043542	Migração celular endotelial	2	61	0.0142	MYH9, S100A2	APR x CXAP
GO:0002376	Processo do sistema imunológico	7	2370	0.0183	AP1B1, AP1G1, AP1M1, AP1S1, AP1S2, HBB, MYH9	APR x CXAP
GO:0098869	Desintoxicação do oxidante celular	2	86	0.0245	HBA1, HBB	APR x CXAP
GO:0031032	Organização da estrutura da actomiosina	2	97	0.0284	KRT8, MYH9	APR x CXAP
GO:0072359	Desenvolvimento do sistema circulatório	4	807	0.0339	AP1B1, ECM1, LMNA, MYH9	APR x CXAP
GO:0042542	Resposta ao peróxido de hidrogênio	2	112	0.0358	HBA1, HBB	APR x CXAP
GO:0055002	Desenvolvimento de células musculares estriadas	2	121	0.0396	KRT8, LMNA	APR x CXAP
GO:0051291	Heterooligomerização de proteínas	2	126	0.0416	HBA1, HBB	APR x CXAP
GO:0016482	Transporte citosólico	2	132	0.0449	AP1G1, AP1S1	APR x CXAP
GO:0018149	Reticulação de peptídeos	6	59	7.39e-10	ANXA1, FLG, IVL, LCE1A, LCE1B, LCE1E	CXAP EP x CXAP MIO
GO:0008544	Desenvolvimento da epiderme	8	403	5.77e-09	ANXA1, FABP5, FLG, IVL, LAMA5, LCE1A, LCE1B, LCE1E	CXAP EP x CXAP MIO
GO:0009888	Desenvolvimento de tecidos	11	1626	5.77e-09	ANXA1, FABP5, FLG, IVL, LAMA5, LAMC1, LCE1A, LCE1B, LCE1E, LMNA, POF1B	CXAP EP x CXAP MIO

GO:0030855	Diferenciação celular epitelial	8	649	1.30e-07	ANXA1, FLG, IVL, LAMA5, LCE1A, LCE1B, LCE1E, POF1B	CXAP EP x CXAP MIO
GO:0043588	Desenvolvimento da pele	7	373	1.30e-07	ANXA1, FLG, IVL, LAMA5, LCE1A, LCE1B, LCE1E	CXAP EP x CXAP MIO
GO:0030216	Diferenciação de queratinócitos	6	267	7.68e-07	ANXA1, FLG, IVL, LCE1A, LCE1B, LCE1E	CXAP EP x CXAP MIO
GO:0048856	Desenvolvimento da estrutura anatômica	12	5085	8.20e-06	ANXA1, FABP5, FLG, IVL, LAMA5, LAMC1, LCE1A, LCE1B, LCE1E, LMNA, NID1, POF1B	CXAP EP x CXAP MIO
GO:0031424	Queratinização	5	225	1.22e-05	FLG, IVL, LCE1A, LCE1B, LCE1E	CXAP EP x CXAP MIO
GO:0030154	Diferenciação celular	10	3457	8.94e-05	ANXA1, FLG, IVL, LAMA5, LAMC1, LCE1A, LCE1B, LCE1E, LMNA, POF1B	CXAP EP x CXAP MIO
GO:0048513	Desenvolvimento de órgãos animais	9	2926	0.00030	ANXA1, FLG, IVL, LAMA5, LCE1A, LCE1B, LCE1E, LMNA, NID1	CXAP EP x CXAP MIO
GO:0031392	Regulação do processo biossintético da prostaglandina	2	7	0.00063	ANXA1, FABP5	CXAP EP x CXAP MIO
GO:0070268	Cornificação	3	112	0.0019	FLG, IVL, LCE1A	CXAP EP x CXAP MIO
GO:0034329	Montagem de junção celular	3	135	0.0031	LAMA5, LAMC1, POF1B	CXAP EP x CXAP MIO
GO:0031589	Adesão celular-substrato	3	162	0.0047	LAMA5, LAMC1, NID1	CXAP EP x CXAP MIO
GO:0034446	Espalhamento celular dependente de adesão do substrato	2	38	0.0093	LAMA5, LAMC1	CXAP EP x CXAP MIO

GO:0007044	Conjunto de junção célula- substrato	2	40	0.0098	LAMA5, LAMC1	CXAP EP x CXAP MIO
GO:0001655	Desenvolvimento do sistema urogenital	3	299	0.0207	ANXA1, LAMA5, NID1	CXAP EP x CXAP MIO
GO:0030198	Organização da matriz extracelular	3	296	0.0207	LAMA5, LAMC1, NID1	CXAP EP x CXAP MIO
GO:0006464	Processo de modificação de proteínas celulares	7	2999	0.0213	ANXA1, FLG, IVL, LAMC1, LCE1A, LCE1B, LCE1E	CXAP EP x CXAP MIO
GO:0019217	Regulação do processo metabólico de ácidos graxos	2	86	0.0308	ANXA1, FABP5	CXAP EP x CXAP MIO
GO:0007010	Organização do citoesqueleto	4	953	0.0477	ANXA1, LAMA5, LMNA, POF1B	CXAP EP x CXAP MIO

ID: identificação, Nº: Número, TFD: Taxa de falsa descoberta

Termo ID	Processo biológico	Nº de proteínas	Nº total de proteínas envolvidas	TFD	Proteínas envolvidas	Grupo
GO:0006735	Regeneração de NADH	5	25	2.70e-07	ALDOA, GAPDH, GPI, PGK1, TPI1	AP x APR x CXAP
GO:0006757	Geração de ATP a partir do ADP	5	39	2.70e-07	ALDOA, GAPDH, GPI, PGK1, TPI1	AP x APR x CXAP
GO:0034371	Remodelação de quilomícrons	4	8	2.70e-07	APOA1, APOA2, APOB, APOC3	AP x APR x CXAP
GO:0034378	Montagem quilomícron	4	10	2.70e-07	APOA1, APOA2, APOB, APOC3	AP x APR x CXAP
GO:0042866	Processo biossintético de piruvato	5	42	2.70e-07	ALDOA, GAPDH, GPI, PGK1, TPI1	AP x APR x CXAP
GO:0061621	Glicólise canônica	5	25	2.70e-07	ALDOA, GAPDH, GPI, PGK1, TPI1	AP x APR x CXAP
GO:0061718	Processo catabólico de glicose para piruvato	5	25	2.70e-07	ALDOA, GAPDH, GPI, PGK1, TPI1	AP x APR x CXAP
GO:0006094	Gliconeogênese	5	46	2.92e-07	ALDOA, GAPDH, GPI, PGK1, TPI1	AP x APR x CXAP
GO:0009435	Processo biossintético NAD	5	51	3.94e-07	ALDOA, GAPDH, GPI, PGK1, TPI1	AP x APR x CXAP

Apêndice 8 - Interações significativas após adição de proteínas intermediárias pela análise sem imputation

GO:0006090	Processo metabólico de piruvato	5	66	9.19e-07	ALDOA, GAPDH, GPI, PGK1, TPI1	AP x APR x CXAP
GO:0046434	Processo catabólico de organofosfato Regulação negativa da	6	152	1.04e-06	ALDOA, APOA2, GAPDH, GPI, PGK1, TPI1	AP x APR x CXAP
GO:0010903	remodelação de partículas de lipoproteínas de densidade muito baixa	3	3	1.21e-06	APOA1, APOA2, APOC3	AP x APR x CXAP
GO:0033344	Efluxo de colesterol	4	24	1.21e-06	APOA1, APOA2, APOB, APOC3	AP x APR x CXAP
GO:0006754	Processo biossintético de ATP	5	75	1.29e-06	ALDOA, GAPDH, GPI, PGK1, TPI1	AP x APR x CXAP
GO:1901575	Processo catabólico de substância orgânica	12	1609	1.95e-06	ALDOA, APOA1, APOA2, APOB, APOC3, CDC20, GAPDH, GPI, PGK1, TPI1, UBC, UBE2S	AP x APR x CXAP
GO:0044248	Processo catabólico celular	12	1646	2.27e-06	ALDOA, APOA1, APOA2, APOB, APOC3, CDC20, GAPDH, GPI, PGK1, TPI1, UBC, UBE2S	AP x APR x CXAP
GO:0046464	Processo catabólico de acilglicerol	4	31	2.27e-06	APOA1, APOA2, APOB, APOC3	AP x APR x CXAP
GO:0009168	Processo biossintético de monofosfato de ribonucleosídeo de purina	5	98	3.20e-06	ALDOA, GAPDH, GPI, PGK1, TPI1	AP x APR x CXAP
GO:0009166	Processo catabólico de nucleotídeos	5	101	3.55e-06	ALDOA, GAPDH, GPI, PGK1, TPI1	AP x APR x CXAP
GO:0034381	Depuração de partículas de lipoproteínas plasmáticas	4	40	4.59e-06	APOA1, APOA2, APOB, APOC3	AP x APR x CXAP

GO:0006006	Processo metabólico de glicose	5	113	5.25e-06	ALDOA, GAPDH, GPI, PGK1, TPI1	AP x APR x CXAP
GO:0033700	Efluxo fosfolipídico	3	12	1.27e-05	APOA1, APOA2, APOC3	AP x APR x CXAP
GO:0060192	Regulação negativa da atividade da lipase	3	15	2.15e-05	APOA1, APOA2, APOC3	AP x APR x CXAP
GO:0006641	Processo metabólico de triglicerídeos	4	69	2.74e-05	APOA1, APOA2, APOB, APOC3	AP x APR x CXAP
GO:0034375	Remodelação de partículas de lipoproteínas de alta densidade	3	17	2.85e-05	APOA1, APOA2, APOC3	AP x APR x CXAP
GO:0043691	Transporte reverso de colesterol	3	17	2.85e-05	APOA1, APOA2, APOC3	AP x APR x CXAP
GO:0042632	Homeostase do colesterol	4	71	2.90e-05	APOA1, APOA2, APOB, APOC3	AP x APR x CXAP
GO:0090407	Processo biossintético organofosforado	7	577	5.36e-05	ALDOA, APOA1, APOA2, GAPDH, GPI, PGK1, TPI1	AP x APR x CXAP
GO:0001523	Processo metabólico retinóide	4	87	5.58e-05	APOA1, APOA2, APOB, APOC3	AP x APR x CXAP
GO:0019433	Processo catabólico de triglicerídeos	3	25	6.73e-05	APOA1, APOB, APOC3	AP x APR x CXAP
GO:0009167	Processo metabólico de monofosfato de ribonucleosídeo purina	5	230	9.35e-05	ALDOA, GAPDH, GPI, PGK1, TPI1	AP x APR x CXAP
GO:0060621	Regulação negativa da importação de colesterol	2	2	0.00011	APOA2, APOC3	AP x APR x CXAP
GO:0042157	Processo metabólico da lipoproteína	4	114	0.00013	APOA1, APOA2, APOB, APOC3	AP x APR x CXAP

GO:0031145	Processo catabólico dependente de complexo promotor da anáfase	3	35	0.00015	CDC20, UBC, UBE2S	AP x APR x CXAP
GO:0051186	Processo metabólico do cofator	6	467	0.00017	ALDOA, GAPDH, GPI, PGK1, PRSS1, TPI1	AP x APR x CXAP
GO:1905952	Regulação da localização lipídica	4	129	0.00020	APOA1, APOA2, APOB, APOC3	AP x APR x CXAP
GO:0032374	Regulação do transporte de colesterol	3	43	0.00024	APOA1, APOA2, APOC3	AP x APR x CXAP
GO:0022607	Montagem de componentes celulares	11	2343	0.00028	ALDOA, APOA1, APOA2, APOB, APOC3, CDC20, HIST1H1C, KRT8, SYCP1, UBC, UBE2S	AP x APR x CXAP
GO:1901564	Processo metabólico do composto organonitrogênio	16	5281	0.00029	ALDOA, APOA1, APOA2, APOB, APOC3, C1orf68, CDC20, GAPDH, GPI, HIST1H1C, PGK1, PRSS1, RAD18, TPI1, UBC, UBE2S	AP x APR x CXAP
GO:0000731	Síntese de DNA envolvida no reparo de DNA	3	50	0.00035	C1orf86, SYCP1, UBC	AP x APR x CXAP
GO:0006301	Reparação pós-complicação	3	51	0.00037	C1orf86, RAD18, UBC	AP x APR x CXAP
GO:0050994	Regulação do processo catabólico lipídico	3	51	0.00037	APOA1, APOA2, APOC3	AP x APR x CXAP
GO:0002740	Regulação negativa da secreção de citocinas envolvida na resposta imune	2	6	0.00040	APOA1, APOA2	AP x APR x CXAP
GO:0044283	Processo biossintético de molécula pequena	6	569	0.00044	ALDOA, APOA1, GAPDH, GPI, PGK1, TPI1	AP x APR x CXAP
GO:0043062	Organização da estrutura extracelular	5	339	0.00045	APOA1, APOA2, APOB, APOC3, PRSS1	AP x APR x CXAP
GO:0065008	Regulação da qualidade biológica	13	3559	0.00046	ALDOA, APOA1, APOA2, APOB, APOC3, CDC20, GAPDH, GPI, PFN1, S100A7, SFN, UBC, UBE2S	AP x APR x CXAP

GO:0030300	Regulação da absorção intestinal de colesterol	2	7	0.00049	APOA1, APOA2	AP x APR x CXAP
GO:0032489	Regulação da transdução de sinal da proteína Cdc42	2	7	0.00049	APOA1, APOC3	AP x APR x CXAP
GO:0034382	Depuração do remanescente de quilomícron	2	8	0.00059	APOB, APOC3	AP x APR x CXAP
GO:0017144	Processo metabólico de drogas	6	622	0.00066	ALDOA, GAPDH, GPI, PGK1, PRSS1, TPI1	AP x APR x CXAP
GO:0055114	Processo de redução de oxidação	7	923	0.00066	ALDOA, APOA1, APOA2, GAPDH, GPI, PGK1, TPI1	AP x APR x CXAP
GO:0010873	Regulação positiva da esterificação de colesterol	2	9	0.00070	APOA1, APOA2	AP x APR x CXAP
GO:0034384	Depuração de partículas de lipoproteínas de alta densidade	2	9	0.00070	APOA1, APOA2	AP x APR x CXAP
GO:0018158	Oxidação de proteínas	2	10	0.00081	APOA1, APOA2	AP x APR x CXAP
GO:0034379	Conjunto de partículas de lipoproteína de densidade muito baixa	2	10	0.00081	APOB, APOC3	AP x APR x CXAP
GO:0006950	Resposta ao estresse	12	3267	0.00094	APOA1, APOA2, C1orf86, GAPDH, HP, KRT8, PGK1, RAD18, S100A7, SFN, SYCP1, UBC	AP x APR x CXAP
GO:0016043	Organização de componentes celulares	15	5163	0.00098	ALDOA, APOA1, APOA2, APOB, APOC3, CDC20, GAPDH, HIST1H1C, KRT8, PFN1, PRSS1, SFN, SYCP1, UBC, UBE2S	AP x APR x CXAP
GO:0044281	Processo metabólico de molécula pequena	9	1779	0.00098	ALDOA, APOA1, APOA2, APOB, GAPDH, GPI, PGK1, PRSS1, TPI1	AP x APR x CXAP

GO:1901566	Processo biossintético de compostos organonitrogênio	8	1370	0.00099	ALDOA, APOA1, APOA2, APOB, GAPDH, GPI, PGK1, TPI1	AP x APR x CXAP
GO:0010896	Regulação do processo catabólico de triglicerídeos	2	12	0.0010	APOA1, APOC3	AP x APR x CXAP
GO:0018206	Modificação de peptidil- metionina	2	12	0.0010	APOA1, APOA2	AP x APR x CXAP
GO:0019637	Processo metabólico de organofosfato	7	1011	0.0010	ALDOA, APOA1, APOA2, GAPDH, GPI, PGK1, TPI1	AP x APR x CXAP
GO:0050790	Regulação da atividade catalítica	10	2249	0.00100	APOA1, APOA2, APOC3, CDC20, GAPDH, HP, PFN1, SFN, UBC, UBE2S	AP x APR x CXAP
GO:0034374	Remodelação de partículas de lipoproteínas de baixa densidade	2	13	0.0012	APOA2, APOB	AP x APR x CXAP
GO:0034380	Conjunto de partículas de lipoproteína de alta densidade	2	13	0.0012	APOA1, APOA2	AP x APR x CXAP
GO:0051346	Regulação negativa da atividade da hidrolase	5	438	0.0012	APOA1, APOA2, APOC3, GAPDH, SFN	AP x APR x CXAP
GO:1904668	Regulação positiva da atividade da ubiquitina proteína ligase	2	13	0.0012	CDC20, UBE2S	AP x APR x CXAP
GO:0031647	Regulação da estabilidade de proteínas	4	251	0.0016	APOA1, APOA2, GAPDH, PFN1	AP x APR x CXAP
GO:0065003	Conjunto complexo contendo proteínas	8	1514	0.0017	ALDOA, APOA1, APOA2, APOB, APOC3, HIST1H1C, UBC, UBE2S	AP x APR x CXAP
GO:0019538	Processo metabólico de proteínas	13	4194	0.0019	APOA1, APOA2, APOB, APOC3, C1orf68, CDC20, GAPDH, HIST1H1C, PGK1, PRSS1, RAD18, UBC, UBE2S	AP x APR x CXAP
GO:0030216	Diferenciação de queratinócitos	4	267	0.0019	C1orf68, KRT8, S100A7, SFN	AP x APR x CXAP

GO:0043086	Regulação negativa da atividade catalítica	6	809	0.0021	APOA1, APOA2, APOC3, GAPDH, HP, SFN	AP x APR x CXAP
GO:0008203	Processo metabólico do colesterol	3	109	0.0022	APOA1, APOA2, APOB	AP x APR x CXAP
GO:0032879	Regulação da localização	10	2524	0.0022	APOA1, APOA2, APOB, APOC3, GAPDH, GPI, PFN1, S100A7, SFN, SYCP1	AP x APR x CXAP
GO:0051004	Regulação da atividade da lipoproteína lipase	2	20	0.0022	APOA1, APOC3	AP x APR x CXAP
GO:0019218	Regulação do processo metabólico esteróide	3	112	0.0023	APOA1, APOA2, APOB	AP x APR x CXAP
GO:0006066	Processo metabólico do álcool	4	285	0.0024	APOA1, APOA2, APOB, TPI1	AP x APR x CXAP
GO:0009894	Regulação do processo catabólico	6	840	0.0024	APOA1, APOA2, APOC3, GAPDH, HP, UBC	AP x APR x CXAP
GO:0050995	Regulação negativa do processo catabólico lipídico	2	22	0.0025	APOA2, APOC3	AP x APR x CXAP
GO:0050996	Regulação positiva do processo catabólico lipídico	2	23	0.0027	APOA1, APOA2	AP x APR x CXAP
GO:0002700	Regulação da produção de mediador molecular da resposta imune	3	124	0.0029	APOA1, APOA2, GPI	AP x APR x CXAP
GO:0032880	Regulação da localização de proteínas	6	901	0.0033	APOA1, APOA2, GAPDH, GPI, SFN, SYCP1	AP x APR x CXAP
GO:0006807	Processo metabólico composto de nitrogênio	18	8349	0.0037	ALDOA, APOA1, APOA2, APOB, APOC3, C1orf68, C1orf86, CDC20, GAPDH, GPI, HIST1H1C, PGK1, PRSS1, RAD18, SYCP1, TPI1, UBC, UBE2S	AP x APR x CXAP

GO:0051704	Processo multi-organismo	9	2222	0.0038	ALDOA, APOA2, APOB, GAPDH, HP, KRT8, S100A7, SYCP1, UBC	AP x APR x CXAP
GO:0065009	Regulação da função molecular	11	3322	0.0040	APOA1, APOA2, APOC3, CDC20, GAPDH, GPI, HP, PFN1, SFN, UBC, UBE2S	AP x APR x CXAP
GO:0006656	Processo biossintético de fosfatidilcolina	2	31	0.0044	APOA1, APOA2	AP x APR x CXAP
GO:0051223	Regulação do transporte de proteínas	5	622	0.0044	APOA1, APOA2, GAPDH, GPI, SFN	AP x APR x CXAP
GO:0070328	Homeostase de triglicerídeos	2	33	0.0049	APOA1, APOC3	AP x APR x CXAP
GO:0090207	Regulação do processo metabólico de triglicerídeos	2	34	0.0051	APOA1, APOC3	AP x APR x CXAP
GO:0030855	Diferenciação celular epitelial	5	649	0.0052	C1orf68, KRT8, PGK1, S100A7, SFN	AP x APR x CXAP
GO:0019216	Regulação do processo metabólico lipídico	4	373	0.0056	APOA1, APOA2, APOB, APOC3	AP x APR x CXAP
GO:0050821	Estabilização de proteínas	3	166	0.0060	APOA1, GAPDH, PFN1	AP x APR x CXAP
GO:0042769	Resposta a danos no DNA, detecção de danos no DNA	2	38	0.0061	RAD18, UBC	AP x APR x CXAP
GO:0050896	Resposta ao estímulo	17	7824	0.0062	ALDOA, APOA1, APOA2, APOB, APOC3, C1orf86, GAPDH, GPI, HP, KRT8, PFN1, PGK1, RAD18, S100A7, SFN, SYCP1, UBC	AP x APR x CXAP
GO:0042304	Regulação do processo biossintético de ácidos graxos	2	40	0.0066	APOA1, APOC3	AP x APR x CXAP
GO:0045055	Exocitose regulada	5	691	0.0066	ALDOA, APOA1, GPI, HP, S100A7	AP x APR x CXAP

GO:0046890	Regulação do processo biossintético lipídico	3	174	0.0066	APOA1, APOB, APOC3	AP x APR x CXAP
GO:0050707	Regulação da secreção de citocinas	3	174	0.0066	APOA1, APOA2, GAPDH	AP x APR x CXAP
GO:0060429	Desenvolvimento epitélio	6	1055	0.0066	C1orf68, KRT8, PFN1, PGK1, S100A7, SFN	AP x APR x CXAP
GO:0019985	Síntese de translesão	2	41	0.0067	C1orf86, UBC	AP x APR x CXAP
GO:0006464	Processo de modificação de proteínas celulares	10	2999	0.0069	APOA1, APOA2, APOB, C1orf68, CDC20, GAPDH, HIST1H1C, RAD18, UBC, UBE2S	AP x APR x CXAP
GO:0044237	Processo metabólico celular	18	8797	0.0069	ALDOA, APOA1, APOA2, APOB, APOC3, C1orf68, C1orf86, CDC20, GAPDH, GPI, HIST1H1C, PGK1, PRSS1, RAD18, SYCP1, TPI1, UBC, UBE2S	AP x APR x CXAP
GO:0042592	Processo homeostático	7	1491	0.0070	ALDOA, APOA1, APOA2, APOB, APOC3, SFN, UBE2S	AP x APR x CXAP
GO:0044238	Processo metabólico primário	18	8808	0.0070	ALDOA, APOA1, APOA2, APOB, APOC3, C1orf68, C1orf86, CDC20, GAPDH, GPI, HIST1H1C, PGK1, PRSS1, RAD18, SYCP1, TPI1, UBC, UBE2S	AP x APR x CXAP
GO:0048522	Regulação positiva do processo celular	13	4898	0.0071	APOA1, APOA2, APOB, CDC20, GAPDH, GPI, HP, PFN1, RAD18, S100A7, SFN, UBC, UBE2S	AP x APR x CXAP

GO:0009987	Processo celular	23	14652	0.0073	ALDOA, APOA1, APOA2, APOB, APOC3, C1orf68, C1orf86, CDC20, GAPDH, GPI, HIST1H1C, HP, KRT8, PFN1, PGK1, PRSS1, RAD18, S100A7, SFN, SYCP1, TPI1, UBC, UBE2S	AP x APR x CXAP
GO:0050708	Regulação da secreção de proteínas	4	422	0.0078	APOA1, APOA2, GAPDH, GPI	AP x APR x CXAP
GO:1901360	Processo metabólico de composto cíclico orgânico	13	4963	0.0080	ALDOA, APOA1, APOA2, APOB, C1orf86, GAPDH, GPI, PGK1, PRSS1, RAD18, SYCP1, TPI1, UBC	AP x APR x CXAP
GO:0031329	Regulação do processo catabólico celular	5	743	0.0084	APOA1, APOC3, GAPDH, HP, UBC	AP x APR x CXAP
GO:0006974	Resposta celular ao estímulo de dano ao DNA	5	749	0.0086	C1orf86, RAD18, SFN, SYCP1, UBC	AP x APR x CXAP
GO:0033554	Resposta celular ao estresse	7	1553	0.0086	APOA1, C1orf86, PGK1, RAD18, SFN, SYCP1, UBC	AP x APR x CXAP
GO:0036297	Reparo de ligação cruzada entre fios	2	49	0.0088	C1orf86, UBC	AP x APR x CXAP
GO:0006996	Organização de organelas	10	3131	0.0091	ALDOA, CDC20, GAPDH, HIST1H1C, KRT8, PFN1, SFN, SYCP1, UBC, UBE2S	AP x APR x CXAP
GO:0006796	Processo metabólico composto contendo fosfato	8	2065	0.0095	ALDOA, APOA1, APOA2, GAPDH, GPI, PGK1, TPI1, UBC	AP x APR x CXAP
GO:0006898	Endocitose mediada por receptores	3	209	0.0100	APOA1, APOB, HP	AP x APR x CXAP
GO:0071704	Processo metabólico de substância orgânica	18	9135	0.0109	ALDOA, APOA1, APOA2, APOB, APOC3, C1orf68, C1orf86, CDC20, GAPDH, GPI, HIST1H1C, PGK1,	AP x APR x CXAP

PRSS1, RAD18, SYCP1, TPI1, UBC, UBE2S

GO:0043312	Degranulação de neutrófilos	4	485	0.0121	ALDOA, GPI, HP, S100A7	AP x APR x CXAP
GO:0032233	Regulação positiva da montagem do feixe de filamentos de actina	2	60	0.0124	APOA1, PFN1	AP x APR x CXAP
GO:0006281	Reparo de DNA	4	491	0.0125	C1orf86, RAD18, SYCP1, UBC	AP x APR x CXAP
GO:0016310	Fosforilação	6	1236	0.0130	ALDOA, GAPDH, GPI, PGK1, TPI1, UBC	AP x APR x CXAP
GO:0051336	Regulação da atividade da hidrolase	6	1238	0.0130	APOA1, APOA2, APOC3, GAPDH, PFN1, SFN	AP x APR x CXAP
GO:0051707	Resposta a outro organismo	5	835	0.0130	APOB, GAPDH, HP, KRT8, S100A7	AP x APR x CXAP
GO:0016192	Transporte mediado por vesículas	7	1699	0.0132	ALDOA, APOA1, APOB, GPI, HP, S100A7, UBC	AP x APR x CXAP
GO:0051239	Regulação do processo organizacional multicelular	9	2788	0.0147	APOA1, APOA2, APOC3, CDC20, GAPDH, GPI, PFN1, PGK1, SFN	AP x APR x CXAP
GO:0006959	Resposta imune humoral	3	252	0.0154	GAPDH, GPI, S100A7	AP x APR x CXAP
GO:0046470	Processo metabólico da fosfatidilcolina	2	72	0.0162	APOA1, APOA2	AP x APR x CXAP
GO:0002526	Resposta inflamatória aguda	2	73	0.0166	APOA2, HP	AP x APR x CXAP

GO:0043627	Resposta ao estrogênio	2	74	0.0170	APOA1, APOA2	AP x APR x CXAP
GO:0000280	Divisão nuclear	3	268	0.0179	CDC20, SYCP1, UBE2S	AP x APR x CXAP
GO:0051492	Regulação da montagem de fibras de tensão	2	78	0.0186	APOA1, PFN1	AP x APR x CXAP
GO:0009895	Regulação negativa do processo catabólico	3	274	0.0188	APOA2, APOC3, HP	AP x APR x CXAP
GO:0031100	Regeneração de órgãos de animais	2	79	0.0189	APOA1, APOA2	AP x APR x CXAP
GO:0043085	Regulação positiva da atividade catalítica	6	1381	0.0204	APOA1, APOA2, CDC20, PFN1, UBC, UBE2S	AP x APR x CXAP
GO:0007010	Organização do citoesqueleto	5	953	0.0205	ALDOA, CDC20, GAPDH, KRT8, PFN1	AP x APR x CXAP
GO:0045833	Regulação negativa do processo metabólico lipídico	2	84	0.0208	APOA2, APOC3	AP x APR x CXAP
GO:0002682	Regulação do processo do sistema imunológico	6	1391	0.0209	APOA1, APOA2, APOB, GPI, S100A7, UBC	AP x APR x CXAP
GO:0019217	Regulação do processo metabólico de ácidos graxos	2	86	0.0214	APOA1, APOC3	AP x APR x CXAP
GO:0002224	Via de sinalização de receptor tipo pedágio	2	87	0.0218	APOB, UBC	AP x APR x CXAP
GO:0042158	Processo biossintético de lipoproteínas	2	87	0.0218	APOA1, APOB	AP x APR x CXAP

GO:0048878	Homeostase química	5	995	0.0236	APOA1, APOA2, APOB, APOC3, SFN	AP x APR x CXAP
GO:0030163	Processo catabólico de proteínas	4	615	0.0239	APOB, CDC20, UBC, UBE2S	AP x APR x CXAP
GO:0051129	Regulação negativa da organização dos componentes celulares	4	632	0.0260	APOA1, APOA2, APOC3, PFN1	AP x APR x CXAP
GO:0032501	Processo organizacional multicelular	14	6507	0.0264	ALDOA, APOA1, APOA2, APOB, APOC3, C1orf68, CDC20, KRT8, PFN1, PRSS1, S100A7, SFN, SYCP1, TPI1	AP x APR x CXAP
GO:0016567	Ubiquitinação de proteínas	4	645	0.0276	CDC20, RAD18, UBC, UBE2S	AP x APR x CXAP
GO:0044403	Processo simbionte	4	650	0.0282	APOA2, GAPDH, KRT8, UBC	AP x APR x CXAP
GO:0048856	Desenvolvimento da estrutura anatômica	12	5085	0.0282	APOA1, APOA2, APOB, C1orf68, CDC20, KRT8, PFN1, PGK1, S100A7, SFN, SYCP1, TPI1	AP x APR x CXAP
GO:0062012	Regulação do processo metabólico de pequenas moléculas	3	332	0.0291	APOA1, APOB, APOC3	AP x APR x CXAP
GO:0010942	Regulação positiva da morte celular	4	663	0.0300	GAPDH, HP, SFN, UBC	AP x APR x CXAP
GO:0061844	Resposta imune humoral antimicrobiana mediada por peptídeo antimicrobiano	2	107	0.0306	GAPDH, S100A7	AP x APR x CXAP
GO:0043170	Processo metabólico da macromolécula	15	7453	0.0324	APOA1, APOA2, APOB, APOC3, C1orf68, C1orf86, CDC20, GAPDH,	AP x APR x CXAP

					HIST1H1C, PGK1, PRSS1, RAD18, SYCP1, UBC, UBE2S	
GO:1901362	Processo biossintético de composto cíclico orgânico	9	3230	0.0336	ALDOA, APOA1, C1orf86, GAPDH, GPI, PGK1, SYCP1, TPI1, UBC	AP x APR x CXAP
GO:0051246	Regulação do processo metabólico de proteínas	8	2668	0.0357	APOA1, APOA2, CDC20, GAPDH, S100A7, SFN, UBC, UBE2S	AP x APR x CXAP
GO:0043687	Modificação proteica pós- tradução	3	365	0.0359	APOA1, APOA2, APOB	AP x APR x CXAP
GO:0044249	Processo biossintético celular	11	4567	0.0359	ALDOA, APOA1, APOA2, APOB, C1orf86, GAPDH, GPI, PGK1, SYCP1, TPI1, UBC	AP x APR x CXAP
GO:0050789	Regulação do processo biológico	19	11116	0.0359	ALDOA, APOAI, APOA2, APOB, APOC3, CDC20, GAPDH, GPI, HIST1H1C, HP, KRT8, PFN1, PGK1, RAD18, S100A7, SFN, SYCP1, UBC, UBE2S	AP x APR x CXAP
GO:0051222	Regulação positiva do transporte de proteínas	3	365	0.0359	GAPDH, GPI, SFN	AP x APR x CXAP
GO:0002576	Degranulação de plaquetas	2	129	0.0408	ALDOA, APOA1	AP x APR x CXAP
GO:1901576	Processo biossintético de substância orgânica	11	4656	0.0408	ALDOA, APOA1, APOA2, APOB, C1orf86, GAPDH, GPI, PGK1, SYCP1, TPI1, UBC	AP x APR x CXAP
GO:0010634	Regulação positiva da migração de células epiteliais	2	136	0.0440	GPI, PFN1	AP x APR x CXAP
GO:0140014	Divisão nuclear mitótica	2	136	0.0440	CDC20, UBE2S	AP x APR x CXAP

GO:0006508	Proteólise	5	1203	0.0452	CDC20, PGK1, PRSS1, UBC, UBE2S	AP x APR x CXAP
GO:0071456	Resposta celular à hipóxia	2	139	0.0454	PGK1, UBC	AP x APR x CXAP
GO:0051716	Resposta celular ao estímulo	13	6212	0.0466	APOA1, APOB, APOC3, C1orf86, GAPDH, HP, KRT8, PFN1, PGK1, RAD18, SFN, SYCP1, UBC	AP x APR x CXAP
GO:0030036	Organização do citoesqueleto de actina	3	418	0.0480	ALDOA, KRT8, PFN1	AP x APR x CXAP
GO:0051049	Regulação de transporte	6	1732	0.0493	APOA1, APOA2, APOC3, GAPDH, GPI, SFN	AP x APR x CXAP
GO:0006810	Transporte	10	4130	0.0496	ALDOA, APOA1, APOA2, APOB, APOC3, GPI, HP, S100A7, SFN, UBC	AP x APR x CXAP
GO:0050690	Regulação da resposta da defesa ao vírus por vírus	5	30	3.16e-09	AP1B1, AP1G1, AP1M1, AP1S1, AP1S2	AP x APR
GO:0019886	Processamento de antígenos e apresentação do antígeno peptídico exógeno via MHC classe II	5	96	3.79e-07	AP1B1, AP1G1, AP1M1, AP1S1, AP1S2	AP x APR
GO:0016192	Transporte mediado por vesículas	8	1699	2.41e-05	AP1B1, AP1G1, AP1M1, AP1S1, AP1S2, FABP5, HBA1, HBB	AP x APR
GO:0035646	Transporte de endossoma para melanossoma	2	10	0.00080	AP1G1, AP1M1	AP x APR
GO:0006810	Transporte	9	4130	0.00088	AP1B1, AP1G1, AP1M1, AP1S1, AP1S2, FABP5, HBA1, HBB, SFN	AP x APR

GO:0071702	Transporte de substâncias orgânicas	7	2040	0.00088	AP1B1, AP1G1, AP1M1, AP1S1, AP1S2, HBA1, HBB	AP x APR
GO:0015671	Transporte de oxigênio	2	15	0.00098	HBA1, HBB	AP x APR
GO:0006886	Transporte intracelular de proteínas	5	836	0.0012	AP1B1, AP1G1, AP1M1, AP1S1, AP1S2	AP x APR
GO:0042744	Processo catabólico de peróxido de hidrogênio	2	20	0.0014	HBA1, HBB	AP x APR
GO:0002376	Processo do sistema imunológico	7	2370	0.0017	AP1B1, AP1G1, AP1M1, AP1S1, AP1S2, FABP5, HBB	AP x APR
GO:0032438	Organização melanossômica	2	26	0.0021	AP1G1, AP1M1	AP x APR
GO:0071705	Transporte composto de nitrogênio	6	1690	0.0023	AP1B1, AP1G1, AP1M1, AP1S1, AP1S2, HBB	AP x APR
GO:0042743	Processo metabólico de peróxido de hidrogênio	2	31	0.0025	HBA1, HBB	AP x APR
GO:0006898	Endocitose mediada por receptores	3	209	0.0032	AP1S1, HBA1, HBB	AP x APR
GO:0015701	Transporte de bicarbonato	2	44	0.0043	HBA1, HBB	AP x APR
GO:0098869	Desintoxicação do oxidante celular	2	86	0.0121	HBA1, HBB	AP x APR
GO:0042542	Resposta ao peróxido de hidrogênio	2	112	0.0178	HBA1, HBB	AP x APR
GO:0016482	Transporte citosólico	2	132	0.0209	AP1G1, AP1S1	AP x APR

GO:0043312	Degranulação de neutrófilos	3	485	0.0209	AP1M1, FABP5, HBB	AP x APR
GO:0051291	Heterooligomerização de proteínas	2	126	0.0209	HBA1, HBB	AP x APR
GO:0010942	Regulação positiva da morte celular	3	663	0.0354	HBA1, HBB, SFN	AP x APR
GO:0006342	Silenciamento da cromatina	9	98	5.62e-17	H2AFJ, H2AFY, H2AFY2, HIST1H2AA, HIST1H2AB, HIST1H2AC, HIST1H2AH, HIST2H2AB, HIST3H2A	APR x CXAP
GO:0006325	Organização da cromatina	10	683	1.47e-12	H2AFJ, H2AFY, H2AFY2, HIST1H2AA, HIST1H2AB, HIST1H2AC, HIST1H2AH, HIST1H2BN, HIST2H2AB, HIST3H2A	APR x CXAP
GO:0045934	Regulação negativa do processo metabólico composto contendo nucleobases	10	1424	1.65e-09	H2AFJ, H2AFY, H2AFY2, HIST1H2AA, HIST1H2AB, HIST1H2AC, HIST1H2AH, HIST2H2AB, HIST3H2A, TP53BP1	APR x CXAP
GO:0051253	Regulação negativa do processo metabólico do RNA	9	1303	3.32e-08	H2AFJ, H2AFY, H2AFY2, HIST1H2AA, HIST1H2AB, HIST1H2AC, HIST1H2AH, HIST2H2AB, HIST3H2A	APR x CXAP
GO:0010605	Regulação negativa do processo metabólico das macromoléculas	10	2558	2.29e-07	H2AFJ, H2AFY, H2AFY2, HIST1H2AA, HIST1H2AB, HIST1H2AC, HIST1H2AH, HIST2H2AB, HIST3H2A, TP53BP1	APR x CXAP

GO:0016043	Organização de componentes celulares	11	5163	6.07e-06	H2AFJ, H2AFY, H2AFY2, HIST1H2AA, HIST1H2AB, HIST1H2AC, HIST1H2AH, HIST1H2BN, HIST2H2AB, HIST3H2A, TP53BP1	APR x CXAP
GO:0006355	Regulação da transcrição, modelada por DNA	10	3661	6.49e-06	H2AFJ, H2AFY, H2AFY2, HIST1H2AA, HIST1H2AB, HIST1H2AC, HIST1H2AH, HIST2H2AB, HIST3H2A, TP53BP1	APR x CXAP
GO:0051252	Regulação do processo metabólico do RNA	10	3890	1.01e-05	H2AFJ, H2AFY, H2AFY2, HIST1H2AA, HIST1H2AB, HIST1H2AC, HIST1H2AH, HIST2H2AB, HIST3H2A, TP53BP1	APR x CXAP
GO:0034728	Organização de nucleossomos	4	167	1.79e-05	H2AFY, H2AFY2, HIST1H2BN, HIST3H2A	APR x CXAP
GO:0006333	Montagem ou desmontagem da cromatina	4	174	2.04e-05	H2AFY, H2AFY2, HIST1H2BN, HIST3H2A	APR x CXAP
GO:1901837	Regulação negativa da transcrição de RNA grande nucleolar por RNA polimerase I	2	3	2.59e-05	H2AFY, H2AFY2	APR x CXAP
GO:0071169	Estabelecimento de localização de proteínas à cromatina	2	7	8.01e-05	H2AFY, H2AFY2	APR x CXAP
GO:0007549	Compensação de dosagem	2	16	0.00032	H2AFY, H2AFY2	APR x CXAP
GO:0045618	Regulação positiva da diferenciação de queratinócitos	2	16	0.00032	H2AFY, H2AFY2	APR x CXAP
GO:0006334	Montagem de nucleossomo	3	137	0.00039	H2AFY, H2AFY2, HIST1H2BN	APR x CXAP

GO:0043933	Organização de subunidades complexas contendo proteínas	5	1770	0.0088	H2AFY, H2AFY2, HIST1H2BN, HIST3H2A, TP53BP1	APR x CXAP
GO:0071478	Resposta celular à radiação	2	153	0.0158	HIST3H2A, TP53BP1	APR x CXAP
GO:0065003	Conjunto complexo contendo proteínas	4	1514	0.0364	H2AFY, H2AFY2, HIST1H2BN, TP53BP1	APR x CXAP
GO:0042744	Processo catabólico de peróxido de hidrogênio	3	20	7.82e-06	HBA1, HBA2, HBB	CXAP EP x CXAP MIO
GO:0051291	Heterooligomerização de proteínas	4	126	1.40e-05	HBA1, HBA2, HBB, HBE1	CXAP EP x CXAP MIO
GO:0042743	Processo metabólico de peróxido de hidrogênio	3	31	1.76e-05	HBA1, HBA2, HBB	CXAP EP x CXAP MIO
GO:0015701	Transporte de bicarbonato	3	44	3.56e-05	HBA1, HBA2, HBB	CXAP EP x CXAP MIO
GO:0007596	Coagulação do sangue	4	288	0.00016	HBB, HBD, HBE1, HBG2	CXAP EP x CXAP MIO
GO:0098869	Desintoxicação do oxidante celular	3	86	0.00016	HBA1, HBA2, HBB	CXAP EP x CXAP MIO
GO:0042542	Resposta ao peróxido de hidrogênio	3	112	0.00024	HBA1, HBA2, HBB	CXAP EP x CXAP MIO
GO:0006898	Endocitose mediada por receptores	3	209	0.00097	HBA1, HBA2, HBB	CXAP EP x CXAP MIO
GO:0006950	Resposta ao estresse	7	3267	0.0018	DCD, HBA1, HBA2, HBB, HBD, HBE1, HBG2	CXAP EP x CXAP MIO
GO:0042221	Resposta a substâncias químicas	7	4153	0.0073	HBA1, HBA2, HBB, HBD, HBE1, HBG2, OR3A3	CXAP EP x CXAP MIO
GO:0022607	Montagem de componentes celulares	5	2343	0.0171	CEP162, HBA1, HBA2, HBB, HBE1	CXAP EP x CXAP MIO

GO:0010942	Regulação positiva da morte celular	3	663	0.0177	HBA1, HBA2, HBB	CXAP EP x CXAP MIO
GO:0051179	Localização	7	5233	0.0229	CEP162, HBA1, HBA2, HBB, HBD, HBE1, HBG2	CXAP EP x CXAP MIO
GO:0050896	Resposta ao estímulo	8	7824	0.0474	DCD, HBA1, HBA2, HBB, HBD, HBE1, HBG2, OR3A3	CXAP EP x CXAP MIO

ID: identificação, Nº: Número, TFD: Taxa de falsa descoberta

Autores	Tipo de material	Especificações do material	Tipo de análise (MS)	Amostra	Controle (GSN)	Resultados	Nº proteínas identificas no AP ou CXAP	Proteínas comuns/semelhantes ao nosso estudo
Donadio et al. (2013)	PAAF	1 ml	2-DE + Nano LC-ESI-MS/MS	AP e TW	Não	26 proteínas	18	ANXA1, ANXA4 APOE, SOD1, YWHAE
Ernest et al. (2015)	Tecido fresco	10 µm	MALDI	AP	Sim	8 agrupamentos de proteínas de acordo com a amostra*	-	S100A8, S100A10
Mutlu et al. (2017)	Tecido congelado	75 mg	2D-DIGE + MALDI- TOF/TOF	AP	Sim	26 proteínas	26	AMY1A, ANXA5, ATP5A1, CA1, CA2, CLU, FGB, HSP90AA1, HSPA5, IGKC, TF, TPI1, VIM, YWHAE
Cardoso et al. (2019)	NI	NI	LC-MS	AP e CM	Sim	16 proteínas**	16	ALDOA, ANXA5, ENO1, IGHA1, IGHG3, IGLC2, IGLC3, IGLC6, IGLC7, IGLL5, PGAM1, TF
Seccia et al. (2020)	PAAF	1 ml	2-DE + Nano LC-ESI-MS/MS	TMGS, AP e TW	Sim	39 proteínas	17	ALDH9A1, ANXA1, ANXA5, IGHG1, PPIA, S100A9, SOD1

Apêndice 9 - Resultados obtidos em amostras de AP e CXAP por MS

MS: Espectrometria de massas; GSN: Glândula salivar normal; AP: Adenoma Pleomórfico; CXAP: Carcinoma Ex Adenoma Pleomórfico; N°: Número; PAAF: Punção aspirativa por agulha fina; NI: Não informado; 2-DE: eletroforese bidimensional; Nano LC-ESI-MS/MS: espectrometria de massa em nano-cromatografia líquida com ionização por eletropulverização; MALDI: Espectrometria de massas por ionização e dessorção a laser assistida por matriz; LC-MS: Espectrometria de massas acoplada a cromatografia líquida; 2D-DIGE: Eletroforese em gel com diferença bidimensional; MALDI-TOF/TOF: Espectrometria de massas por ionização/dessorção a laser - tempo de vôo assistida por matriz; TW: Tumor de Whartin, CM: Carcinoma Mioepitelial; TMGS: Tumores malignos de glândula salivar (Carcinoma de células acinares, Carcinoma mucoepidermoide, Carcinoma adenóide cístico, Carcinoma mioepitelial, Adenocarcinoma SOE, Carcinoma do ducto salivar, Carcinoma ex adenoma pleomórfico, Cistadenocarcinoma e Carcinoma epitelial-mioepitelial)
* No trabalho em questão não houve uma padronização dos seus resultados como um todo, mas sim em relação a amostra. Na amostra um foi identificado um grupamento de proteínas encontradas nas células epiteliais e mioepiteliais, tecido conjuntivo e no estroma mixóide. Na amostra dois, os resultados foram separados 3 em agrupamentos provenientes do AP, 1 da cápsula e 1 da GSN.

** O estudo identificou 105 proteínas entre as quatro amostras de AP (1), CME (1) e GSN (2), entretanto apenas as proteínas compartilhadas entre os três grupos estão disponíveis.

Anexo 1 - Aprovação no Comitê de Ética FOP-UNICAMP



UNICAMP - FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA DA

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Análise de espectrometria de massas na transformação maligna do Adenoma Pleomorfo e correlação de dados com expressão gênica Pesquisador: REYDSON ALCIDES DE LIMA SOUZA

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP:);

Versão: 2

CAAE: 05227318.9.1001.5418 Instituição Proponente: Faculdade de Odontologia de Piracicaba - Unicamp

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.135.622

Apresentação do Projeto:

Transcrição editada do conteúdo do registro do protocolo e dos arquivos anexados à Plataforma Brasil

Delineamento da pesquisa: Trata-se de estudo laboratorial, transversal, retrospectivo e prospectivo, com base em material de arquivo/material a fresco e dados de prontuário, que envolverá amostras de 30 indivíduos portadores de neoplasias de glândulas salivares submetidas (ou a submeter) ao Serviço de Anatomopatologia do HC-UNICAMP. Após selecionados, os casos passarão por revisão histopatológica e serão classificados e processados por microdissecção da área de interesse, MCL e extração de proteínas, espectrometria de massas e análise bioinformática. Serão acessados os prontuários clínicos dos pacientes. Critérios de inclusão: Amostras de adenoma pleomorfo e carcinoma ex-adenoma pleomorfo de glândulas salivares, acometendo pacientes de qualquer idade e qualquer sexo.

Critérios de exclusão: Amostras de adenoma pleomorfo e carcinoma ex-adenoma pleomorfo de glândula lacrimal; Amostras com material insuficiente pra realização da microdissecção a laser, amostras sem informações clinicopatológicas ou informações incompletas.

AMOSTRA: A amostra inicial deste projeto será constituída de 15 casos de APs e 15 de CXAPs oriundas do Biobanco ou de tecido fresco. As amostras do Biobanco, serão analisadas por um

Endereço: Bairro: A	Av.Limeira 901 Calx relão	a Postal 52 CEP:	13.414-903		
UF: SP	Municipio:	PIRACICABA			
Telefone:	(19)2106-5349	Fax: (19)2106-5349	E-mail:	cep@fop.unicamp.br	

Pagna 01 de 12



innaescoura	FCM.pdf	14:40:04	DE LIMA SOUZA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Autoriazacao_Lab_Bio_Cel_e_Mol_Peri o_FOP.pdf	06/12/2018 14:39:23	REYDSON ALCIDES DE LIMA SOUZA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Autoriazacao_Lab_Pat_Oral_e_Maxilofa cial_FOP.pdf	06/12/2018 14:38:52	REYDSON ALCIDES DE LIMA SOUZA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Autoriazacao_Lab_Pat_Mol_FCM.pdf	06/12/2018 14:37:27	REYDSON ALCIDES DE LIMA SOUZA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaracao_da_Instituicao_FOP.pdf	06/12/2018 14:36:31	REYDSON ALCIDES DE LIMA SOUZA	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_Rosto.pdf	06/12/2018 14:36:24	REYDSON ALCIDES DE LIMA SOUZA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaracao_da_Instituicao_FCM.pdf	06/12/2018 11:33:29	REYDSON ALCIDES DE LIMA SOUZA	Aceito

Situação do Parecer: Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP: Não

PIRACICABA, 07 de Fevereiro de 2019

Assinado por: jacks jorge junior (Coordenador(a))

Bairro: Areião			CEP:	13.414-903		
UF: OP	Municipio:	PIRACI	CABA			
Telefone: (19)	2106-5349	Fax:	(19)2106-5349	E-mail:	cep@fop.unicamp.br	

Pagina 12 da 12

Anexo 2 - Aprovação no Comitê de Ética FCM-UNICAMP



CAAE: 05227318.9.3001.5404 Instituição Proponente: Faculdade de Ciências Medicas - UNICAMP Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.219.861

Apresentação do Projeto:

"A análise proteômica é definida como sendo o conjunto de metodologias analíticas empregadas para caracterizar, quali e quantitativamente, um proteoma. Trata-se de uma área interdisciplinar da ciência, a qual agrega principalmente química, biologia e informática. A espectrometria de massas (EM) separa e analisa misturas de moléculas, ou fragmentos moleculares, com base em sua massa e carga. O uso dessas tecnologias vem auxiliando no entendimento da patogênese de determinadas lesões. O Adenoma Pleomorfo (AP) é a neoplasia de glândula salivar mais comum. Embora apresente uma natureza benigna, uma possível complicação do AP é a transformação maligna em Carcinoma Ex-Adenoma Pleomorofo (CXAP), sendo esta uma neoplasia agressiva com caráter metastizante e que pode evoluir a óbito. Tendo em vista que os eventos etiopatogênicos do CXAP ainda não foram elucidados, o objetivo deste estudo é analisar por meio de espectrometria de massas a transformação maligna do AP e correlacioná-la a resultados de expressão gênica (estudo em desenvolvimento). O trabalho se baseia em microdissecção a laser da área tumoral de interesse com posterior extração proteica e análise por espectrometria de massas do produto extraído. Esperamos realizar correlação destes dados com expressão gênica e acreditamos que poderemos encontrar marcadores viáveis para diagnóstico e terapia alvo".

Endereço: Rua Tessálla Vieira	de Camargo, 126		
Bairro: Barão Geraido	CEP:	13.083-887	
UF: SP Municipio:	CAMPINAS		
Telefone: (19)3521-8936	Fax: (19)3521-7187	E-mail:	cep@fom.unicamp.br

Página 01 de 05



UNICAMP - CAMPUS CAMPINAS

TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	05/02/2019 09:36:57	REYDSON ALCIDES DE LIMA SOUZA	Aceito
Outros	CEPCompleto.pdf	02/01/2019	jacks jorge junior	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP: Não

CAMPINAS, 25 de Março de 2019

Assinado por: Renata Maria dos Santos Celeghini (Coordenador(a))

Enderego: Rua Tessalla Vieira de Camargo, 126 Balmo: Barão Geraldo CEP: 13.083-887 UF: OF Municipio: CAMPINAD Telefone: (19)3521-8936 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fcm.unicamp.br

Non-the-

ActoPormo

inor

Anexo 3 - Verificação de originalidade e prevenção de plágio

ANÁLISE PROTEÔMICA BASEADA EM ESPECTROMETRIA DE MASSAS NA TRANSFORMAÇÃO MALIGNA DO ADENOMA PLEOMÓRFICO

RELAT	ÓRIO DE ORIGINA	LIDADE			
	6% e de iança	12% FONTES DA INTERNET	7 % publicações	5% DOCUMENT ALUNOS	OS DOS
FONTE	S PRIMÁRIAS				
1	reposito Fonte da Int	prio.unicamp.br			4%
2	Submit Campir Documento	ted to Universid as do Aluno	ade Estadual de		2%
3	WWW.M Fonte da Int	cponline.org			1%
4	Submit Documento	ted to University	/ of Houston Sys	item	1%
5	open.ue Fonte da Int	ct.ac.za			1%
6	elifescie Fonte da Int	ernet			1%
7	theijcp. Fonte da Int	org ernet			1%



repositorio.ufrn.br