



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**

GABRIELA VIVILI DOMINGUES SILVA

**A INFLUÊNCIA DOS LINFÓCITOS INFILTRANTES DO TUMOR
NO PROGNÓSTICO DE PACIENTES COM CARCINOMA DE
CÉLULAS ESCAMOSAS ORAL EM ESTÁGIO CLÍNICO INICIAL**

Piracicaba
2022

GABRIELA VIVILI DOMINGUES SILVA

**A INFLUÊNCIA DOS LINFÓCITOS INFILTRANTES DO TUMOR
NO PROGNÓSTICO DE PACIENTES COM CARCINOMA DE
CÉLULAS ESCAMOSAS ORAL EM ESTÁGIO CLÍNICO INICIAL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Cirurgião Dentista.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Della Coletta

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO APRESENTADO PELA ALUNA GABRIELA VIVILI DOMINGUES SILVA E PELO ORIENTADOR PROF. DR. RICARDO DELLA COLETTA.

PIRACICABA

2022

Ficha catalográfica

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

Si38i Silva, Gabriela Vivili Domingues, 1997-
A influência dos linfócitos infiltrantes do tumor no prognóstico de pacientes com carcinoma de células escamosas oral em estágio clínico inicial / Gabriela Vivili Domingues Silva. – Piracicaba, SP : [s.n.], 2022.

Orientador: Ricardo Della Coletta.
Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Neoplasias bucais. 2. Prognóstico. 3. Carcinoma de células escamosas oral. 4. Sobrevida. I. Della Coletta, Ricardo, 1972-. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Informações adicionais complementares

Título em outro idioma: The influence of tumor-infiltrating lymphocytes on early-stage oral squamous cell carcinoma prognosis

Palavras-chave em inglês:

Mouth neoplasms

Prognosis

Oral squamous cell carcinoma

Survivorship (Public health)

Titulação: Cirurgião-Dentista

Banca examinadora:

Eder da Silva Dolens

Everton Freitas de Moraes

Data de entrega do trabalho definitivo: 30-11-2022

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho à minha família, a qual inúmeros esforços tornaram possível minha formação.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio e oportunidade de realizar iniciação científica, processo no 2021/13595-9.

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba por me oferecer uma excelente formação acadêmica.

Ao Prof. Dr. Ricardo Della Coletta pela honra de sua orientação e pelo profissional excepcional que é. Obrigada por todo ensinamento e prontidão durante esse processo.

À todos os pacientes e suas famílias que forneceram seus dados e tornaram possível este estudo.

À Deus pela graça da vida, por me guiar e me amparar em cada passo dessa caminhada.

Ao meu pai Israel Domingues Silva, que desde o início confiou em mim e lutou para isso se tornasse realidade. Que mesmo distante, conseguiu ser presente todos os dias desse percurso e me dar todo tipo de apoio. Obrigada por tudo.

À minha mãe Alessandra Maria da Silva, que me ajudou e esteve comigo em diversos momentos, proporcionando força, alegria e leveza para prosseguir.

Aos meus irmãos Israel Júnior e Aléxia Caroline, pela nossa união e por tudo que vocês fazem para nós conseguirmos viver bem e prosperar na vida.

Aos meus avós, por todo afeto, por me abençoarem e torcerem por mim.

À todos que encontrei nesse percurso que acrescentaram de alguma forma, dentro e fora da Odontologia. Em especial às amigas que fiz durante a graduação: Mariana Lucon, Gabriela Regina, Brendda Costa, Kauani Cardozo, Raí Edras, João Chiles, Lívia Uvini, Camila Duarte, Beatriz Mazzo. Sou grata por ter tido vocês ao meu lado durante esses anos, dos bons até aos momentos mais difíceis, crescendo juntos e construindo histórias que levarei com apreço pelo resto da vida.

Às minhas amigas de longa data, que me incentivaram desde o início e compreenderam quando não foi possível estar presente. Obrigada por permanecerem sendo uma parte tão especial de mim.

RESUMO

Mesmo em estágios clínicos iniciais, uma fração considerável dos carcinomas de células escamosas oral (CCEO) pode apresentar comportamento agressivo, com tendência aumentada para invasão local, metástase regional e recorrência após o tratamento. Contudo, ainda não há parâmetros para diferenciar os pacientes que apresentam estes tumores com comportamento mais agressivo, que se beneficiariam com uma abordagem terapêutica específica, daqueles que apresentam tumores mais indolentes. Nesse contexto, a identificação de características histopatológicas, isoladas ou em modelos (combinação de vários aspectos juntos), visa complementar as limitações do sistema de estadiamento TNM, fornecendo ao clínico ferramentas para desenvolver um plano de tratamento mais preciso e adequado para cada paciente. Embora a relevância do sistema de classificação histopatológica da Organização Mundial da Saúde (OMS) como ferramenta prognóstica para o CCEO venha recebendo inúmeras críticas ao longo dos anos, algumas características histopatológicas mais recentes, como brotamento tumoral, proporção tumor-estroma e linfócitos infiltrantes do tumor (TILs, do inglês tumor-infiltrating lymphocytes), têm apresentado resultados promissores. O objetivo desse estudo foi testar o impacto da quantificação de TILs na predição do prognóstico de pacientes com CCEO em estágio inicial. Para alcançar esse objetivo, associações de TILs com sobrevida específica e sobrevida livre de doença dos pacientes foram verificadas em uma amostra contendo 95 pacientes com CCEO classificados como tumores em estágio clínico inicial (estágio I-T1N0M0 ou estágio II-T2N0M0) seguindo as recomendações da 8ª edição do sistema TNM. Os resultados deste estudo revelaram que TILs têm implicações significativas para a sobrevida de pacientes com CCEO em estágio inicial, sendo independentemente associado a sobrevida específica. Como a avaliação de TILs tem baixo custo, é factível e reproduzível, a validação deve ser alvo de mais estudos futuros, pois TILs podem contribuir para a avaliação do prognóstico de pacientes com CCEO.

Palavras-chave: Câncer oral. Estágio inicial. Parâmetros histopatológicos. Prognóstico.

ABSTRACT

Even in early clinical stages, a considerable fraction of the oral squamous cell carcinomas (OSCC) may show aggressive behavior, with an increased tendency for local invasion, regional metastasis and recurrence after treatment. However, there are still no parameters to differentiate patients who present these tumors with a more aggressive behavior, which would benefit from a specific therapeutic approach, from those who present more indolent tumors. In this context, the identification of histopathological features, isolated or in models (combination of several aspects together), aims to complement the limitations of the TNM staging system, providing the clinician with tools to develop a more accurate and appropriate treatment plan for each patient. Although the relevance of the World Health Organization (WHO) histopathological classification system as a prognostic tool for OSCC has received many critics over the years, other recent histopathological features, such as tumor budding, tumor-stroma ratio and tumor-infiltrating lymphocytes (TILs), are displaying promising results. The aim of this study was to test the impact of TILs in predicting the prognosis of patients with early stage OSCC. To achieve this objective, associations of TILs with specific survival and disease-free survival of patients were verified in a sample containing 95 patients with OSCC classified as early clinical stage tumors (stage I-T1N0M0 or stage II-T2N0M0) following the recommendations of the 8th edition of the TNM system. The results of this study revealed that TILs have significant implications for the survival of patients with early-stage OSCC and were independently associated with specific survival. As this evaluation is of low cost, feasible and reproducible, the validation should be the target of further studies, as TILs may add in the prognostication of patients with OSCC.

Keywords: Oral cancer. Early stage. Histopathological parameters. Prognosis.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 REVISÃO DA LITERATURA	10
3 PROPOSIÇÃO	18
4 MATERIAL E MÉTODOS	19
4.1 Amostra	19
4.2 Classificação de TILs	19
4.3 Análise estatística	20
5 RESULTADOS	21
6 DISCUSSÃO	25
7 CONCLUSÃO	27
REFERÊNCIAS*	28
ANEXOS	33
Anexo 1 – Verificação de originalidade e prevenção de plágio	33
Anexo 2 – Comitê de Ética em Pesquisa	34
Anexo 3 – Iniciação Científica	34

1 INTRODUÇÃO

O câncer oral, representado majoritariamente pelo carcinoma de células escamosas oral (CCEO) (Yao et al., 2019), encontra-se entre os 10 tumores mais prevalentes do mundo, com uma incidência global superior a 300 mil novos casos e 177 mil óbitos por ano (Bray et al., 2018). É considerado uma neoplasia de alta malignidade e a maior parte dos pacientes apresentam uma doença locorregionalmente avançada no momento do diagnóstico, para qual o tratamento baseia-se em terapias multimodais, incluindo a cirurgia, radioterapia e quimioterapia (Da Silva et al., 2019), e também os mais recentes métodos como a imunoterapia e as terapias-alvo (Kumar et al., 2021). Invasão tumoral, metástase linfonodal, altas taxas de recorrência locorregional e desenvolvimento de segundos tumores primários são as principais causas de morte em pacientes com CCEO (Ganly et al., 2012). Mesmo em um estágio inicial, os tumores (sobretudo os encontrados na língua e no assoalho da boca) podem apresentar grande agressividade, com tendência aumentada para invasão e metástase (Coletta et al., 2020). Isso torna evidente a necessidade de novas abordagens terapêuticas e prognósticas que consigam indicar de forma mais eficiente o comportamento do tumor, pois apesar dos avanços, os índices de mortalidade associados ao CCEO ainda são muito altos, com apenas metade dos pacientes sobrevivendo por um período superior a 5 anos após o diagnóstico (Chinn e Myers, 2015).

O estadiamento clínico (sistema TNM) continua a ser o principal parâmetro utilizado para decidir o manejo e o prognóstico dos pacientes com CCEO. No entanto, esse sistema não tem apresentado tanta precisão em prever a progressão do tumor, o que faz com que pacientes classificados em um mesmo estágio, apresentem tumores com comportamentos distintos. Isso influencia especialmente em casos iniciais da doença, nos quais ainda não existem parâmetros que consigam prever melhor o comportamento de cada tumor e assim distingui-los para uma abordagem terapêutica mais eficaz e individualizada (Wong et al., 2018). É importante mencionar que desde 2018, a edição revisada (8ª edição) do sistema de estadiamento clínico começou a ser utilizada. Neste sistema, para o CCEO, a profundidade de invasão do tumor (DOI) foi incorporada à categoria T e a invasão extracapsular de metástases linfonodais foi incorporada à categoria N (Amin et al., 2017). Apesar de alguns estudos

terem demonstrado uma superioridade da 8^o edição em relação a 7^o edição, alguns outros estudos demonstraram que a 8^o edição da classificação TNM apenas aumentou a complexidade da classificação, sem melhora no valor preditivo (Almangush et al., 2020; Subramaniam et al., 2021).

O sistema de classificação histopatológica dos CCEOs preconizada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) visa complementar as limitações do sistema de estadiamento TNM, e assim fornecer ao clínico ferramentas para desenvolver um plano de tratamento mais preciso e adequado para cada paciente (Almangush et al., 2015). Esse sistema leva em consideração aspectos morfológicos que podem estar envolvidos na carcinogênese, como pleomorfismo celular, produção de queratina e a presença de mitoses atípicas, e categoriza os tumores em bem diferenciado, moderadamente diferenciado e pobremente diferenciado. Embora a classificação histopatológica da OMS venha apresentando pouco valor preditivo em pacientes com CCEO, estudos recentes mostraram que outras características histopatológicas associadas a patogênese do CCEO podem ser artifícios eficientes entendimento da doença e em prever o comportamento tumoral, oferecendo aos pacientes diagnóstico, plano de tratamento e prognóstico mais precisos (Dolens et al., 2021). Dentre elas, os linfócitos infiltrantes do tumor (TILs, do inglês tumor-infiltrating lymphocytes), um grupo de células imunes mononucleares envolvidas no crescimento ou inibição do tumor, têm sido mencionados pela literatura como potencial biomarcador para prever o prognóstico e o resultado do tratamento em diversos tipos de carcinomas (Almangush et al., 2022; Zhou et al., 2021). Neste estudo, nós avaliamos o impacto dos TILs no prognóstico dos pacientes com CCEO em estágio inicial.

2 REVISÃO DA LITERATURA

O câncer oral compreende cerca de 85% dos cânceres de cabeça e pescoço, e consiste em uma neoplasia maligna dos tecidos da cavidade oral (The Oral Cancer Foundation). Dentre eles, o carcinoma de células escamosas oral (CCEO) é o mais prevalente, aparecendo em mais de 90% dos casos. Os demais incluem tipos menos comuns, como tumores odontogênicos malignos, tumores de glândulas salivares, linfomas, melanomas e sarcomas (Yao et al., 2019). Estimativas globais recentes indicam que os cânceres de lábio e da cavidade oral representam a 16ª neoplasia maligna mais comum em todo o mundo, com quase 355.000 novos casos incidentes por ano, tornando-o um importante problema de saúde pública (Miranda-Filho et al., 2020). Além disso, é considerado uma doença altamente letal, com uma taxa de mortalidade que se aproxima de 50% (Wong et al., 2018). A maior parte dos casos ocorrem em países em desenvolvimento e são atrelados às condições sociais e econômicas, com as taxas mais altas ocorrendo nas camadas menos favorecidas da população. Algumas áreas caracterizadas por altas taxas de incidência de câncer de cavidade oral são encontradas no sul da Ásia, Ásia Oriental, partes da Europa Ocidental, Europa Oriental e em países da América Latina (Warnakulasuriya et al., 2021). No Brasil, o número estimado de novos casos tem permanecido em torno de 15.000, com um ligeiro aumento a cada levantamento. Para o ano de 2020, o INCA estimou a ocorrência de 15.210 novos casos de câncer oral, dos quais 11.200 são em homens e 4.010 em mulheres, sendo este o quinto mais frequente do país em relação ao sexo masculino (INCA, 2020).

Em média, as taxas para os homens são duas vezes maiores do que para as mulheres, embora essa diferença venha diminuindo ao longo dos anos, possivelmente porque as mulheres estão mais expostas ao tabaco e ao álcool hoje em dia do que antes. O risco de desenvolver câncer bucal aumenta com a idade, e a maioria dos casos ocorre em pessoas com mais de 50 anos (Warnakulasuriya et al., 2021). No entanto, ultimamente tem-se observado um aumento alarmante na incidência de CCEO na faixa etária mais jovem (≤ 45 anos), ainda sem causas definidas, visto que na maioria dos casos, eles carecem dos fatores de risco tradicionais ou, quando presentes, o tempo de exposição é muito menor (Coletta et al., 2020).

Semelhante a outros tipos de neoplasias malignas, o câncer oral (e, mais especificamente, o CCEO) ocorre como resultado de um processo de múltiplas etapas caracterizado por alterações genéticas e epigenéticas distintas. Independentemente dos fatores, sejam eles exógenos (por exemplo, tabagismo, álcool, tipos oncogênicos de HPV) ou endógenos (por exemplo, predisposição genética e síndromes raras, por exemplo, anemia de Fanconi) implicados no câncer, uma característica fundamentalmente comum na carcinogênese oral é o acúmulo gradual de defeitos, mudanças que conjuntamente dão início a transformação fenotípica (clínica e microscópica) de epitélio normal para displásico e finalmente para carcinoma invasivo. (Georgaki et al., 2021).

Estas alterações podem ser causadas por mutações aleatórias, erros no processo de reparo do DNA ou pela exposição a uma variedade de fatores carcinogênicos (Feller et al., 2013), resultando na ativação e superexpressão de oncogenes e na inativação de genes supressores de tumor, modificações que conferem vantagens na proliferação e na sobrevivência das células tumorais, como insensibilidade aos sinais anticrescimento, resistência à sinalização apoptótica e capacidade de se infiltrar nos tecidos vizinhos, propagar e instalar em sítios distantes (metástases), causando destruição de outros órgãos e, em diversos casos, levando o paciente a óbito (Kowalski et al., 2020).

A apresentação clínica do câncer oral é altamente variável. Qualquer lesão da cavidade oral, que não se resolva em 2 a 3 semanas, deve levantar a suspeita do clínico. As apresentações mais comuns são a de uma lesão ulcerada na cavidade oral, os pacientes também podem apresentar dentes móveis, sangramento, dor ou dormência na boca ou face ou uma prótese dentária mal ajustada. Considerando que a maioria tem uma fase pré-maligna, é importante se atentar a doenças orais potencialmente malignas (OPMDs), um grupo de doenças com risco aumentado para câncer bucal (Warnakulasuriya et al., 2020). Incluem nesse grupo a leucoplasia, eritroplasia, leucoplasia verrucosa proliferativa, líquen plano oral, fibrose submucosa oral, lesões palatinas em fumantes reversos, lúpus eritematoso, epidermólise bolhosa e disceratose congênita (Warnakulasuriya et al., 2021). Na maioria dos estudos, a incidência de carcinoma in situ na biópsia de eritroplasia aproximou-se a 50%, por exemplo (Wong et al., 2018). Vale lembrar que o teste convencional para detecção dessas alterações que aumentam o índice de suspeita de câncer oral ou OPMDs, bem

como avaliação do pescoço para quaisquer linfonodos aumentados com metástase regional, é simples e envolve uma inspeção visual sistemática e palpação da cavidade oral sob uma fonte de luz brilhante (Warnakulasuriya et al., 2021).

O diagnóstico do câncer oral depende da obtenção de uma amostra de tecido da lesão, a biópsia, para análise histopatológica e seu estadiamento é concluído de acordo com o American Joint Manual de Estadiamento do Câncer da Comissão de Câncer (AJCC). Esse estadiamento clínico ainda é o principal parâmetro utilizado para decidir o manejo e o prognóstico dos pacientes com CCEO e segue a classificação TNM: T = tumor, N = estado nodal, M = metástases. O estágio do tumor tradicionalmente se refere à dimensão radial máxima do tumor, mas na última classificação (8ª edição), a profundidade de invasão do tumor (DOI) foi adicionada ao estágio T e a invasão extracapsular de metástases linfonodais foi incorporada à categoria N (Amin et al., 2017). O estadiamento preciso do tumor é essencial para determinar o tipo de tratamento oferecido, o campo de tratamento (extensão da ressecção para tratamento cirúrgico e área de radioterapia para tratamento de radiação), além de fornecer informações importantes para o tratamento e quanto ao prognóstico de sua doença. Contudo, esse sistema possui limitações, em especial no que tange a previsibilidade da progressão tumoral, principalmente em casos iniciais da doença, nos quais não existem parâmetros para diferenciar os pacientes que apresentam tumores com comportamento mais agressivos, que se beneficiariam com uma abordagem terapêutica específica, daqueles que apresentam tumores mais brandos (Wong et al., 2018).

O tratamento dos pacientes com câncer bucal em estágio inicial geralmente é indicativo para um bom prognóstico, além de melhores taxas de sobrevivência e qualidade de vida (Warnakulasuriya et al., 2021). No entanto, nem sempre o comportamento clínico da lesão corresponde ao seu diagnóstico, fazendo com que tumores classificados em um mesmo estágio clínico apresentem desfechos diferentes. Em casos classificados como iniciais por exemplo, é possível encontrar tumores agressivos, com maior tendência para invasão e metástase (Coletta et al., 2020).

A capacidade do CCEO precoce de metastatizar em linfonodos nem sempre está associada ao estadiamento clínico TNM. Devido à heterogeneidade histopatológica, existem dissimilaridades no comportamento biológico mesmo em

estágios clínicos idênticos. Em pacientes com CCEO em língua, por exemplo, a causa comum de falha do tratamento é a recorrência regional após a cirurgia. Tumores de grande tamanho, profundidade de invasão significativa, margens de ressecção insuficientes e metástases para linfonodos cervicais são considerados fatores prognósticos desfavoráveis. É de grande importância clínica prever o comportamento biológico do CCEO em seu estágio inicial e não em estágio avançado. Pacientes com tumor em estágio inicial geralmente recebem tratamento com base no julgamento clínico e na prática institucional estabelecida. Assim, na maioria dos casos, os CCEOs em estágio inicial recebem tratamento multimodal apenas se forem considerados altamente agressivos. Logo, torna-se evidente a necessidade de buscar novas abordagens prognósticas que consigam indicar de forma mais eficiente o comportamento do tumor, para que um plano de tratamento adequado, individualizado e ideal seja oferecido aos pacientes, permitindo uma melhor tomada de decisão, manejo e capacidade de limitar o impacto do tratamento na qualidade de vida do paciente (fala, deglutição, mastigação, etc.). Os marcadores histológicos que possam prever com mais precisão a progressão do tumor são fatores interessantes nesse processo (Elseragy et al., 2022).

Embora inúmeras características clínicas, histopatológicas e moleculares sejam propostas como fatores prognósticos para o CCEO, ainda muito pouco é utilizado na prática clínica (Almangush et al., 2017). Uma das abordagens mais antigas na busca por marcadores biológicos para o CCEO é a identificação de características histopatológicas, isoladas ou em modelos (combinação de vários aspectos juntos), que possam indicar o comportamento biológico dos tumores (Sawazaki-Calone et al., 2015; Coletta et al., 2020). A ideia atrelada aos sistemas de gradação histopatológica é complementar as limitações do sistema de estadiamento TNM, e assim fornecer ao clínico ferramentas para desenvolver um plano de tratamento mais preciso e adequado para cada paciente (Almangush et al., 2015). O sistema de classificação histopatológica dos CCEOs preconizada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) leva em consideração o pleomorfismo celular, a produção de queratina e a presença de mitoses atípicas, e classifica os tumores em 3 níveis (bem diferenciado, moderadamente diferenciado e pobremente diferenciado). Um tumor maduro o suficiente para lembrar muito bem o seu tecido de origem, com grande produção de queratina e pouca ou nenhuma mitose atípica, é classificado como bem

diferenciado. Um tumor com muito pleomorfismo celular e nuclear e predominância de células imaturas, com numerosas mitoses atípicas e com pouca ou nenhuma produção de queratina é denominado pobremente diferenciado. Um tumor com aparência microscópica situada em algum local entre estes dois extremos é considerado um carcinoma moderadamente diferenciado (El-Naggar et al., 2017). Este sistema é conhecido por apresentar um pequeno valor preditivo para os pacientes com CCEO, porém, estudos recentes têm demonstrado que as características histopatológicas relacionadas ao processo de carcinogênese podem ser ferramentas úteis com potencial valor prognóstico, capazes de delinear melhor o comportamento biológico das células tumorais, auxiliando no entendimento da patogênese do CCEO a nível celular e molecular (Dolens et al., 2021). Devido a sua praticidade e amplo uso na prática diária, seria desejável que o sistema de graduação histopatológica recomendado pela OMS fosse revisado e que novos parâmetros histológicos fossem incrementados a fim de melhorar o seu desempenho prognóstico (Elseragy et al., 2019).

As características histológicas do tumor e seus tecidos circundantes desempenham um papel importante no diagnóstico de biópsias tumorais e estão se tornando cada vez mais evidentes. Muitos marcadores prognósticos relacionados à HE foram introduzidos em estudos recentes. Apesar de apresentarem bom valor prognóstico para o CCEO em língua com estágio inicial, não estão incluídos na implementação clínica. Exemplos de tais marcadores incluem brotamento tumoral, o pior padrão de invasão (WPOI), relação tumor-estroma (TSR), linfócitos infiltrantes de tumor (TILs) e fenômeno célula-a-célula (Dolens et al., 2021).

A resposta imune é um dos principais determinantes que influenciam a sobrevivência de pacientes com câncer. Além disso, a imunoterapia está atualmente implementada nos regimes de tratamento padrão de pacientes com câncer de cabeça e pescoço recorrentes e/ou metastáticos (Almangush et al., 2022). Diversos estudos sugeriram avaliar a resposta imune como parte da graduação histopatológica do CCEO ao longo dos anos, no entanto, a avaliação dos determinantes imunológicos de um paciente com câncer ainda não é considerada no planejamento do tratamento do CCEO. Logo, há a necessidade de identificar biomarcadores imunológicos confiáveis e simples para otimizar ainda mais a estratificação de risco e estratégias de tratamento subsequentes. Estudos recentes têm mostrado que o microambiente imune tumoral

(TIME) desempenha um papel crítico no processo de carcinogênese. De acordo com critérios amplos, o TIME é definido como a composição do infiltrado imune e o caráter da resposta inflamatória (Badalamenti et al., 2019). Pesquisas atuais em imunooncologia e biomarcadores de câncer sublinharam a importância dos linfócitos infiltrantes de tumor (TILs) como um indicador prognóstico promissor em vários tipos de tumores, incluindo os tumores de cabeça e pescoço. (Almangush et al., 2022).

Os TILs, são células presentes no TIME que podem limitar ou promover o crescimento e a metástase do tumor. Entre as diferentes populações de células imunes infiltrantes de tumor, incluindo macrófagos, células dendríticas e mastócitos, os TILs são considerados uma população selecionada de células T com maior reatividade imunológica específica contra células tumorais do que os linfócitos não infiltrantes (Badalamenti et al., 2019). Alguns receptores de superfície de células imunes, chamados receptores de checkpoint imunológico, podem inibir a atividade de linfócitos pró-inflamatórios, após a ligação com ligantes específicos. As células cancerosas exploram esses mecanismos para inativar os TILs a fim de escaparem da vigilância imunológica. (Badalamenti et al., 2019).

A avaliação dos TILs tem recebido atenção global como um promissor biomarcador prognóstico de câncer que pode auxiliar na tomada de decisão clínica. A prova de sua importância foi mostrada pela primeira vez no câncer de mama, onde os TILs são agora recomendados na classificação destes tumores. Evidências emergentes indicam que o significado dos TILs se estende a outros tipos de câncer, incluindo o câncer de cabeça e pescoço, e é de alta relevância clínica também como opção de tratamento, uma vez que a imunoterapia tem sido clinicamente validada como opção de tratamento eficaz para diversos tumores, como melanoma, câncer de pulmão de células não pequenas (CPNPC) e carcinoma de células renais (CCR) (Almangush et al., 2022). É notado pela literatura que sua quantificação no estroma pode ser usada como uma ferramenta prognóstica significativa para a previsão da sobrevida global, sobrevida específica da doença e sobrevida livre de doença. Evidências de estudos colaborativos recentes e meta-análises destacam esse processo como uma ferramenta útil em revelar o status da resposta imune e sua forte correlação com o resultado de sobrevivência, o que torna sua incorporação como parte do sistema de graduação do CCEO uma etapa importante ainda não implementada na prática patológica (Almangush et al., 2022).

Para o CCEO, a identificação do escore prognóstico baseado em características imunológicas foi recentemente introduzida por Zhou et al. (2020), que relataram um valor prognóstico promissor para determinado imuno escore. Porém, há uma necessidade urgente de estudos de validação para confirmar os achados sobre esses biomarcadores, e assim, direcionar a identificação de casos de CCEOs que possam se beneficiar dessa nova ferramenta prognóstica (Almangush et al., 2021).

Os TILs podem ser facilmente quantificados em lâminas coradas com eosina e hematoxilina (HE), que já fazem parte da rotina clínica, de diferentes subsítios de tumores de cabeça e pescoço, logo, são passíveis de serem implementados na prática diária. Inclusive, um método padronizado para a avaliação de TILs foi introduzido pelo International TILs Working Group (IIBWG) e tem mostrado bons resultados (Almangush et al., 2021). Há estudos que relatam que os critérios de avaliação do IIBWG foram usados de maneira simples ao quantificar TILs em lâminas HE de câncer de orofaringe e distinguir tumores com alto risco de baixa sobrevida, mas estudos de validação em outros subsítios da cabeça e pescoço ainda precisam ser considerados (Almangush et al., 2022).

O estudo de Almangush e colaboradores (2022) sobre o significado dos TILs nos cânceres de cabeça e pescoço, por meio de revisões sistemáticas e meta-análises, traz um arsenal de evidências relevantes. Como exemplo, a uma meta-análise de Ruitter et al. (2017) revelou um valor prognóstico favorável de infiltração de CD3, CD8 e FoxP3 no HNSCC com base em análises agrupadas de estudos de boa qualidade, com a maioria deles com baixo risco de viés. Além disso, em outra meta-análise publicada em 2020, Bisheshar e colaboradores encontraram um valor prognóstico favorável para CD56 e CD57. Em outro estudo recente, Borsetto e colaboradores (2021) descobriram, em dois subconjuntos de TILs, que CD4 e CD8 elevados estavam associados a um risco reduzido de morte por câncer de cabeça e pescoço. É digno de nota, quando Borsetto et al. conduziram meta-análises para subsítios de CCE de cabeça e pescoço, eles descobriram que o CD8 estava associado à sobrevida de cânceres de orofaringe e hipofaringe, mas nenhuma associação significativa foi encontrada com CCE oral ou laríngeo. Concentrando-se em PD-L1, no entanto, Yang et al. (2018) não encontraram valor significativo para sua expressão no CCE de cabeça e pescoço. Outras evidências apontadas pelo estudo de Heikkinen e colaboradores (2019) sugeriram que uma avaliação geral dos linfócitos infiltrantes de

tumor estromal (TILs) permite a estratificação de risco no CCEO de língua em estágio inicial. Meta-análises para subsítios específicos também foram realizadas. No CCE de laringe, por exemplo, uma meta-análise recente descobriu que os TILs no TME são um marcador prognóstico confiável (Rodrigo et al., 2021). Esta meta-análise incluiu estudos considerando a avaliação geral de TILs em cortes corados por HE e usando subconjuntos de TILs, incluindo CD8 e/ou CD3/CD4. No entanto, o pequeno número de estudos (<10 estudos) que foram incluídos em cada meta-análise e o pequeno número de casos (<100 pacientes) em muitos dos estudos incluídos foram destacados como uma deficiência.

Por fim, nota-se que a avaliação de TILs em lâminas coradas com HE pode ser um parâmetro útil além dos parâmetros prognósticos tradicionais que não avaliam a resposta imune, visto seu potencial em aumentar o desempenho prognóstico da classificação e auxiliar na tomada de decisão e planejamento do tratamento. No entanto, o papel dos TILs ainda é controverso no CCEO devido à alguns fatores e deve ser alvo de mais estudos para uma metodologia ainda mais padronizada e precisa (Almangush et al., 2022; Huang et al., 2019).

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo foi avaliar o impacto da TILs no prognóstico de pacientes com CCEO em estágio clínico inicial baseado na 8^o edição da classificação TNM.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Amostra

O estudo incluiu um total de 95 amostras de CCEO classificadas como tumores em estágio clínico inicial (estágio I-T1N0M0 ou estágio II-T2N0M0) com base na 8ª edição do sistema TNM. Os dados clínico-patológicos, incluindo idade, gênero, presença de hábitos nocivos (hábito de fumar e consumir bebidas alcoólicas), local do tumor, protocolo de tratamento, status da margem cirúrgica, sobrevida específica e sobrevida livre da doença (recorrência), foram coletados dos prontuários médicos. O seguimento pós-operatório variou de 6 a 178 meses e os casos de recidiva foram confirmados histologicamente. A sobrevida específica foi determinada como período entre o tratamento do paciente e a morte pelo tumor ou a última visita de acompanhamento e a sobrevida livre de doença foi o período entre o tratamento e a ocorrência da recorrência.

As lâminas histológicas coradas com hematoxilina e eosina (HE) das ressecções cirúrgicas foram recuperadas e o sistema de classificação histopatológica da OMS foi usado para classificar os tumores. O número de lâminas disponíveis do tumor primário para cada caso variou de 1 a 8. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da FOP-UNICAMP (CAAE: 55927322.0.0000.5418).

4.2 Classificação de TILs

Os TILs, definidos como a porcentagem da área do estroma tumoral ocupada por linfócitos, foram avaliados em cortes corados com HE seguindo as recomendações do International Immuno-Oncology Biomarker Working Group. Os TILs foram classificados no fronte mais invasivo do tumor. As lâminas foram avaliadas em objetivas de x4 para identificação do fronte invasivo, e em seguida, a porcentagem de TILs estimada em objetiva de x20 (aumento de 200x). Cinco campos distintos foram avaliados e a porcentagem de cada caso representa a média dos campos. O ponto de corte de 20% foi usado para separar tumores com alto e baixo TILs.

4.3 Análise estatística

As análises univariada e multivariada de regressão de Cox foram conduzidas para avaliar o impacto na sobrevida dos pacientes e um valor de $p \leq 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo

5 RESULTADOS

A idade dos pacientes variou de 31 a 87 anos (mediana de 62 anos) e em sua maioria pertenciam ao gênero masculino (n=70, 73,7%). Sessenta e dois (65,3%) pacientes relataram tabagismo ou são ex-tabagistas e 41 (43,1%) relataram consumo de bebidas alcoólicas. Os tumores localizavam-se majoritariamente na língua (n=66, 69,5%). Quanto ao tratamento, cirurgia como monoterapia foi realizada em 46 (48,4%) dos pacientes, enquanto 25 (26,3%) foram tratados por combinação de cirurgia e radioterapia pós-operatória e 24 (25,3%) tiveram a combinação de cirurgia, radioterapia e quimioterapia pós-operatória. Setenta e oito (82,1%) casos tiveram margens cirúrgicas com mais de 5 mm (livres), enquanto 17 tiveram as margens com menos de 5 mm (exíguas ou envolvidas). Após o tratamento os pacientes foram acompanhados por um período variando de 6 a 178 meses e todos os casos de recorrência foram confirmados por análise histopatológica. Durante o acompanhamento, 25,3% (n=24) dos pacientes tiveram recorrência, enquanto 26,3% (n=25) morreram devido à doença.

Histologicamente, 32 (33,7%) foram classificados como bem diferenciados, 53 (55,8%) como moderadamente e apenas 10 (10,5%) como pobremente diferenciados segundo o sistema da OMS. Para a quantificação dos linfócitos infiltrantes do tumor, utilizamos as porcentagens de 20% (<20% e ≥20%) a fim de dicotomizar os grupos. A maior parte dos tumores (n=80, 84,2%) apresentou TILs ≥20% (Fig. 1).

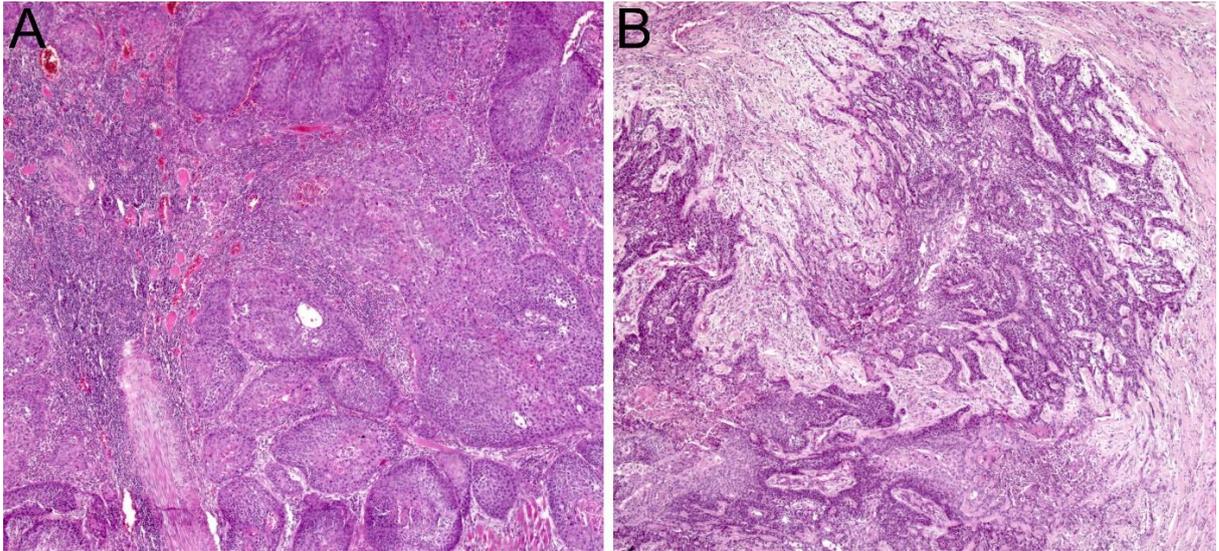


Figura 1 - Amostras representativas da classificação dos linfócitos infiltrantes do tumor (TILs) em pacientes com CCEO. (A) Tumor classificado com alto grau de TILs: numerosos linfócitos presentes no tecido estromal. (B) Tumor classificado com baixo grau de TILs: alguns linfócitos no tecido estromal.

Tabela 1 - Características clínico-patológicas de 95 pacientes com CCEO em estágio inicial incluídos neste estudo.

Característica	No. de pacientes	%
Idade (anos)		
Média ± DP	60,5 ± 11,6	
Variação	31-87	
Gênero		
Homem	70	73,7
Mulher	25	26,3
Tabagismo		
Não	17	17,9
Sim	62	65,3
Sem dados	16	16,8
Alcoolismo		
Não	30	31,6
Sim	49	51,6
Sem dados	16	16,8
Estádio clínico (8ª edição)		
I	33	34,7
II	62	65,3
Localização		
Língua	66	69,5
Outros sítios orais	29	30,5
Tratamento		
Cirurgia	46	48,4
Cirurgia + Radioterapia	25	26,3
Cirurgia + Radioterapia + Quimioterapia	24	25,3
Status da Margem Cirúrgica		
≥5 mm	78	82,1
<5 mm	17	17,9
Recorrência		
Não	69	72,6
Sim	24	25,3
Status		
Vivo	70	73,7
Morto pela doença	25	26,3
Grau histológico		
Bem diferenciado	32	33,7
Moderadamente diferenciado	53	55,8
Pobremente diferenciado	10	10,5
Linfócitos infiltrantes do tumor (TILs)		
<20%	15	15,8
≥20%	80	84,2

Na análise univariada, pacientes com baixa densidade de TILs (<20%) tiveram pior sobrevida (HR: 6,58; IC 95%: 1,81-23,8; p=0,004) do que aqueles com alta proporção de TILs (≥20%), mas nenhum impacto na sobrevida livre de doença foi observado. O estágio clínico dos tumores foi significativamente associado com a sobrevida dos pacientes. Os casos em estágio II foram associados a pior sobrevida e maior taxa de recorrência em comparação com casos de estágio I (Tabela 2).

Tabela 2 - Análise univariada para sobrevida específica e sobrevida livre da doença de 95 pacientes com CCEO em estágio inicial.

	% em 5 anos	Sobrevida específica		Sobrevida livre de doença		
		HR (95% IC)	p valor	% em 5 anos	HR (95% IC)	p valor
Idade (anos)						
≥62 anos	70,7	1		60,5	1	
>62 anos	62,6	1,46 (0,67-3,17)	0,33	65,5	0,75 (0,36-1,57)	0,45
Gênero						
Masculino	71,0	1		65,6	1	
Feminino	62,1	1,67 (0,68-4,09)	0,26	61,1	1,02 (0,44-2,31)	0,96
Estadio clínico (8 ^ª ed.)						
I	89,3	1		84,4	1	
II	56,2	2,59 (1,16-5,79)	0,02	59,5	2,26 (1,05-4,87)	0,04
Localização						
Língua	61,8	1		59,9	1	
Outros	68,3	0,84 (0,35-1,99)	0,69	79,2	0,64 (0,27-1,51)	0,32
Tratamento						
Cirurgia	71,0	1		68,8	1	
Cirurgia + Radioterapia	71,3	0,96 (0,39-2,34)	0,94	76,2	0,78 (0,33-1,80)	0,71
Surgery + Radioterapia + Quimioterapia	48,9	2,22 (0,79-6,23)	0,07	38,9	1,95 (0,76-4,94)	0,12
Status da margem cirúrgica						
≥5 mm	69,5	1		65,9	1	
<5 mm	41,0	2,04 (0,61-6,78)	0,24	46,7	1,18 (0,42-3,29)	0,75
Classificação histológica (OMS)						
Bem diferenciado	64,7	1		58,0	1	
Moderadamente e Pobremente diferenciado	67,7	0,88 (0,39-1,95)	0,75	66,9	0,97 (0,44-2,11)	0,94
Linfócitos infiltrantes de tumor (TILs)						
≥20% (alta densidade)	72,9	1		68,1	1	
<20% (baixa densidade)	27,8	6,58 (1,81-23,8)	0,004	42,6	1,86 (0,63-5,44)	0,25

TILs e estágio clínico são parâmetros independentemente associados a sobrevida dos pacientes (Tabela 3). A análise multivariada revelou que TILs (<20%) é um fator de risco para pior sobrevida específica (HR: 2,94; 95% IC: 1,10-10,8; p=0,02). O mesmo foi observado para tumores em estágio clínico II, que demonstraram um pior prognóstico comparado a tumores em estágio clínico I (HR: 3,75; 95% IC: 1,15-12,2; p=0,03). Nenhum fator foi associado à sobrevida livre de doença.

Tabela 3 - Análise multivariada para sobrevida específica e sobrevida livre de doença dos 95 pacientes com CCEO em estágio inicial.

	Sobrevida específica		Sobrevida livre de doença	
	HR (95% IC)	p valor	HR (95% IC)	p valor
Idade (anos)	1,38 (0,60-3,16)	0,44	1,18 (0,55-2,57)	0,66
Gênero	1,91 (0,76-4,82)	0,17	0,97 (0,37-2,51)	0,95
Estadio clínico (8 ^ª ed.)	3,75 (1,15-12,2)	0,03	2,61 (0,97-7,06)	0,06
Localização	1,44 (0,58-3,58)	0,43	0,58 (0,21-1,61)	0,30
Tratamento	1,32 (0,69-2,50)	0,39	1,35 (0,77-2,37)	0,29
Status da margem cirúrgica	1,67 (0,58-2,53)	0,56	0,52 (0,16-1,64)	0,27
Classificação histológica (OMS)	1,38 (0,67-2,81)	0,38	0,83 (0,38-1,80)	0,65
Linfócitos infiltrantes de tumor (TILs)	2,94 (1,10-10,8)	0,02	1,37 (0,48-2,84)	0,44

6 DISCUSSÃO

O CCEO é um dos tumores mais prevalentes no mundo, com taxas de mortalidade e morbidade bastante altas (Bray et al., 2018. Yao et al., 2019). Devido ao seu comportamento imprevisível e heterogêneo, até tumores classificados em estágios iniciais (sobretudo os encontrados na língua e no assoalho da boca) podem apresentar grande agressividade, com tendência aumentada para invasão e metástase (Coletta et al., 2020). Isso torna evidente a necessidade de novas abordagens terapêuticas e prognósticas que consigam indicar de forma mais eficiente o comportamento do tumor, pois apesar dos avanços, apenas metade dos pacientes com CCEO sobrevivem por um período superior a 5 anos após o diagnóstico (Chinn e Myers, 2015). Devido a sua praticidade e amplo uso na prática diária, seria desejável que o sistema de gradação histopatológica recomendado pela OMS fosse revisado e que novos parâmetros histológicos fossem incrementados a fim de melhorar o seu desempenho prognóstico (Elseragy et al., 2019). Esse estudo avaliou o impacto de TILs no prognóstico de pacientes com CCEO em estágio inicial, visto que além de promissor, a quantificação de TILs é de baixo custo, fácil de avaliar, factível e reproduzível.

Em nossa amostra de 95 pacientes com CCEO em estágio inicial, a maioria das características dos pacientes no presente estudo foi semelhante às descritas em estudos anteriores (Müller et al., 2017). A maior parte dos pacientes afetados foram homens (n=70, 73,7%) entre a quinta e a sexta décadas de vida que tiveram contato frequente com tabaco e/ou álcool. A relação homem-mulher foi de 2,8:1, a mediana de idade no diagnóstico foi 62 anos e o histórico de tabagismo e consumo de bebida alcoólica foi relatado por 65,3% e 51,6% dos pacientes, respectivamente. As diferenças de gênero são atribuíveis a maior exposição aos hábitos de risco (tabaco e álcool) pelo sexo masculino. Embora ainda alta, essa proporção entre homens e mulheres com câncer oral vem diminuindo ao longo de décadas, possivelmente reflexo do aumento do número de mulheres que também fazem uso desses produtos carcinogênicos.

O microambiente tumoral promove aspectos essenciais para a proliferação, invasão e metástase das células cancerosas, e pesquisas recentes tem demonstrado que diversos fatores envolvidos nesse processo podem apresentar grande potencial

prognóstico, como os TILs. No CCEO, os TILs, representados pela porcentagem da área do estroma tumoral ocupada por linfócitos, têm sido constantemente associados a sobrevida dos pacientes, assim como demonstrado na meta análise de Almangush e colaboradores (2022). Embora a resposta inflamatória seja considerada como uma tentativa do organismo para erradicar as células tumorais, seu papel prognóstico, na dependência de populações de células complexas, gera alguns resultados incertos no CCE. No entanto, após o protocolo padronizado de 2017 para a avaliação dos TILs com base em lâminas coradas de HE, uma associação significativa foi verificada em variados estudos, a qual demonstrou que uma baixa densidade de TILs frequentemente está relacionada a um pior desfecho clínico (Heikkinen et al., 2019; Almangush et al., 2020). Logo, percebe-se que as diretrizes introduzidas obtiveram sucesso em estudos de câncer de cabeça e pescoço que avaliaram TILs em lâminas coradas com HE (Rodrigo et al., 2021). Em nosso estudo, utilizamos as recomendações do International Immuno-Oncology Biomarker Working Group. Os TILs foram dicotomizados em um ponto de corte de 20%, separando-os baixa densidade (<20%) e alta densidade (>20%). Foi observado que a baixa densidade de TILs (<20%) associou-se a uma menor sobrevida específica da doença, relacionada ao maior risco de recorrência (HR: 2,94; 95% IC: 1,10-10,8; p=0,02), o que foi consistente com os outros estudos.

7 CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo revelaram que a baixa densidade de TILs (<20%) é um fator de pior sobrevida específica para pacientes com CCEO em estágio clínico inicial. Como essa análise é de baixo custo, fácil de avaliar, factível e reproduzível, a validação deve ser alvo de mais estudos futuros.

REFERÊNCIAS^{1*}

1. Almangush A, Coletta RD, Bello IO, Bitu C, Keski-Säntti H, Mäkinen LK, et al. A simple novel prognostic model for early stage oral tongue cancer. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2015 Feb;44(2):143-50. doi: 10.1016/j.ijom.2014.10.004.
2. Almangush A, Heikkinen I, Mäkitie AA, Coletta RD, Läärä E, Leivo I, et al. Prognostic biomarkers for oral tongue squamous cell carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *Br J Cancer*. 2017 Sep;117(6):856-66. doi: 10.1038/bjc.2017.244.
3. Almangush A, Mäkitie AA, Triantafyllou A, de Bree R, Strojan P, Rinaldo A, et al. Staging and grading of oral squamous cell carcinoma: An update. *Oral Oncol*. 2020 Aug;107:104799. doi: 10.1016/j.oraloncology.2020.104799.
4. Almangush A, Leivo I, Mäkitie AA. Biomarkers for Immunotherapy of Oral Squamous Cell Carcinoma: Current Status and Challenges. *Front Oncol*. 2021 Mar 8;11:616629. doi: 10.3389/fonc.2021.616629.
5. Almangush A, De Keukeleire S, Rottey S, Ferdinande L, Vermassen T, Leivo I, et al. Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Head and Neck Cancer: Ready for Prime Time? *Cancers (Basel)*. 2022 Mar;14(6):1558. doi: 10.3390/cancers14061558.
6. Amin MB, Greene FL, Edge SB, Compton CC, Gershewald JE, Brookland RK, et al. The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more "personalized" approach to cancer staging. *CA Cancer J Clin*. 2017 Mar;67(2):93-9. doi: 10.3322/caac.21388.
7. Badalamenti G, Fanale D, Incorvaia L, Barraco N, Listì A, Maragliano R, et al. Role of tumor-infiltrating lymphocytes in patients with solid tumors: Can a drop dig a stone? *Cell Immunol*. 2019 Sep;343:103753. doi: 10.1016/j.cellimm.2018.01.013.

^{1*} De acordo com as normas da UNICAMP/FOP, baseadas na padronização do International Committee of Medical Journal Editors - Vancouver Group. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o PubMed.

8. Bisheshar SK, De Ruiter EJ, Devriese LA, Willems SM. The prognostic role of NK cells and their ligands in squamous cell carcinoma of the head and neck: a systematic review and meta-analysis. *Oncoimmunology*. 2020 Apr;9(1):1747345. doi: 10.1080/2162402X.2020.1747345.
9. Borsetto D, Tomasoni M, Payne K, Polesel J, Deganello A, Bossi P, et al. Prognostic Significance of CD4+ and CD8+ Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma: A Meta-Analysis. *Cancers (Basel)*. 2021 Feb;13(4):781. doi: 10.3390/cancers13040781.
10. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2018 Nov;68(6):394-424. doi: 10.3322/caac.21492.
11. Chinn SB, Myers JN. Oral Cavity Carcinoma: Current Management, Controversies, and Future Directions. *J Clin Oncol*. 2015 Oct;33(29):3269-76. doi: 10.1200/JCO.2015.61.2929.
12. Coletta RD, Yeudall WA, Salo T. Grand Challenges in Oral Cancers. *Front Oral Health*. 2020 Jun;1:3. doi: 10.3389/froh.2020.00003.
13. da Silva SD, Kowalski LP. Perineural invasion in oral cancer: challenges, controversies and clinical impact. *Chin Clin Oncol*. 2019 Oct;8(S1):S5. doi: 10.21037/cco.2018.11.04.
14. de Ruiter EJ, de Roest RH, Brakenhoff RH, Leemans CR, de Bree R, Terhaard CHJ, et al. Digital pathology-aided assessment of tumor-infiltrating T lymphocytes in advanced stage, HPV-negative head and neck tumors. *Cancer Immunol Immunother*. 2020 Apr;69(4):581-91. doi: 10.1007/s00262-020-02481-3.
15. Dolens EDS, Dourado MR, Almangush A, Salo TA, Gurgel Rocha CA, da Silva SD, et al. The Impact of Histopathological Features on the Prognosis of Oral Squamous Cell Carcinoma: A Comprehensive Review and Meta-Analysis. *Front Oncol*. 2021 Nov;11:784924. doi: 10.3389/fonc.2021.784924.
16. El-Naggar AK, Chan J, Grandis J, Takata T, Slootweg P, editors. WHO classification of head and neck tumours. 4th ed. IARC Publications; 2017. p.105-11.

17. Elseragy A, Salo T, Coletta RD, Kowalski LP, Haglund C, Nieminen P, et al. A Proposal to Revise the Histopathologic Grading System of Early Oral Tongue Cancer Incorporating Tumor Budding. *Am J Surg Pathol*. 2019 May;43(5):703-9. doi: 10.1097/PAS.0000000000001241.
18. Elseragy A, Bello IO, Wahab A, Coletta RD, Mäkitie AA, Leivo I, et al. Emerging histopathologic markers in early-stage oral tongue cancer: A systematic review and meta-analysis. *Head Neck*. 2022 Jun;44(6):1481-91. doi: 10.1002/hed.27022.
19. Feller L, Altini M, Lemmer J. Inflammation in the context of oral cancer. *Oral Oncol*. 2013 Sep;49(9):887-92. doi: 10.1016/j.oraloncology.2013.07.003.
20. Ganly I, Patel S, Shah J. Early stage squamous cell cancer of the oral tongue-- clinicopathologic features affecting outcome. *Cancer*. 2012 Jan;118(1):101-11. doi: 10.1002/cncr.26229.
21. Georgaki M, Theofilou VI, Pettas E, Stoufi E, Younis RH, Kolokotronis A, et al. Understanding the complex pathogenesis of oral cancer: A comprehensive review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2021 Nov;132(5):566-79. doi: 10.1016/j.oooo.2021.04.004.
22. Heikkinen I, Bello IO, Wahab A, Hagström J, Haglund C, Coletta RD, et al. Assessment of Tumor-infiltrating Lymphocytes Predicts the Behavior of Early-stage Oral Tongue Cancer. *Am J Surg Pathol*. 2019 Oct;43(10):1392-6. doi: 10.1097/PAS.0000000000001323.
23. Huang Z, Xie N, Liu H, Wan Y, Zhu Y, Zhang M, et al. The prognostic role of tumour-infiltrating lymphocytes in oral squamous cell carcinoma: A meta-analysis. *J Oral Pathol Med*. 2019 Oct;48(9):788-98. doi: 10.1111/jop.12927.
24. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2020: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA; 2019.
25. Kowalski S, Wyrzykowski D, Inkielewicz-Stępnia I. Molecular and Cellular Mechanisms of Cytotoxic Activity of Vanadium Compounds against Cancer Cells. *Molecules*. 2020 Apr;25(7):1757. doi: 10.3390/molecules25071757.

26. Kumar S, Noronha V, Patil V, Joshi A, Menon N, Prabhash K. Advances in pharmacotherapy for head and neck cancer. *Expert Opin Pharmacother*. 2021 Oct;22(15):2007-18. doi: 10.1080/14656566.2021.1948011.
27. Miranda-Filho A, Bray F. Global patterns and trends in cancers of the lip, tongue and mouth. *Oral Oncol*. 2020 Mar;102:104551. doi: 10.1016/j.oraloncology.2019.104551.
28. Müller S. Update from the 4th Edition of the World Health Organization of Head and Neck Tumours: Tumours of the Oral Cavity and Mobile Tongue. *Head Neck Pathol*. 2017 Mar;11(1):33-40. doi: 10.1007/s12105-017-0792-3.
29. Rodrigo JP, Sánchez-Canteli M, López F, Wolf GT, Hernández-Prera JC, Williams MD, et al. Tumor-Infiltrating Lymphocytes in the Tumor Microenvironment of Laryngeal Squamous Cell Carcinoma: Systematic Review and Meta-Analysis. *Biomedicines*. 2021 Apr;9(5):486. doi: 10.3390/biomedicines9050486.
30. Salgado R, Denkert C, Demaria S, Sirtaine N, Klauschen F, Pruneri G, et al. The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: recommendations by an International TILs Working Group 2014. *Ann Oncol*. 2015 Feb;26(2):259-71. doi: 10.1093/annonc/mdu450.
31. Sawazaki-Calone I, Rangel A, Bueno AG, Morais CF, Nagai HM, Kunz RP, et al. The prognostic value of histopathological grading systems in oral squamous cell carcinomas. *Oral Dis*. 2015 Sep;21(6):755-61. doi: 10.1111/odi.12343.
32. Silva GVD, da Silva Dolens E, Paranaíba LMR, Ayroza ALC, Gurgel Rocha CA, Almangush A, et al. Exploring the combination of tumor-stroma ratio, tumor-infiltrating lymphocytes, and tumor budding with WHO histopathological grading on early-stage oral squamous cell carcinoma prognosis. *J Oral Pathol Med*. 2022 Sep 23. doi: 10.1111/jop.13359.
33. Subramaniam N, Clark JR, Goldstein D, de Almeida J, Abdalaty AHA, Balasubramanian D, et al. Geographical heterogeneity in the American Joint committee on Cancer oral cancer staging and prognostic implications. *Oral Oncol*. 2021 Feb;113:105122. doi: 10.1016/j.oraloncology.2020.105122.
34. The Oral Cancer Foundation. Oral Cancer Facts. Disponível em: <https://oralcancerfoundation.org/facts>.

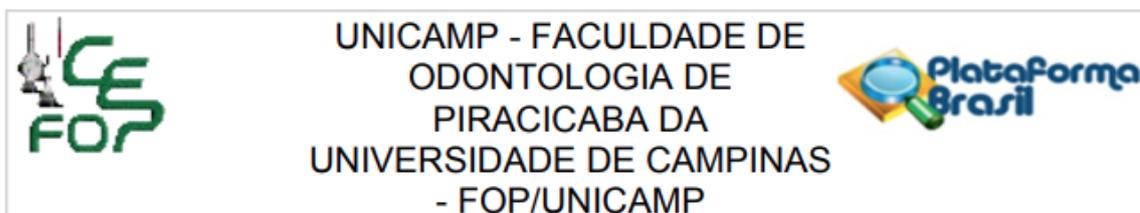
35. Warnakulasuriya S, Kerr AR. Oral Cancer Screening: Past, Present, and Future. *J Dent Res.* 2021 Nov;100(12):1313-20. doi: 10.1177/00220345211014795.
36. Warnakulasuriya S, Kujan O, Aguirre-Urizar JM, Bagan JV, González-Moles MÁ, Kerr AR, et al. Oral potentially malignant disorders: A consensus report from an international seminar on nomenclature and classification, convened by the WHO Collaborating Centre for Oral Cancer. *Oral Dis.* 2021 Nov;27(8):1862-80. doi: 10.1111/odi.13704.
37. Wong T, Wiesenfeld D. Oral Cancer. *Aust Dent J.* 2018 Mar;63 Suppl 1:S91-S99. doi: 10.1111/adj.12594.
38. Yang WF, Wong MCM, Thomson PJ, Li KY, Su YX. The prognostic role of PD-L1 expression for survival in head and neck squamous cell carcinoma: A systematic review and meta-analysis. *Oral Oncol.* 2018 Nov;86:81-90. doi: 10.1016/j.oraloncology.2018.09.016.
39. Yao CMKL, Chang EI, Lai SY. Contemporary Approach to Locally Advanced Oral Cavity Squamous Cell Carcinoma. *Curr Oncol Rep.* 2019 Nov;21(11):99. doi: 10.1007/s11912-019-0845-8.
40. Zhou C, Diao P, Wu Y, Wei Z, Jiang L, Zhang W, et al. Development and validation of a seven-immune-feature-based prognostic score for oral squamous cell carcinoma after curative resection. *Int J Cancer.* 2020 Feb;146(4):1152-63. doi: 10.1002/ijc.32571.
41. Zhou Y, Tian Q, Wang BY, Yang J, Zhao SD, Yang J. The prognostic significance of TILs as a biomarker in triple-negative breast cancer: what is the role of TILs in TME of TNBC? *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2021 Apr;25(7):2885-97. doi: 10.26355/eurrev_202104_25542.

ANEXOS

Anexo 1 – Verificação de originalidade e prevenção de plágio



Anexo 2 – Comitê de Ética em Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: O potencial das características histopatológicas e imuno-histoquímicas no prognóstico nos carcinomas de células escamosas oral

Pesquisador: Ricardo Della Coletta

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 55927322.0.0000.5418

Instituição Proponente: Faculdade de Odontologia de Piracicaba - Unicamp

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.322.300

Apresentação do Projeto:

O parecer inicial é elaborado com base na transcrição editada do conteúdo do registro do protocolo na Plataforma Brasil e dos arquivos anexados à Plataforma Brasil. Os pareceres de retorno, emendas e notificações são elaborados a partir do último parecer e dos dados e arquivos da última versão apresentada. A EQUIPE DE PESQUISA citada na capa do projeto de pesquisa inclui, em ordem alfabética, exceto pesquisador responsável, RICARDO DELLA COLETTA (Cirurgião Dentista, Docente da área de Patologia da FOP-UNICAMP, Pesquisador responsável), ANA LUCIA CARRINHO AYROZA RANGEL (Cirurgiã Dentista, Docente da área de Patologia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE), BRUNO CESAR DA COSTA (Graduando no curso de Odontologia da FOP-UNICAMP), EDER DA SILVA DOLENS (Cirurgião Dentista, Doutorando no PPG em Biologia Buco-Dental da FOP-UNICAMP), GABRIELA VIVILI DOMINGUES SILVA (Graduanda no curso de Odontologia da FOP-UNICAMP), LILIANNY QUERINO ROCHA DE OLIVEIRA (Cirurgiã Dentista, Mestranda no PPG em Biologia Buco-Dental da FOP-UNICAMP), MARCELO ROCHA MARQUES (Cirurgião Dentista, Docente da área de Patologia da FOP-UNICAMP), o que é confirmado na declaração dos pesquisadores e na PB.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PIRACICABA, 30 de Março de 2022

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

Anexo 3 – Iniciação Científica

11/10/22, 9:59 AM

SAGe - Sistema de Apoio à Gestão



VISUALIZAÇÃO DE DESPACHO

Processo	2021/13595-9
Linha de Fomento	Programas Regulares / Bolsas / No País / Iniciação Científica - Fluxo Contínuo
Situação	Em Execução
Vigência	01/03/2022 a 28/02/2023
Beneficiário	Gabriela Vivli Domingues Silva
Responsável	Ricardo Della Coletta
Vínculo Institucional do Processo	Faculdade de Odontologia de Piracicaba/FOF/UNICAMP
Título	Impacto prognóstico da associação do sistema de classificação histopatológica com budding tumoral, proporção tumor-estroma e linfócitos infiltrantes do tumor em pacientes com carcinoma de células escamosas oral em estágio clínico inicial.

Folha de Despacho

Datas do Despacho

Emitido em : 29/08/2022

Objetos de análise

Objeto de análise	Data de Submissão	Resultado
Relatório Científico 1	08/08/2022	Aprovado

Observações / Transcrições / Frases

Observações ao Responsável

Comunicamos que o Relatório Científico de Progresso da bolsa em questão foi preliminarmente analisado pela Coordenação de Área da FAPESP. O Relatório Científico de Progresso será encaminhado juntamente com o Relatório Científico Final para análise e emissão do parecer da assessoria, conforme normas para Relatório Científico de Iniciação Científica disponível em [_http://www.fapesp.br/248258](http://www.fapesp.br/248258)

Atenciosamente,

Luiz Eugênio A. M. Mello
Diretor Científico da FAPESP

Frases para o Responsável

Não há frases associadas.

Transcrição de Parecer para o Responsável

Não há transcrição associada.

Frases para Termo de Outorga

Não há frases associadas.

Relatório Científico 1 (Aprovado)

Compromisso	10/08/2022
Período Relacionado	01/03/2022 a 10/08/2022
Situação	Atendido