



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José dos Campos
Instituto de Ciência e Tecnologia

CHARLES ALEX RAUEN

**MARCADORES IMUNO-HISTOQUÍMICOS DE
PROGNÓSTICO PARA CARCINOMA DE CÉLULAS
ESCAMOSAS EM PACIENTES ADULTOS JOVENS: revisão
sistemática**

2022

CHARLES ALEX RAUEN

**MARCADORES IMUNO-HISTOQUÍMICOS DE PROGNÓSTICO
PARA CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS EM PACIENTES
ADULTOS JOVENS: revisão sistemática**

Dissertação apresentada ao Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de São José dos Campos, como parte dos requisitos para a obtenção do título de MESTRE pelo Programa de Pós-Graduação em BIOPATOLOGIA BUCAL.

Área: Patologia Bucal. Linha de pesquisa: Inflamação, reparação tecidual e patologia do sistema estomatognático

Orientadora: Profa. Associada Estela Kaminagakura Tango

São José dos Campos

2022

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2022]. Disponível em <http://www.ict.unesp.br/biblioteca/normalizacao>

Apresentação gráfica e normalização de acordo com as normas estabelecidas pelo Serviço de Normalização de Documentos da Seção Técnica de Referência e Atendimento ao Usuário e Documentação (STRAUD).

Rauen, Charles Alex

Marcadores imuno-histoquímicos de prognóstico para carcinoma de células escamosas em pacientes adultos jovens: revisão sistemática / Charles Alex Rauen. - São José dos Campos : [s.n.], 2022.
93 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Biopatologia Bucal) - Pós-graduação em Biopatologia Bucal - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2022.

Orientador: Estela Kaminagakura Tango.

1. Análise de sobrevivência. 2. Neoplasias bucais. 3. Protocolos antineoplásicos. I. Tango, Estela Kaminagakura, orient. II. Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos. III. Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' - Unesp. IV. Universidade Estadual Paulista (Unesp). V. Título.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Assoc. Estela Kaminagakura Tango (Orientador)

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Prof. Assoc. Danyel Elias da Cruz Perez

Universidade Federal de Pernambuco

Campus Recife

Profa. Assoc. Sergio Lúcio Pereira de Castro Lopes

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

São José dos Campos, 01 de agosto de 2022.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais Ideraldo e Leocadia pelo apoio e incentivo incondicionais em toda esta jornada em busca dos meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” UNESP, na pessoa da diretora do Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos, Rebeca Di Nicoló.

Ao Programa de Pós-graduação em Biopatologia Bucal, na pessoa da coordenadora professora associada Luciane Dias de Oliveira.

Aos funcionários da secretaria de pós-graduação Sandra Mara Cordeiro, Carolina Lourenço Rei e José Marcos da Silva por toda a atenção e disponibilidade.

A minha orientadora, Estela Kaminagakura Tango, por todo o tempo dedicado no objetivo de me tornar um aluno e profissional melhor, guiando-me para a realização de um trabalho de excelência.

Agradeço a todos os professores do ICT-Unesp, que se reinventaram para manter o cronograma das aulas e a melhor qualidade do ensino possível diante de uma situação jamais vista, que foi a pandemia da covid-19.

Aos meus colegas de pós-graduação por dividirem experiências e conhecimento sem nenhum tipo de egoísmo, fazendo-me sentir sempre parte de um todo, compartilhando um sonho em comum: uma vida baseada em fortes alicerces de trabalho e honestidade. Em especial à Kamilla Alves Santos, Maria Leticia De Almeida Lança e Mateus José Dutra pela amizade e companheirismo.

Às professoras Marianne Spalding e Luana Marotta Reis de Vasconcellos por acreditarem em meu trabalho no estágio de docência.

Aos professores Rubens Nisie Tango, Ademar Takahama Jr, Danyel Elias da Cruz Perez, Fabio Ito, Paulo Bonan e Taciana Marco Ferraz Caneppele pela ajuda fundamental para a boa evolução deste trabalho.

Aos meus colegas de trabalho e amigos Bruno Henrique de Oliveira, Rodrigo Querubim e Fabricio Leite pela compreensão quando desfalquei o trabalho em equipe em prol da minha formação.

A minha querida companheira Laís Ribas Schutzky pela prontidão em me ajudar com a organização pessoal e profissional para que tudo andasse da melhor maneira possível.

Aos meus amigos que dividiram momentos com palavras de incentivo para me manter forte nesta caminhada.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para o desenvolvimento e concretização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

“Enquanto você sonha, você está fazendo o rascunho do seu futuro. ”

Charles Chaplin

SUMÁRIO

RESUMO	23
ABSTRACT	25
1 INTRODUÇÃO	15
2 PROPOSIÇÃO	24
2.1 Objetivo geral	24
2.2 Objetivo específico.....	24
3 MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1 Tipo de estudo.....	26
3.2 Local.....	27
3.3 Tamanho da amostra	27
3.4 Tipo de estudos incluídos	27
3.5 Tipo de população	27
3.6 Tipos de intervenções	28
3.7 Comparações	28
3.8 Tipos de medidas do resultado	28
3.8.1 Desfechos primários	29
3.8.2 Desfechos secundários	29
3.9 Critérios de Elegibilidade dos estudos.....	30
3.10 Fontes de Informação e Estratégias de Busca.....	31
3.10.1 Pesquisa de outros recursos - literatura cinzenta	34
3.11 Seleção dos estudos e coleta dos dados	34
3.12 Extração dos dados.....	35
3.13 Análise dos dados da extração	40
3.13.1 Risco de viés	40
3.13.1.1 Características da população do estudo (viés de seleção)	40

3.13.1.2 Desistências do estudo (viés de atrito)	41
3.13.1.3 Medição do fator prognóstico	41
3.13.1.4 Medição de resultados	41
3.13.1.5 Fatores de confundimento	42
3.13.1.6 Análise estatística e registro dos dados.....	42
4 RESULTADOS.....	43
4.1 Resultados da busca na literatura	43
4.2 PRISMA 2009 Diagrama de Fluxo	45
4.3 Características dos estudos selecionados.....	46
4.4 Tipos de intervenção	53
4.4.1 Proteínas avaliadas	53
4.4.2 Dados demográficos e hábitos dos pacientes.....	54
4.4.3 Características das neoplasias	55
4.5 Desfechos.....	55
4.6 Avaliação do risco de viés	61
4.6.1 Características da população do estudo (viés de seleção).....	61
4.6.2 Desistências do estudo (viés de atrito)	62
4.6.3 Medição do fator prognóstico	62
4.6.4 Medição de resultados	63
4.6.5 Fatores de confundimento	63
4.6.6 Análise estatística e registro dos dados	64
5 DISCUSSÃO.....	65
6 CONCLUSÃO	72
REFERÊNCIAS.....	73
ANEXOS.....	92

Rauen CA. Marcadores imuno-histoquímicos de prognóstico para carcinoma de células escamosas em pacientes adultos jovens: revisão sistemática.[dissertação]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, 2022.

RESUMO

Antecedentes: o carcinoma de células escamosas de boca (CCEB) é a neoplasia maligna mais frequente na região de cabeça e pescoço. Ao longo dos últimos anos, observou-se um aumento da incidência dessa neoplasia em pacientes jovens (≤ 40 anos), com controvérsias a respeito do prognóstico em relação aos pacientes com mais de 40 anos. Tradicionalmente, para se estabelecer o prognóstico dessas lesões, são correlacionados dados clínicos e histopatológicos, além do crescente uso de biomarcadores da carcinogênese pelo método da imuno-histoquímica (IHQ) que possuem relação com características biológicas das neoplasias e podem prever o seu prognóstico. **Objetivo:** avaliar, por meio de uma revisão sistemática da literatura, marcadores de IHQ para determinar o prognóstico em adultos jovens portadores de CCEB em boca. **Fontes de dados:** Pubmed, Web of Science, Scopus, Embase, Lilacs e Proquest. **Métodos de avaliação:** a busca por Estudos retrospectivos, longitudinais, de coorte e casos controle totalizou 11.798 artigos. Após a remoção de duplicatas, seleção por títulos e resumos, contatos com autores e seleção por meio das referências, houve, como resultado, quatro artigos que foram selecionados, buscando-se apenas os que apresentavam estratificação por idade dividida em dois grupos, com jovens ≤ 40 anos e grupo controle > 40 anos, selecionando-se apenas CCEB em boca, restrito às línguas inglesa, portuguesa e espanhola. **Resultados:** Foram encontrados resultados positivos para a utilização das proteínas RECK, Ciclina D1, EGFR, ALDH1A1 e CYP1B para se determinar prognóstico do CCEB em pacientes jovens. Entretanto não foi possível considerar nenhum desses marcadores de IHQ como um fator prognóstico independente. A maior limitação desse estudo foi encontrar trabalhos com padronização de idade, divisão por grupos e registro dos desfechos, correlacionando com a expressão dessas proteínas em IHQ, sendo necessários mais estudos primários que busquem atender essa demanda, para que seja possível descobrir a real aplicabilidade desses biomarcadores e se eles podem servir como referência para se estabelecerem planos de tratamento mais precisos. **Conclusão:** não foi possível encontrar biomarcadores de IHQ que possam prever com segurança o prognóstico do CCEB em pacientes jovens. Porém, verificou-se que a hipoexpressão de RECK e a hiperexpressão de Ciclina D1, ALDH1A1 e Cerb-2 estão correlacionadas com as menores taxas de SLD em pacientes jovens, sendo promissora e necessária a iniciativa de se aprofundarem os estudos de base por

meio de metodologias padronizadas para validar se a IHQ pode ser uma ferramenta útil para se estabelecer o prognóstico do CCEB em pacientes adultos jovens.

Palavras-chave: Análise de sobrevida. Neoplasias bucais. Protocolos antineoplásicos

Rauen CA. Prognostic immunohistochemical biomarkers for oral squamous cell carcinoma in young adults: a systematic review [dissertation]. São José dos Campos (SP): São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology; 2022.

ABSTRACT

Background: oral squamous cell carcinoma (OSCC) is the most frequent malignant neoplasm in head and neck region. Over the past few years, there has been an increase in the incidence of this neoplasm in young patients (≤ 40 years), with controversies regarding the prognostic between them and the patients over 40 years old. Traditionally, to establish the prognosis, there are several clinical and histopathological factors, and more recently, we have the increase of the biomarkers use by immunohistochemistry (IHC). That are related to the biological characteristics of neoplasms and can predict their prognosis. **Objective:** evaluate through a systematic review of the literature if ther any biomarkers for IHC that can determine the prognosis in young dults with OSCC in the mouth. **Data sources:** Pubmed, Web of Science, Scopus, Embase, Lilacs and Proquest. **Evaluation methods:** retrospective papers, longitudinal, cohort and case-control studies totaled 11798 articles. After removing duplicates, sorting by title and abstracts, contacting authors, and selecting through references a total of 4 articles were considered eligible for data extraction, only when patients were stratified by age into 2 groups, with young people ≤ 40 years old and a control group >40 years old, restricted to OSCC, restricted to English, Portuguese and Spanish languages. **Results:** Positive results were found in RECK, Cyclin D1, EGFR, ALDH1A1 and CYP1B use to determine the prediction of OSCC in young patients. However, none of them were considered an independent factor of prognosis. The biggest limitation of this study was e lack of studies with an appropriate stratification method with division by age groups and correlating with protein expression. More primary studies are needed to solve this demand, in order to discover the applicability of these markers as a safe way to establish more accurate treatment. **Conclusion:** It was not possible to find IHC biomarkers that can reliably predict the prognosis of SCC in young patients. However, it was found that the underexpression of RECK and the overexpression of Cyclin D1, ALDH1A1 and Cerb-2 are correlated with lower rates of DFS in young patients. The initiative to deepen the baseline studies through standardized methodologies is promising and necessary to validate whether the IHC may be a useful tool to establish the prognosis of OSCC in young adult patients.

Keywords: Survival analysis. Mouth neoplasms. Antineoplastic protocols

1 INTRODUÇÃO

Estima-se que, em 2018, foram diagnosticados 890.000 novos casos de câncer de cabeça e pescoço ao redor do mundo. O carcinoma de células escamosas de (CCE) é a neoplasia maligna mais frequente, resultando em 396.147 mortes por ano. Sendo a boca o local mais acometido, carcinoma de células escamosas de boca (CCEB) (Organização Mundial da Saúde, 2022). Seus agentes etiológicos mais comuns são o uso de tabaco, etilismo crônicos e a infecção pelo papiloma vírus humano (PVH) (Organização Mundial da Saúde, 2017) especialmente em pacientes ≤ 40 anos de idade (Kaminagakura et al., 2012).

Nas últimas décadas, reporta-se diminuição na incidência de CCEB em pacientes com mais de 40 anos, mas houve aumento de 106,3% nos indivíduos entre 30 e 39 anos (Ba et al., 2016). Uma das possíveis razões desse aumento é a maior prevalência de uso de tabaco ou álcool em pacientes jovens, bem como o início mais precoce desses hábitos (Xu et al., 2019).

Há controvérsia em relação à diferença a respeito do prognóstico entre grupos jovens (≤ 40 anos de idade) e dos pacientes acima de 40 anos. Segundo (Soudry et al., 2010), os pacientes jovens acometidos por CCEB em língua tendem a desenvolver lesões de comportamento mais agressivo, com comportamento biológico distinto (Costa et al., 2018), podendo essas características biológicas ser detectadas pela hiperexpressão de EGFR (Receptor do fator de crescimento epidérmico), que pode predizer seu pior prognóstico, a exemplo do trabalho de (Szabó et al., 2011).

Outro fator pode estar relacionado a diferentes escolhas de tratamento. Os cirurgiões tendem a eleger tratamentos mais conservadores para pacientes mais jovens, evitando mutilação, o que pode estar relacionado a subtratamentos, os quais, por consequência, levam a piores índices de sobrevida global (SG) e

sobrevida livre de doença (SLD). (Sanabria, 2007). Uma revisão sistemática de Kaminagakura et al. (2021) encontrou resultados similares quando compararam a SG entre os dois grupos, e piores taxas de SLD para o grupo jovem.

Conhecer os fatores prognósticos que determinam um curso natural das doenças é importante para se estabelecer a modalidade de tratamento ideal para cada caso. Diferentes fatores prognósticos foram propostos para se estabelecer o melhor tratamento para o CCEB, dentre eles o mais utilizado é o sistema TNM (Asakage et al., 2019). Este se baseia na integração de dados clínicos em uma linguagem reprodutível e de fácil utilização, por isso se tornou amplamente utilizado (Lydiatt et al., 2001).

Quadro 1- AJCC 8ª Edição Estadiamento do CCEB “T”

Estádio e Categoria	Definição do estágio
TX	Tumor primário não pode ser avaliado
Tis	Carcinoma in situ
T1	Tumor ≤ 2 cm e PI ≤ 5 mm
T2	Tumor ≤ 2 cm, PI > 5 mm e ≤ 10 mm ou tumor > 2 cm e ≤ 4 cm e PI ≤ 10 mm
T3	Tumor > 4 cm ou qualquer tumor com PI > 10 mm
T4 T4a T4b	O tumor invade apenas estruturas adjacentes (por exemplo, através do osso cortical da mandíbula ou maxila, ou envolve o seio maxilar ou a pele do rosto) Tumor invade o espaço mastigador, placas pterigóides ou base do crânio e/ou envolve a artéria carótida interna

Legenda: PI- Profundidade de invasão

Fonte: Zanoni et al., 2019.

Quadro 2- AJCC 8ª Edição Estadiamento do CCEB “N”

Estádio e Categoria	Definição do estágio
NX	Linfonodos regionais não podem ser avaliados
N0	Sem metástase em linfonodo regional
N1	Metástase em um único linfonodo ipsilateral, ≤ 3 cm e ENE
N2	Metástase em um único linfonodo ipsilateral > 3 cm e ≤ 6 cm e ENE; ou metástases em múltiplos linfonodos ipsilaterais, ≤ 6 cm e ENE; ou em linfonodos bilaterais ou contralaterais, ≤ 6 cm e ENE
N2a	Metástases em um único linfonodo ipsilateral > 3 cm e ≤ 6 cm e ENE
N2b	Metástases em múltiplos linfonodos ipsilaterais, ≤ 6 cm e ENE
N2c	Metástases em linfonodos bilaterais ou contralaterais, ≤ 6 cm e ENE
N3	Metástase em um linfonodo > 6 cm e ENE;
N3a	ou metástase em qualquer linfonodo(s) com ENE+ clinicamente;
N3b	Metástase em linfonodo > 6 cm e ENE
N3c	Metástase em qualquer linfonodo(s) com ENE+ clinicamente

Legenda: ENE- extensão extranodal

Fonte: Zanoni et al., 2019.

Ele se utiliza de informações anatômicas usando a extensão anatômica da lesão com o termo “Tumor” (T), “linfonodo” (N), que indica a relação de algum linfonodo acometido, e “metástase” (M), em que se relata a presença ou ausência de uma metástase a distância (Brierley et al., 2016), conforme pode ser visto nos Quadros 1 e 2 de acordo com a última atualização da classificação TNM, proposta pela American Joint Committee on Cancer (AJCC).

Uma deficiência importante do TNM era o fato de ser um sistema que integrava apenas dados anatômicos sem descrever características histopatológicas, fatores relacionados ao paciente como comorbidades, e uso de tabaco e álcool, todos fatores de relevância prognóstica (McLean et al., 2006). Por isso, o recomendável seria que o TNM fosse utilizado em conjunto com dados histopatológicos e com a localização da lesão, que também são de relevância prognóstica. Dessa forma, o TNM já integra, hoje, esses dados (Takes et al., 2010), pois é conhecida a capacidade de a avaliação de fatores (como o grau de diferenciação celular, queratinização, pleomorfismo nuclear e celular, padrão de infiltração das células epiteliais malignas, resposta inflamatória do hospedeiro e número de mitoses presentes) de ajudar a estabelecer o prognóstico do paciente (Anneroth et al., 1986; Anneroth, Batsakis, 1987).

Alguns autores relacionaram o grau de inflamação a piores prognósticos (Charles et al., 2016). A determinação da presença de mediadores inflamatórios tem se tornado importante na predição prognóstica do CCEB (Budach, Tinhofer, 2019), uma vez que pode alterar o microambiente tumoral, liberando fatores pró-angiogênicos e radicais livres, favorecer a degradação da matriz extracelular e promover invasão tecidual e metástase (Hanahan, Weinberg, 2011). Os autores (Mascarella et al., 2018) associaram maiores taxas de morte em pacientes com linfocitose e elevado número de neutrófilos. Os neutrófilos criam sistemas de células neoplásicas circulantes, podendo ser o início de um processo de metástase. A cicloxigenase 2 (COX2), uma enzima pró-inflamatória responsável pelo

metabolismo do ácido araquidônico em prostaglandinas, pode estar associada a invasão celular e metástase (Sasahira, Kirita, 2018). A hiperexpressão da Interleucina 6 (IL6) está relacionada a piores respostas ao tratamento quimio e radioterápico do CCEB (Sasahira, Kirita, 2018). Outra proteína que pode estar relacionada à diminuição da sobrevida dos pacientes portadores de CCEB é a proteína de choque térmico 105 (HSP105), a qual, quando está hipoexpressa, é relacionada à menor SG dos pacientes com CCEB (Arvanitidou et al., 2020).

Como todo método científico necessita de atualizações periódicas devido às novas descobertas, com o sistema TNM não poderia ser diferente. E, para que continuasse um fator prognóstico válido, houve atualizações ao longo dos últimos anos. Uma dessas alterações foi a que modificou a categoria T, incluindo a profundidade de invasão (PI). A PI, ou espessura da neoplasia, reflete sua proximidade com estruturas vasculares e linfáticas. Sendo assim, o T1 se caracteriza por uma lesão com ≤ 2 cm no tamanho máximo e $\leq 0,5$ cm de PI. Já o T2: ≤ 2 cm de tamanho máximo com PI entre 0,5–1,0 cm, ou lesão de 2–4 cm e PI $\leq 1,0$ cm; e T3: >4 cm de tamanho ou qualquer neoplasia com PI $>1,0$ cm (Huang et al., 2017). Esse sistema de classificação ainda necessita uma atualização que leve em consideração a presença de miofibroblastos associados ao câncer que podem ser observados por meio da imuno-histoquímica (IHQ). O método de IHQ se mostra eficaz para determinar fatores prognósticos relacionados ao CCEB (Lenouvel et al., 2021).

Ao longo dos últimos anos, houve crescente interesse em se determinar diferentes fatores prognósticos com base em marcadores moleculares que determinem a sobrevida dos pacientes. Dessa forma, os pacientes podem ser alocados em grupos mais homogêneos, o que proporcionaria a eleição de tratamentos individualizados e mais efetivos (Németh et al., 2005; Shakib et al., 2015). Uma forma para determinar prognóstico em diferentes idades é investigada por diversos autores (Bello et al., 2020; Chen et al., 2020; Xu et al., 2019).

Marcadores tumorais são macromoléculas que podem prever o comportamento biológico da neoplasia. Entender a atividade das proteínas, chamadas de biomarcadores, na carcinogênese (Deyhimi, Azmoudeh, 2012) e sua efetividade em prever a agressividade é importante (Barros et al., 2005). A expressão de proteínas nas neoplasias pode adicionar informações relevantes para determinar o adequado tratamento, especialmente pela técnica da IHQ (Yu et al., 2014).

A utilização da técnica de IHQ possui a vantagem de ser acessível, de baixo custo e de fácil execução (Rahmani et al., 2012). Identificar marcadores prognósticos pode ser crucial na eleição do tratamento. A detecção da agressividade do CCEB tem grande importância para estabelecer o tratamento adequado. Sempre que possível, é ideal evitar grandes ressecções, que geram mutilação e são de difícil reabilitação, ou, então, diminuir os índices de subtratamentos, que podem contribuir para recidivas e/ou metástases (Boeve et al., 2019; Chen et al., 2016; Yu et al., 2014).

O conhecimento do ciclo celular e a alteração dos processos celulares na carcinogênese são essenciais para entender a progressão de neoplasias, bem como prever o comportamento biológico dessas doenças (Chandler et al., 2011). As alterações genéticas envolvem desregulação do ciclo celular, sendo um ponto decisivo na progressão do câncer. Muitas moléculas estão envolvidas nesse processo, começando com os receptores de membrana, fatores de transcrição intracelulares e de regulação intracelular (Roskoski Jr, 2014).

A maioria das neoplasias se desenvolve por meio da desregulação no processo de controle do ciclo celular. O estudo da expressão de proteínas envolvidas na apoptose – ou morte celular programada – e crescimento celular ajuda a esclarecer os processos de carcinogênese e o prognóstico do CCEB (Pich et al., 2004). A hiperexpressão de fatores de transcrição de DNA, como a P8 e a Histona deacetilase 2 (HDAC2), pode estar relacionada ao pior prognóstico do

CCEB (Bingham, Dickinson, 2014; Chang et al., 2009).

A apoptose também está envolvida na carcinogênese do CCEB, sendo mediada por caspases e cisteína proteinases presentes, como proenzimas, e é inibida por diversas proteínas inibidoras de apoptose, como a Bcl-2 (Lo Muzio et al., 2005). Anticorpos Ki-67 ou MIB-1 identificam antígenos expressos nas fases G1, S e G2 do ciclo celular (Gerdes et al., 1983).

Alguns marcadores do ciclo celular se tornam tão significativos para pior prognóstico que são definidos como fatores prognósticos independentes, como o EPHA8, listado junto com álcool e tabaco como fator de pior prognóstico para CCEB (Wang, Ge, 2018). A c-jun também mostrou correlação com piores prognósticos (Kuo et al., 2006). Assim como a proteína quinase C, a PKC λ/ι , está relacionada ao maior grau de agressividade da doença e pode ser considerada um fator de prognóstico importante (Baba et al., 2018).

A alteração na expressão das proteínas supressoras de tumor pode indicar prognósticos menos favoráveis (Cuneo et al., 2015), como, por exemplo, a P53, que, quando expressa, é devido a uma mutação que demonstra a perda da sua funcionalidade e está relacionada a piores prognósticos (Chandra, Thattil, 2013; Hsieh et al., 2013; Kato et al., 2008). Entretanto, a RECK (*Reversion Inducing Cysteine Rich Protein With Kazal Motifs*) (Chen et al., 2019), uma proteína supressora de tumor que possui função essencial na remodelação tecidual e na angiogênese fisiológica ou tumoral, por meio da regulação pós-transcricional das MMP-2, MMP-9 e MMP-14 (Herbster, 2018), tem, por consequência, tendência a apresentar melhores prognósticos (Cappuzzo et al., 2005). A B7-H6, outra proteína supressora de tumor, é considerada um fator prognóstico independente, relacionada a piores índices de sobrevida com sua hiperexpressão em pacientes com CCEB (Wang et al., 2017).

Proteínas relacionadas ao metabolismo de drogas podem ser fatores prognósticos importantes. A expressão enzima CYP1B1, em CCEB em pacientes

de idade mais avançada, demonstra que as células epiteliais foram mais expostas ao tabaco e ao álcool do que nos pacientes mais jovens e sua hiperexpressão está relacionada ao melhor prognóstico nesse grupo. A hiperexpressão da enzima ALDH1A1, que é responsável pela degradação do acetaldeído, está relacionada a maior SLD em 5 anos (Kaminagakura et al., 2016).

A determinação da presença do PVH (Papiloma Vírus Humano) é uma maneira de verificar um tipo específico de CCE, que tem um comportamento biológico diferente do CCE tradicional. É um CCE com prognóstico mais favorável, mas está mais relacionado à orofaringe do que a lesões em boca (Singh et al., 2017). Quando presente em boca, está relacionado, principalmente, a pacientes abaixo de 40 anos (Kaminagakura et al., 2012).

É importante compreender se as proteínas são diferencialmente expressas em pacientes jovens, para se propor tratamento individualizado para eles (Lingen et al., 2000), mas não há um consenso sobre quais são os marcadores ideais para direcionar um tratamento adequado (Matsuzaki et al., 2020). Esta revisão sistemática se propõe a investigar o valor prognóstico de marcadores imuno-histoquímicos para CCEB em pacientes ≤ 40 anos de idade em comparação com pacientes controle (>40 anos), objetivando sugerir tratamentos mais efetivos e individualizados para os pacientes acometidos pela doença.

2 PROPOSIÇÃO

2.1 Objetivo geral

Avaliar, por meio de uma revisão sistemática da literatura, marcadores de IHQ para prognóstico do CCEB em pacientes jovens (≤ 40 anos).

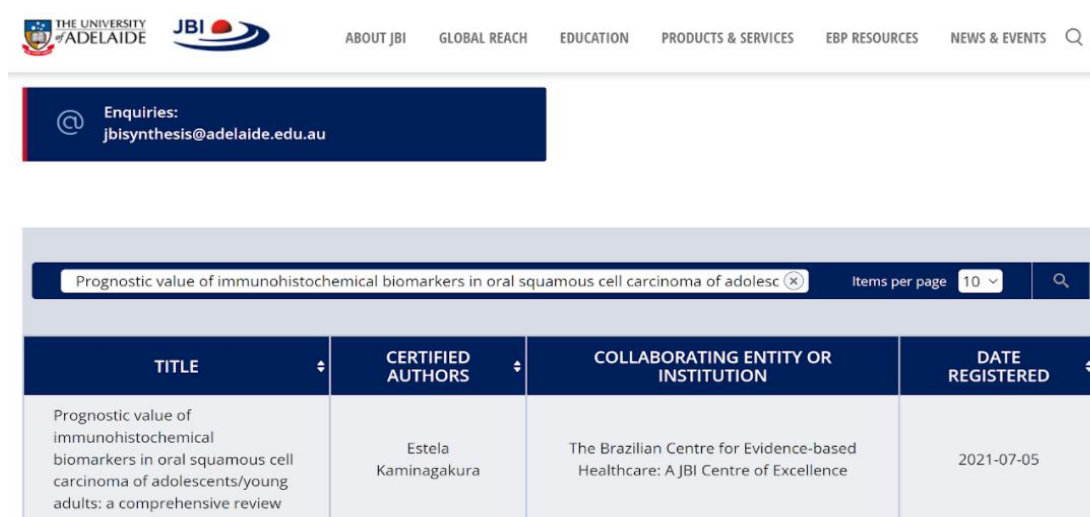
2.2 Objetivo específico

Investigar quais proteínas, avaliadas por meio da imuno-histoquímica, estão correlacionadas com as taxas de SG e SLD nos pacientes adultos jovens portadores de CCEB e compará-las com o grupo controle (> 40 anos de idade).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Este projeto adere aos itens de relatório preferido para revisões sistemáticas (PRISMA) <http://www.prisma-statement.org/>, (Anexo A), seguiu as recomendações da Prisma Checklist e foi cadastrado na plataforma Joanna Briggs (JBI), da Universidade de Adelaide (<https://jbi.global>) (Figura 1|).

Figura 1 - Registro na plataforma Joana Briggs (JBI)



TITLE	CERTIFIED AUTHORS	COLLABORATING ENTITY OR INSTITUTION	DATE REGISTERED
Prognostic value of immunohistochemical biomarkers in oral squamous cell carcinoma of adolescents/young adults: a comprehensive review	Estela Kaminagakura	The Brazilian Centre for Evidence-based Healthcare: A JBI Centre of Excellence	2021-07-05

Fonte: JBI Global, 2021.

A estruturação da pergunta seguiu o componente “PECOS” (População, Exposição, Comparação, Desfechos e Tipo de estudo).

P: Pacientes jovens ≤ 40 anos portadores de CCEB

E: Avaliação de prognóstico por meio de marcadores de IHQ

C: Pacientes adultos > 40 anos portadores de CCEB

O: Morte, recorrência, sobrevida

S: Estudos retrospectivos, longitudinais, de coorte e casos controle

Seguiu-se a seguinte pergunta de revisão: Quais são os marcadores IHQ para avaliar o prognóstico do CCEB de cavidade bucal em pacientes adultos jovens (≤ 40 anos de idade)?

3.1 Tipo de estudo

Revisão sistemática de estudos retrospectivos, longitudinais, de coorte e casos controle

3.2 Local

O estudo foi desenvolvido como trabalho de Mestrado na Pós-Graduação em Biopatologia Bucal e realizado no Departamento de Biociências e Diagnóstico Bucal do Instituto de Ciências e Tecnologia (ICT), São José dos Campos, SP, Unesp.

3.3 Tamanho da amostra

Amostras de conveniência, ou seja, foram incluídos todos os estudos encontrados que preencheram os critérios de inclusão descritos abaixo.

3.4 Tipo de estudos incluídos

Estudos retrospectivos, longitudinais, de coorte e casos controle com população bem definida, nas línguas inglesa, portuguesa e espanhola.

3.5 Tipo de população

Pacientes jovens portadores de CCEB (≤ 40 anos), independentemente de raça, sexo ou país de origem.

3.6 Tipos de intervenções

Tratamento oncológico para CCEB da cavidade bucal por meio de:

- a) cirurgia;
- b) radioterapia;
- c) cirurgia + radioterapia;
- d) cirurgia + radioterapia + quimioterapia.

3.7 Comparações

Pacientes com CCEB >40 anos, independentemente de raça, sexo ou país de origem.

3.8 Tipos de medidas do resultado

Com o objetivo de comparar os resultados dos pacientes jovens com os de idade mais avançada, buscou-se entender os desfechos possíveis e já conhecidos para os pacientes oncológicos e sua relação com os marcadores de IHQ.

3.8.1 Desfechos primários

Informações a respeito do valor prognóstico de marcadores de IHQ para o CCEB, por meio da correlação de marcadores de IHQ com taxas de SG e SLD.

3.8.2 Desfechos secundários

Caracterizaram-se como desfechos secundários as informações que trouxeram um valor prognóstico dos marcadores de IHQ para o CCEB em correlação com as taxas de morte ou recorrência local, regional ou a distância.

3.9 Critérios de Elegibilidade dos estudos

Os critérios de inclusão foram:

- a) estudos que incluíram CCEB estratificados por idade (grupo de estudo: 15-40 anos vs controle: >40 anos);
- b) estudos que descreveram o número exato de casos/controle que são positivos e negativos;
- c) efeito estimado que descreve a relação entre o marcador de IHQ e o resultado (morte e recidiva analisadas por idade reportada pelo teste de Kaplan-Meier de índices de sobrevida e o teste de log-rank ou análise de regressão de riscos proporcionais de Cox);
- d) apenas CCEB convencional, baseado nos padrões histopatológicos;
- e) estudos dos últimos 30 anos;
- f) línguas: Inglês, Português, Espanhol.

Os critérios de exclusão relacionados aos estudos foram:

- a) estudos em animais;
- b) revisões sistemáticas;
- c) relatos de caso e séries de caso;
- d) artigos de opinião;
- e) cartas ao editor;

f) estudos *in vitro*.

Já os critérios de exclusão relacionados às características das doenças e metodologia do estudo foram:

- a) carcinoma de orofaringe;
- b) carcinoma de lábio;
- c) quando não foi possível estratificar idade ou localização da lesão;
- d) ausência de protocolo de IHQ bem descrito;
- e) estudos com amostras menores que 10 de CCEB em cada grupo;
- f) acompanhamento menor que 60 meses;
- g) CCEB não convencional;
- h) pacientes com idade menor que 15 anos.

3.10 Fontes de Informação e Estratégias de Busca

Estudos que avaliaram a utilização de marcadores de IHQ na determinação do prognóstico de CCEB foram obtidos das bases de dados: MEDLINE, via PubMed, Scopus, Web of Science, Embase e Proquest. As buscas iniciaram em agosto de 2021, sem restrições de língua. O período foi de 1991 a 2021. As estratégias de busca para cada base foram formuladas, tendo sido combinadas após a determinação dos termos principais da pesquisa, que foram testados previamente. As estratégias foram pesquisadas nas bases de dados, não havendo restrições de idiomas.

Quadro 3 – Termos de busca utilizados nas bases de dados

(continua)

Pubmed 12/03/2021	Scopus 12/03/2021	Embase 12/03/2021
(("tongue"[MeSH Terms] OR "tongue"[All Fields] OR "tongues"[All Fields] OR "tongue s"[All Fields] OR ("mouth"[MeSH Terms] OR "mouth"[All Fields] OR ("oral"[All Fields] AND "cavity"[All Fields]) OR "oral cavity"[All Fields])) AND ("cancer*"[All Fields] OR (("epithelial cells"[MeSH Terms] OR ("epithelial"[All Fields] AND "cells"[All Fields]) OR "epithelial cells"[All Fields] OR ("squamous"[All Fields] AND "cell"[All Fields]) OR "squamous cell"[All Fields]) AND "carcinoma*"[All Fields]) OR "neoplas*"[All Fields] OR "tumo*"[All Fields]) AND	TITLE-ABS- KEY (Tongue OR Oral Cavity OR Malignant Neoplasm OR Squamous Cell Carcinoma OR Neoplasm) AND TITLE-ABS- KEY(prognosis OR prediction OR survival OR cancer recurrence OR mortality OR metastasis) AND TITLE-ABS- KEY(immunohist ochemistry OR protein OR	(((tongue:ab,ti OR 'mouth cavity':ab,ti OR 'malignant neoplasm':ab,ti OR 'squamous cell carcinoma':ab,ti OR neoplasm:ab,ti) AND prognosis:ab,ti OR prediction:ab,ti OR survival:ab,ti OR 'cancer recurrence':ab,ti OR

Quadro 3 – Termos de busca utilizados nas bases de dados

(conclusão)

Pubmed 12/03/2021	Scopus 12/03/2021	Embase 12/03/2021
("prognos*"[All Fields] OR "predict*"[All Fields] OR "surviv*"[All Fields] OR "recur*"[All Fields] OR "mortal*"[All Fields] OR "metasta*"[All Fields]) AND ("immunohisto*"[All Fields] OR "protei*"[All Fields] OR "marke*"[All Fields] OR "biomark*"[All Fields])) AND ((humans[Filter]) AND (1991:2021[pdat]))	marker OR biomarker) PUBYEAR AFT 1991	mortality: ab,ti OR metastasis:ab,ti) AND immunohistoche mistry:ab,ti OR protein:ab,ti) AND 'biological marker':ab,ti AND [1991- 2021]/py

Fonte: Elaborado pelo autor.

3.10.1 Pesquisa de outros recursos - literatura cinzenta

Além da pesquisa nas bases de dados eletrônicas, realizou-se uma busca manual nas listas de referências de cada estudo considerado elegível, a fim de se identificarem ensaios clínicos adicionais que foram incluídos posteriormente; todos os estudos potencialmente elegíveis foram analisados em duplicata. Além disso, os autores foram contatados para dados e informações adicionais dos estudos incluídos.

3.11 Seleção dos estudos e coleta dos dados

A busca nas bases de dados trouxe 11.798 artigos, estudos foram importados para um software gerenciador de bibliografias chamado Rayyan em sua versão de navegador (Disponível em: <https://www.rayyan.ai>) (Figura 2). Por meio do gerenciador, puderam ser detectadas e excluídas as duplicatas, restando 10.599. Os estudos em potencial foram analisados por título e resumo por um par de revisores (CAR e KAS), que selecionaram estudos de forma independente, avaliando se estavam de acordo com o objetivo principal da revisão sistemática, tendo como fator norteador a pergunta “Quais são os marcadores IHQ para avaliar o prognóstico de CCEB de cavidade bucal em pacientes adultos jovens (≤ 40 anos de idade) ?”. Discrepâncias nesta fase foram resolvidas por discussão e consenso com um terceiro revisor (EK). Após a análise pelo título e resumo, 133 artigos foram selecionados para a leitura na íntegra.

Figura 2 - Programa de gerenciador de revisões sistemáticas Rayann em sua versão para navegador de internet



Fonte: Elaborado pelo autor.

3.12 Extração dos dados

Uma vez que um conjunto final de estudos elegíveis foi elencado, pares de revisores extraíram os dados dos estudos de forma independente. Um grupo de revisores composto por 8 integrantes previamente calibrados nos critérios de inclusão e exclusão e guiados pela pergunta da pesquisa analisaram o texto completo dos estudos selecionados por meio de título e resumo. Para isso, foram formados 4 grupos com dois integrantes em cada. Nesses grupos, por meio da análise do texto completo, foram selecionados os artigos com potencial para a extração dos dados. Foi realizado um formulário padrão em uma pasta de trabalho do Microsoft Excel para a extração das informações, tais como: características do estudo, dados demográficos dos pacientes da amostragem (número de

participantes, sexo, idade), período da coleta dos dados, informações relacionadas a hábitos como tabagismo e etilismo, classificação TNM, estadiamento clínico das neoplasias, grau de diferenciação, tipos de proteínas de IHQ avaliadas, níveis de expressão de cada proteína dividido por grupos, modalidade de tratamento empregada e os desfechos morte, recorrência, SG e SLD em 5 anos (Figura 3).

Figura 3 - Pasta de trabalho do Excel com os dados extraídos dos artigos

Tabela unida - Excel (Falha na Ativação do Produto)

ARQUIVO PÁGINA INICIAL INSERIR LAYOUT DA PÁGINA FÓRMULAS DADOS REVISÃO EXIBIÇÃO XLSTAT

Recortar Copiar Colar Pincel de Formatação Área de Transferência

Fonte Arial 11

Alinhamento

Número

Formatação Condicional

Formatar como Tabela

Estilos de Célula

Inserir Excluir Formatar

AutoSoma Preencher Limpar

Classificar Localizar e Filtrar Selecionar

Conta da Microsoft

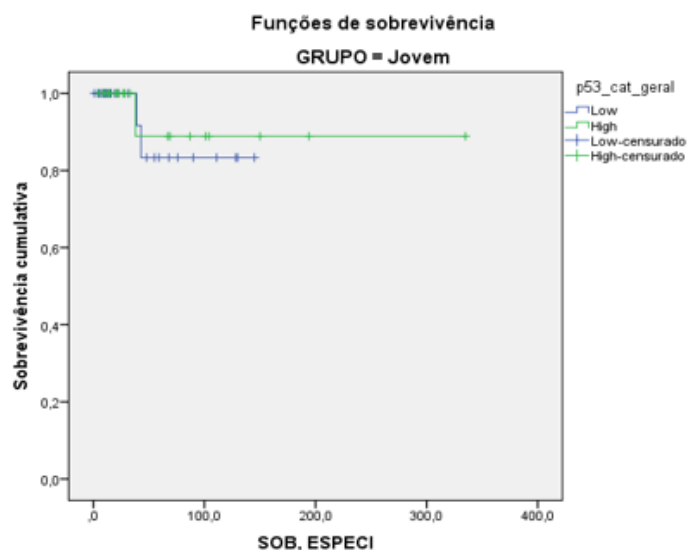
AL3 =59*100/90

AL3	AL4	AL5	AL6	AL7	AL8	AL9	AL10	AL11	AL12	AL13	AL14	AL15	AL16	AL17	AL18	AL19	AL20	AL21	AL22	AL23	AL24	AL25	AL26	AL27	AL28	AL29	AL30	AL31	AL32	AL33	AL34	AL35	AL36	AL37	AL38	AL39	AL40	AL41	AL42	AL43	AL44	AL45	AL46	AL47	AL48	AL49	AL50	AL51	AL52	AL53	AL54	AL55	AL56	AL57	AL58	AL59	AL60	AL61	AL62	AL63	AL64	AL65	AL66	AL67	AL68	AL69	AL70	AL71	AL72	AL73	AL74	AL75	AL76	AL77	AL78	AL79	AL80	AL81	AL82	AL83	AL84	AL85	AL86	AL87	AL88	AL89	AL90	AL91	AL92	AL93	AL94	AL95	AL96	AL97	AL98	AL99	AL100		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98		

Sempre que algum valor em percentual era necessário e não se apresentava diretamente no texto ou em tabelas, o cálculo foi realizado individualmente para cada grupo para determinar os valores absolutos. A operação inversa também foi realizada para quando se buscava um número absoluto e, no trabalho, estava disponível apenas o valor em percentual.

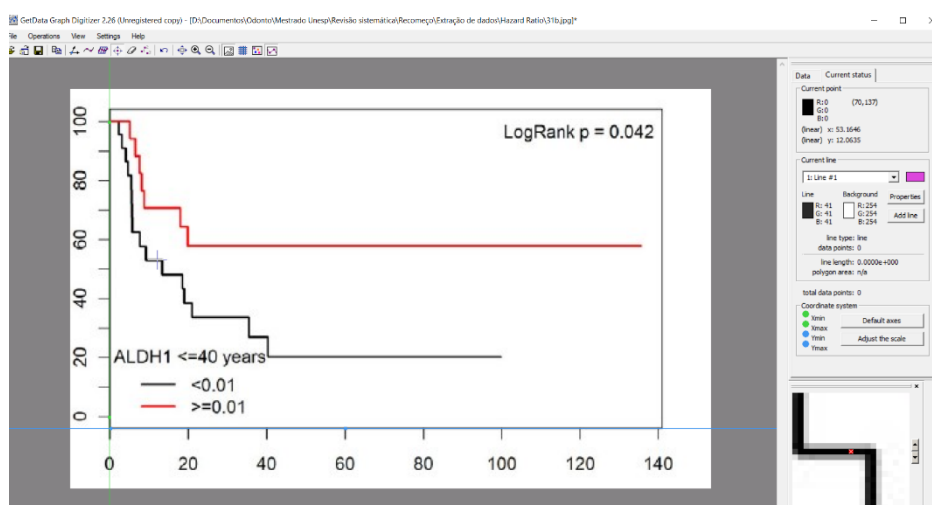
Os trabalhos de (Chen et al., 2019; Kaminagakura et al., 2016, 2011) apresentaram gráficos de Kaplan Meier para avaliar sobrevida das proteínas avaliadas, já o trabalho de (Miranda Galvis et al., 2018) não apresentou esse dado sobre nenhuma proteína no texto do artigo. Foi realizado, então, contato com a autora principal via correio eletrônico, de quem obtivemos os gráficos da proteína P53. A extração foi feita de maneira digital por meio do programa de computador, em sua versão para Windows, “GetData Graph Digitizer 2.26” (Figura 4), buscando coletar as informações de SLD aos 6, 12, 24, 36 e 48 meses.

Figura 4 – Gráfico da curva de sobrevida em pacientes jovens, correlacionando a expressão de P53



Fonte: Miranda Galvis et al., 2018.

Figura 5 - GetData Graph Digitizer para extração precisa dos dados das curvas de sobrevida



Fonte: Get Data Digitizer, 2021.

3.13 Análise dos dados da extração

3.13.1 Risco de viés

A análise do risco de viés dos estudos primários foi realizada de acordo com uma versão adaptada da tabela proposta por (Hayden et al., 2013) (Anexo B), na qual um par de revisores analisou os trabalhos de maneira independente, sendo consultado um terceiro revisor para analisar as discrepâncias e estabelecer um consenso após a análise de todos os trabalhos. Foram analisados, qualitativamente, os aspectos de risco de viés de acordo com:

3.13.1.1 Características da população do estudo (viés de seleção)

A Tabela 1 teve como objetivo determinar em que nível cada estudo apresentava possibilidades e vieses de acordo com suas metodologias, analisando a forma como as populações foram selecionadas, se as características das populações estavam bem descritas, os locais de amostra e o período das seleções, e se a divisão dos participantes das amostras foi realizada em grupos separados adequadamente dentro da nossa metodologia (≤ 40 e >40). Importante análise também foi realizada conforme critérios de exclusão e inclusão, de acordo com o tipo específico de lesão que se propôs estudar.

3.13.1.2 Desistências do estudo (viés de atrito)

Por serem estudos retrospectivos, nenhum deles possuía dados a respeito de desistências ou perda de acompanhamento. Foram selecionados apenas os casos de pacientes que tinham acompanhamento de, no mínimo, cinco anos.

3.13.1.3 Medição do fator prognóstico

Foi verificado se os fatores prognósticos selecionados para cada trabalho estavam de acordo com a metodologia proposta da nossa revisão, se foi aplicado de maneira idêntica para cada um dos pacientes. Neste caso, analisando-se especialmente os fatores prognóstico já conhecidos: TNM, EC e grau de diferenciação histológica, bem como o novo potencial fator prognóstico, que foi a relação da expressão das proteínas de IHQ avaliadas em cada trabalho.

3.13.1.4 Medição de resultados

Sobre o risco de viés dos desfechos (SLD, SG, Morte e Recorrência), foi avaliado se uma definição clara dos desfechos possíveis foi definida nos trabalhos, se a metodologia descrita para a determinação dos desfechos era válida e aplicável e se houve uma padronização para todos os casos avaliados.

3.13.1.5 Fatores de confundimento

Com relação aos fatores de confundimento, foi analisado se todos os fatores importantes foram analisados, como tabagismo, etilismo; se diferentes modalidades de tratamento foram empregadas: cirurgia, radioterapia e quimioterapia, e se as variações correspondentes a esses fatores foram adequadamente registradas.

3.13.1.6 Análise estatística e registro dos dados

Foi analisado se a maneira como a apresentação dos resultados e a forma como foram realizadas as análises estatísticas do trabalho foram apropriadas para os dados que os trabalhos apresentavam. Uma análise metodológica se fez necessária nessa etapa, para que possíveis falhas na metodologia dos estudos primários não acarretassem falhas no processo final de revisão.

4 RESULTADOS

4.1 Resultados da busca na literatura

Durante a busca na literatura, foram encontrados 11.798 artigos. Por meio do Software Rayann, foi realizada a remoção de duplicatas, resultando em 10.599 artigos, os quais passaram por uma seleção por título, resultando em 4.335 aprovados e outros 6.264 excluídos. Após a análise por título e resumo, 133 artigos foram selecionados para leitura completa.

Após criteriosa análise, foram selecionados três artigos considerados elegíveis para a extração de dados que colaboravam para a resposta da pergunta e se enquadravam nos critérios de inclusão e exclusão pré-determinados.

Para contemplar a análise do maior número de trabalhos possível e considerando-se a possibilidade de algum estudo relevante não ter sido localizado nas buscas das bases de dados, foi realizada, também, a análise das referências de todos os 133 artigos selecionados para leitura na íntegra. Por meio dos títulos dos artigos referenciados, pudemos encontrar mais 14 trabalhos elegíveis para a leitura do texto completo. Porém, ao final dessa leitura, nenhum deles se enquadrou nos critérios determinados e passaram a fazer parte do grupo de trabalhos excluídos.

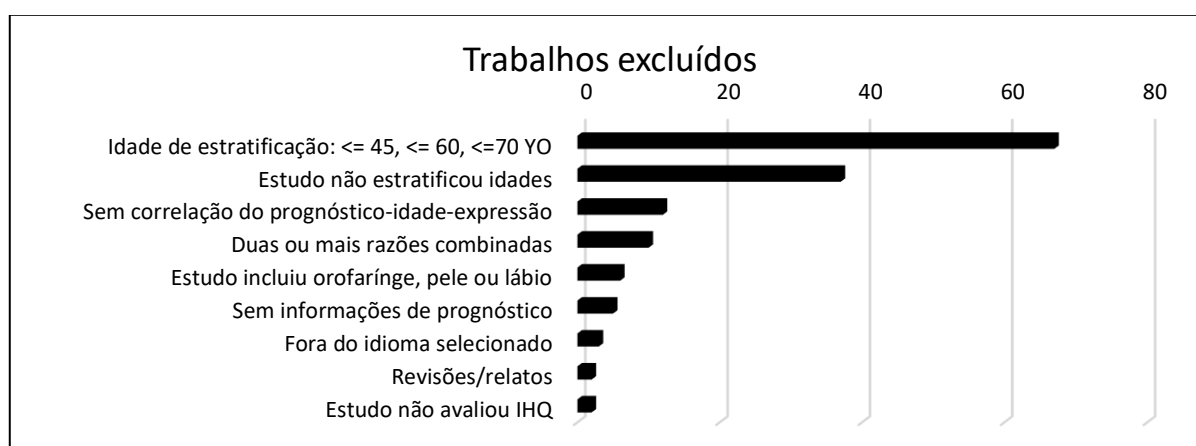
Alguns autores foram contatados via correio eletrônico para busca de dados adicionais que não foram reportados no texto publicado. Foi obtida resposta de um autor que enviou um novo trabalho, do qual foi possível realizar a extração de dados, somando-se mais um trabalho para nossa lista de extração.

A leitura de trabalhos na íntegra finalizou-se com um total de 133 trabalhos encontrados na busca inicial, mais 14 trabalhos selecionados por título nas referências dos primeiros 133, além de um único trabalho, que foi enviado

diretamente pelo autor, chegando-se a um número total de 148 trabalhos que foram criteriosamente analisados no texto completo.

E, desse total, 4 deles foram considerados elegíveis para a extração de dados, 3 na busca inicial, nenhum por meio das referências e 1 enviado diretamente pelo autor. Os outros 144 trabalhos que não foram considerados elegíveis para a extração de dados foram tabulados separadamente, e os motivos das exclusões foram, também, relatados (Figura 6).

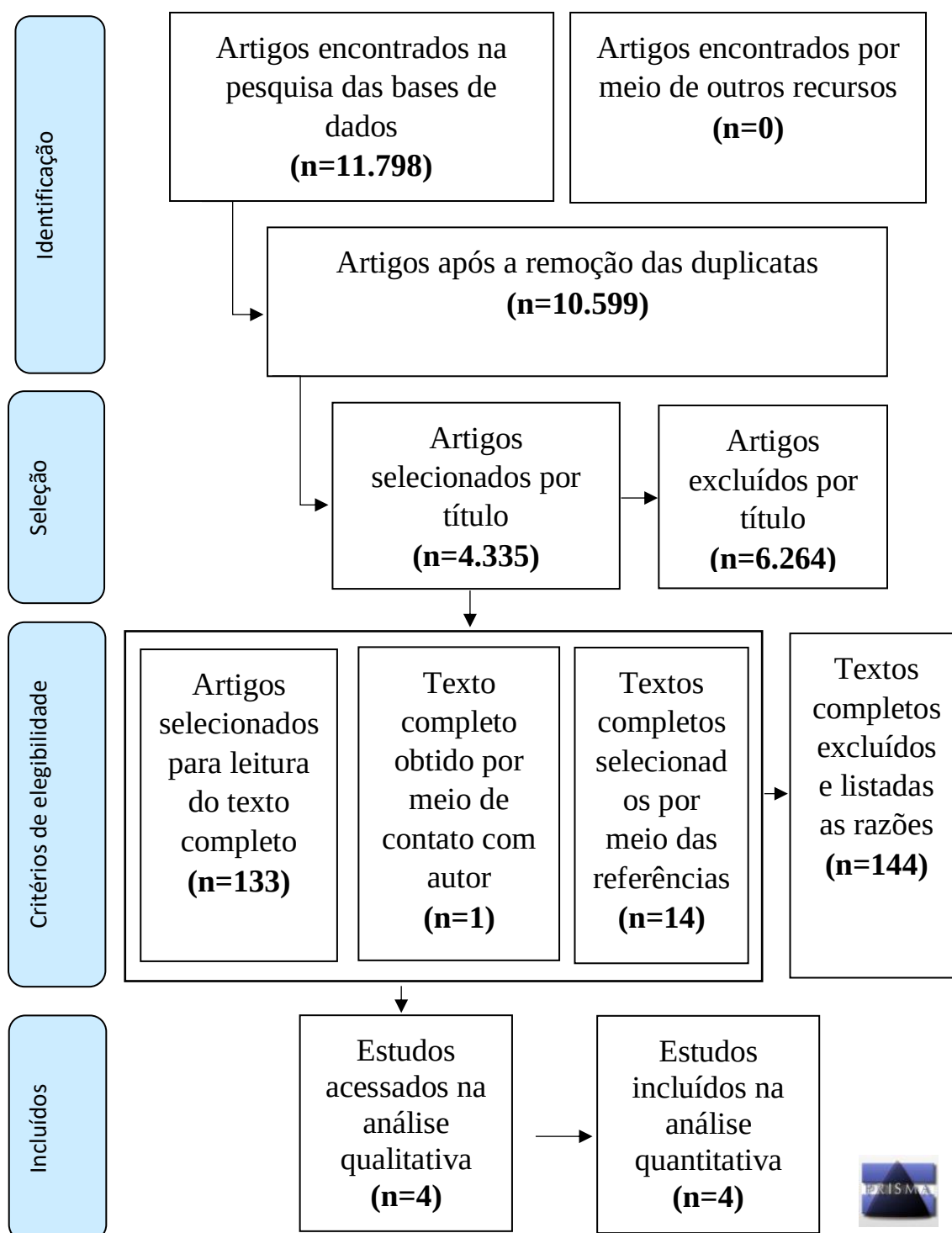
Figura 6- Relação dos trabalhos excluídos, com seus respectivos motivos



Fonte: Elaborado pelo autor.

No total, 67 trabalhos foram excluídos por discrepâncias na padronização da idade proposta nos nossos critérios de seleção e mencionada anteriormente; 37 não fizeram algum tipo de menção à idade dos participantes; 12 não fizeram correlação do prognóstico com a expressão das proteínas avaliadas em diferentes idades e 6 estudos incluíram orofaringe, pele e lábios em sua amostra. Outras razões foram: 5 trabalhos não mencionaram qualquer informação sobre prognóstico em suas amostras, 3 estavam fora dos idiomas estabelecidos em nossos critérios, 2 revisões sistemáticas da literatura, 2 trabalhos não avaliaram IHQ e 10 apresentaram duas ou mais razões dessas combinadas.

4.2 PRISMA 2009 Diagrama de Fluxo



4.3 Características dos estudos selecionados

Tabela 1- Características dos estudos

(continua)

País	Autores	Local do estudo	Período do estudo (anos)	Grupos (n)	Meses	Variação da idade	Idade média	Proporção masculino (%)
Brasil	Kaminagakura et al., 2011	Hospital do Câncer AC Camargo, SP	1970-2004	Jovem (90) Adulto (125)	180	19-40 50-90	37.4 62.2	72,2 79,2
Brasil	Kaminagakura et al., 2016	Hospital do Câncer AC Camargo, SP	1970-2004	Jovem (41) Adulto (59)	180	19-39 42-67	34.7 62.6	65.9 79.7
Taiwan	Chen et al., 2019	Hospital Geral de Veteranos de Kaohsiung	1993-2006	Jovem (29) Adulto (164)	-	NR NR		NR NR
Brasil	Miranda Galvis et al., 2017	Hospital do Câncer AC Camargo, SP	1968-2011	Jovem (61) Adulto (71)	180	16-40 47-80	34.1 61.2	73.8 78.9

Tabela 1 - Características dos estudos

(continuação)

Autores	Uso de tabaco	(%)	Consumo de álcool	(%)
Kaminagakura et al., 2011	(J) Fumante	68 (75.5)	Etilista	61 (7.7)
	Não fumante	19 (21.1)	Não etilista	26 (28.9)
	(A) NR	3(3.4)	NR	3 (3.4)
	Fumante	100 (80)	Etilista	76 (60.8)
	Não fumante	16 (12.8)	Não etilista	42 (32)
	NR	9(7.2)	NR	9 (7.2)
Kaminagakura et al., 2016	(J) Fumante	31 (75.6)	Etilista	24 (58.5)
	Não fumante	8 (19.51)	Não etilista	15 (36.6)
	(A) NR	2 (4.9)	NR	2 (4.9)
	Fumante	45 (76.3)	Etilista	24 (58.5)
	Não fumante	9 (15.2)	Não etilista	21 (35.6)
	NR	2 (4.9)	NR	5 (8.5)

Tabela 1 - Características dos estudos

(continuação)

Autores		Uso de tabaco	(%)	Consumo de álcool	(%)
Chen et al., 2019					
	(J)				
	(A)				
Miranda Galvis et al., 2017					
	(J)	Fumante	44 (72.1)	Etilista	37 (60.7)
		Não fumante	14 (23)	Não etilista	21 (34.4)
		NR	3 (4.9)	NR	3 (4.9)
	(A)				
		Fumante	56 (78.9)	Etilista	42 (59.2)
		Não fumante	8 (11.3)	Não etilista	22 (31)
		NR	7 (9.9)	N	7 (9.9)

Tabela 1 - Características dos estudos

(continuação)

Autores		T	(%)	N	(%)	M	(%)	CS	(%)	Grau histológico	(%)
Kamina gakura et al., 2011	(J) [†]	1+2	24 (26.7)	N0	36 (40)	M0	90 (100)	1+2	14 (15.6)	Bem diferenciado	54.4
		3+4	66 (73.3)	N+	54 (60)			3+4	76 (84.4)	Moderado	15.6
	(A) ‡									Pouco diferenciado	30
		1+2	40 (32)	N0	44 (35.2)	M0	125 (100)	1+2	21 (16.8)	Bem diferenciado	56.6
		3+4	85 (68)	N+	81(64.8)			3+4	104 (83.2)	Moderado	39.9
										Pouco diferenciado	3.5
Kamina gakura et al., 2016	(J)	1+2	13 (31.7)	N0	18 (43.9)	NR	41 (100)	1+2	8 (19.5)	Bem diferenciado	63.4
		3+4	28 (68.3)	N+	23 (56.1)			3+4	33 (80.5)	Moderado	17.1
	(A)									Pouco diferenciado	19.5
		1+2	25 (42.4)	N0	25 (42.4)	NR	59 (100)	1+2	13 (22)	Bem diferenciado	56.6
		3+4	34 (57.6)	N+	34 (57.6)			3+4	46 (78)	Moderado	37.7
										Pouco diferenciado	5.7

Autores	T (%)	N (%)	M (%)	CS (%)	Grau histológico	(%)					
Chen et al., 2019											
Miranda Galvis et al., 2017	(J)	1+2 3+4	26 (42.6) 35 (57.4)	N0 N+	28 (45.9) 33 (54.1) 2	M0 M+	NR NR	1+2 3+4	16 (26.2) 45 (73.8)	Bem diferenciado Moderado Pouco diferenciado NR	57.5 29.5 9.8 3.2
	(A)	1+2 3+4	30 (42.3) 41 (57.7)	N0 N+	5 (35.2) 46 (64.8)	M0 M+	NR NR	1+2 3+4	14 (19.7) 57 (80.3)	Bem diferenciado Moderado Pouco diferenciado NR	50.8 36.6 5.6 7

Tabela 1 - Características dos estudos

			(continuação)
Autores		Tratamento	(%)
Kaminagakura et al., 2011	(J)	C	24 (26.7)
		RT	29 (32.2)
		C+RT	32 (35.5)
		C+RT+QT	5(5.6)
	(A)	C	28 (22.4)
		RT	42 (33.6)
		C+RT	49 (39.2)
		C+RT+QT	6(4.8)
Kaminagakura et al., 2016	(J)	C	15 (36.6)
		RT	1(2.4)
		C+RT	23 (56.1)
		C+RT+QT	2(4.9)
	(A)	C	22 (37.9)
		RT	9(15.5)
		C+RT	24 (41.4)
		C+RT+QT	3(5.2)
Chen et al. 2019			
Miranda Galvis et al., 2017	(J)	C	18 (29.5)
		RT	1(1.6)
		C+RT	29 (47.5)
		C+RT+QT	2(3.3)
		NR	11 (18.1)
			23 (32.4)
	(A)	C	10 (14.1)
		RT	30 (42.3)
		C+RT	8(11.2)
		C+RT+QT	0
		NR	

Tabela 1 - Características dos estudos

(conclusão)

Autores	Desfecho	n(%)	Marcador	SLD (%)	SG (%)
Kaminagakura et al., 2011	Recidiva	59 (65.6)	Ciclina D1		
			Hipoexpressão	42	42
			Hiperexpressão	24	24
	Recidiva	68 (54.4)	Hipoexpressão	48	48
			Hiperexpressão	27	27
Kaminagakura et al., 2016		(J)	ALDH1A1		
			Hipoexpressão	20	
			Hiperexpressão	58	
			(A)	Hipoexpressão	43
			Hiperexpressão	62	
		(J)	CYP1B1		
			Hipoexpressão	29	
			Hiperexpressão	60	
			(A)	Hipoexpressão	13
			Hiperexpressão	65	
Chen et al., 2019		(J)	RECK		
			Hipoexpressão	35	
			Hiperexpressão	83	
			(A)	Hipoexpressão	55
			Hiperexpressão	58	
Miranda Galvis et al., 2017	Recidiva	24 (39.4)			
	Sem recidiva	18 (29.5)			
	NR	19 (31.1)			
	Recidiva	31 (43.7)			
	Sem recidiva	40 (56.3)			
	NR	0			

Fonte: Kaminagakura et al., 2011; Kaminagakura et al., 2016; Chen et al., 2019, Miranda Galvis et al., 2018.

4.4 Tipos de intervenção

4.4.1 Proteínas avaliadas

Dos quatro trabalhos selecionados, dois deles (Miranda Galvis et al., 2018; Kaminagakura et al., 2011) avaliaram a expressão da proteína Ciclina D1 em pacientes com CCEB em pacientes jovens (≤ 40 anos), comparando com grupos controle (> 40 anos). É importante observar que ambos os trabalhos coletaram parte dos dados na mesma amostragem, caracterizando uma sobreposição das amostras.

O trabalho de (Miranda Galvis et al., 2018) avaliou a Ciclina D1, Ki67, P53, P16, Bcl2, CErB2, P21, MYC, EGFR, MMP-9, Alfa actina do Músculo liso (SMA), Catepsina K e Fator de crescimento fibroblástico 2 (FGF-2). Já (Chen et al., 2019) avaliaram a proteína RECK, e (Kaminagakura et al., 2016) avaliaram a expressão das proteínas ALDH2, ALD1A1, CYP1B1 e CYP1A1.

Optou-se por dividir as proteínas por grupos de acordo com sua função biológica principal. As proteínas foram divididas em ciclo celular, biotransformação de drogas, oncogenes e proteases.

Quadro 5 – Divisão das proteínas por grupos de acordo com suas funções

Ciclo celular	Biotransformação	Oncogenes	Proteases
Ciclina D1	ALDH2	EGFR (ErbB-1)	Catepsina
KI-67	ALD1A1	ErbB2	MMP-9
P16	CYP1B1	MYC	
Bcl-2	CYP1A1	FGF-2	
P21			
RECK			
P53			

Fonte: Elaborado pelo autor

4.4.2 Dados demográficos e hábitos dos pacientes

Observou-se uma significativa homogeneidade entre os grupos avaliados no que diz respeito aos dados demográficos, os dois trabalhos de (Kaminagakura et al., 2011, 2016) e apresentaram a mesma variação de idades. O trabalho de (Miranda Galvis et al., 2018) apresentou variação dos achados em relação a (Kaminagakura et al., 2011) devido à já mencionada sobreposição de amostras por parte dos dados coletados. Os dados coletados com relação aos hábitos dos pacientes como tabagismo e etilismo foram coletados discriminadamente, separando-os pelos grupos e estão listados na Tabela 1. O trabalho de (Chen et al., 2019) não trouxe informações a respeito de média de idade, variações de idade e proporção entre homens e mulheres, nem hábitos como tabagismo e etilismo discriminadamente entre os grupos.

4.4.3 Características das neoplasias

Os trabalhos de (Miranda Galvis et al., 2018; Kaminagakura et al., 2011, 2016), informaram a classificação TNM, EC e grau de diferenciação histológica, porém (Chen et al., 2019) não coletaram essas informações das suas amostras, estratificando por faixa etária. Esses dados podem ser verificados na Tabela 2.

4.5 Desfechos

Os trabalhos de (Miranda Galvis et al., 2018; Kaminagakura et al., 2011) reportaram as taxas de SG e SLD em 5 anos, comparando a expressão proteica entre os grupos jovem e controle. (Chen et al., 2019; Kaminagakura et al., 2016) relataram a taxa de SLD em 5 anos, mas não a SG (Tabela 7).

A extração dos dados para o cálculo de Hazard Ratio pôde ser realizada por meio da análise dos gráficos de sobrevida de Kaplan Meier nos trabalhos de (Chen et al., 2019; Kaminagakura et al., 2011, 2016). Por meio do contato direto com a autora principal, foi obtida a curva de Kaplan Meier da proteína P53 do trabalho de (Miranda Galvis et al., 2018).

Tabela 2 - Dados demográficos

Variável	Jovens	Controle
Amostra total (n/%)	449/100	1168/100
Variação de idade (anos)	15-40	41-94
Média de idade (anos)	32,4	61,7
Proporção de homens/mulheres (%)	59,9	74,7

Fonte: Elaborado pelo autor, compilado dos trabalhos de (Kaminagakura et al., 2011; Kaminagakura et al., 2016; Miranda Galvis et al., 2018; Chen et al., 2019).

Tabela 3 - Hábitos

Variável	Jovens (n/%)	Controle (n/%)
Fumantes	167 (37,2)	434 (37,1)
Fumo de mascar	0 (0)	0 (0)
Cigarro + Fumo de mascar	82 (18,3)	249 (21,3)
Nunca fumaram	54 (12,1)	179 (15,3)
Ex-tabagista	5 (1)	25 (2,2)
NR	141 (31,4)	281 (24,1)
Etilistas	190 (42,3)	525 (45)
Nunca beberam	137 (30,5)	304 (26)
NR	122 (27,2)	339 (29)

Legenda: NR – Não relatado

Fonte: Elaborado pelo autor, compilado dos trabalhos de (Kaminagakura et al., 2011; Kaminagakura et al., 2016; Miranda Galvis et al., 2018; Chen et al., 2019).

Tabela 4 - Características específicas das neoplasias

Variável	Jovens (n/%)	Controle (n/%)
T (1 + 2)	290 (64,6)	765 (65,5)
T (3 + 4)	150 (33,4)	356 (30,5)
NR	9 (2)	47 (4)
N0	207 (46,1)	560 (47,9)
N+	141 (31,4)	348 (29,8)
NR	101 (22,5)	260 (22,3)
EC precoce (1 + 2)	205 (45,7)	512 (43,8)
EC avançado (3 + 4)	229 (51)	478 (41)
NR	15 (3,3)	178 (15,2)

Legenda: NR – Não relatado; EC – Estádio Clínico; T – Fator T (TNM); N – Fator N (TNM)

Fonte: Elaborado pelo autor, compilado dos trabalhos de (Kaminagakura et al., 2011; Kaminagakura et al., 2016; Miranda Galvis et al., 2018; Chen et al., 2019).

Tabela 5 - Modalidades de tratamento empregadas

Variável	Jovens (n/%)	Controle (n/%)
C	184 (40,9)	519 (44,5)
RT	39 (8,7)	96 (8,2)
C + RT	132 (29,4)	270 (23,1)
C + QT	8 (1,8)	13 (1,1)
C + RT + QT	52 (11,6)	146 (12,5)
NR	34 (7,6)	124 (10,6)

Legenda: C – Cirurgia; RT – Radioterapia; QT – Quimioterapia; NR – Não relatado

Fonte: Elaborado pelo autor, compilado dos trabalhos de (Kaminagakura et al., 2011; Kaminagakura et al., 2016; Miranda Galvis et al., 2018; Chen et al., 2019).

Tabela 6 - Desfechos

Variável	Jovens (n/%)	Controle (n/%)
Recorrências	193 (43)	421 (36)
Vivo	160 (35,6)	317 (27,1)
Morte	140 (31,2)	290 (24,8)
NR	149 (33,2)	561 (48)

Legenda: NR – Não relatado

Fonte: Elaborado pelo autor, compilado dos trabalhos de (Kaminagakura et al., 2011; Kaminagakura et al., 2016; Miranda Galvis et al., 2018; Chen et al., 2019).

Tabela 7 - Índices de sobrevida

Variável	Jovens (n/%)	Controle (n/%)
SG	37,6 %	54,1 %
SLD	59,5 %	67,6 %

Legenda: SG- Sobrevida global; SDL - Sobrevida livre de doença

Fonte: Elaborado pelo autor, compilado dos trabalhos de (Kaminagakura et al., 2011; Kaminagakura et al., 2016; Miranda Galvis et al., 2018; Chen et al., 2019).

Os dados da Tabela 2 a 7 são o compilado das amostras dos quatro artigos selecionados para a extração de dados. Com relação aos dados demográficos, vistos na Tabela 2, foi observado que a maioria dos pacientes pertencia ao grupo controle $n=1668$ (72,23%). O grupo de pacientes jovens apresentou uma variação de 15 até 40 anos, com média de 32,4 anos, e o grupo controle, variação de 41 a 94 anos, com média de idade de 61,7 anos. A maior proporção de homens foi encontrada em ambos os grupos: 59,9% no grupo jovem e 74,7% no controle.

Dados a respeito dos hábitos dos pacientes podem ser vistos na Tabela 3. A proporção de pacientes fumantes foi homogênea nos dois grupos, com 37,2% dos jovens e 37,1% dos pacientes controle relatando o hábito de fumar, sem nenhum relato de uso exclusivo de algum tipo de fumo de mascar em nenhum dos grupos. Os usuários de fumo de mascar o utilizam em combinação com o tabaco convencional – 18,3% nos jovens e 21,3% no grupo controle. Cerca de 12,1% dos pacientes jovens relataram nunca terem feito nenhum uso de tabaco, enquanto esse número retrata 15,3% dos pacientes controle. Já a população de ex-fumantes na amostra foi menor, com 1% nos pacientes jovens e 2,2% dos pacientes controle. É preciso levar em consideração o elevado número de pacientes que não relatou nenhum dado com relação ao tabaco – 31,4 % no grupo jovem e 24,1% no grupo controle. Já os pacientes etilistas foram predominantes em ambos os grupos, com 42,3% no grupo jovem e 45% no controle, enquanto 30,5% dos jovens e 26% do controle relataram não fazer uso de bebidas alcoólicas. Em relação ao uso de álcool, houve alto índice de não reportados, com 27,2% e 29% no grupo jovem e controle, respectivamente.

A Tabela 4 apresentou dados da classificação TNM, o grupo T (1+2) foi descrito em 64,6% dos jovens e 65,5% no grupo controle, e as neoplasias do grupo T (3+4) representaram 33,4% nos jovens e 30,5% no grupo controle. O índice de casos em que não se reportou o fator T foi 2% dos jovens e 4% no grupo controle. O envolvimento de linfonodos, representados em 2 grupos (N0, N+), demonstrou

46,1% N0 no grupo de pacientes jovens e 47,9 no grupo controle. Em relação a N+, foi observada sua presença em 31,4% no grupo jovem e em 29,8% no controle. No grupo jovem, 22,5% não tiveram o fator N reportado, enquanto esse dado foi de 22,3% para o grupo controle. Os trabalhos de (Chen et al., 2019; Kaminagakura et al., 2016, 2011) não relataram nenhum paciente com metástase a distância. Já o trabalho de (Chen et al., 2019) relatou metástase, porém sem fazer a estratificação por grupos etários distintos, o que fez com que o dado não pudesse ser utilizado nesta revisão. Quanto ao EC da neoplasia, pôde-se observar uma discreta prevalência de EC mais avançado nos grupos de pacientes jovens, com 51% em estádios (3+4) em comparação ao grupo controle, que demonstrou um percentual menor de sua amostra nesse estágio: 41%. Já para os estádios clínicos precoces (1+2), o índice foi de 45,7% para os jovens e de 43,8% para o grupo controle. Houve um maior índice de não reportados para o grupo controle, sendo equivalente a 15,2% da amostra, enquanto apenas em 3,3% dos jovens não foi possível obter esse dado.

Na Tabela 5, obtêm-se dados a respeito das modalidades de tratamento. A mais empregada foi a cirurgia isolada – 40,9% dos jovens e 44,5% do grupo controle, seguida pela combinação de C e RT em 29,4% dos jovens e 23,1% no grupo controle. Em terceiro lugar, aparece a combinação de C+RT+QT em C+QT apenas com 1,8% e 12,5% no grupo controle, sendo a modalidade de tratamento menos empregada a combinação de C+QT apenas com 1,8% dos jovens e 1,1% do controle, tendo um número relativamente baixo de não reportados com 7,6% dos jovens e 10,6% do controle. Esses dados refletem que a modalidade de tratamento mais utilizada ainda é a cirúrgica e que as terapias combinadas entram como coadjuvantes.

Com relação aos índices gerais de desfechos, podem ser visualizados na Tabela 6. As recorrências foram semelhantes nos dois grupos, com 43% no grupo de pacientes jovens e 36% no grupo controle. Os índices de morte foram maiores

no grupo de pacientes jovens, com 31,2% em comparação ao controle, com 24,8%. É preciso levar em conta o alto índice de desfechos não reportados nessas amostras, o que representa 33,2% dos grupos jovens e 48% dos grupos controle.

Já na Tabela 7, em que estão listados os índices de sobrevida, verifica-se que a SLD foi menor no grupo de pacientes jovens em comparação ao grupo controle, sendo 59,5% e 67,6%, respectivamente. E as taxas de SG foram de 37,6% para jovens e 54,1% para o grupo controle.

4.6 Avaliação do risco de viés

4.6.1 Características da população do estudo (viés de seleção)

O estudo de (Kaminagakura et al., 2011) possuiu um risco de viés baixo de acordo com as características da população e apresentou uma população bem definida. As amostras foram bem descritas de acordo com as peculiaridades clínicas, demográficas e metodologia de recrutamento, e os critérios de inclusão e exclusão das amostras também foram muito bem especificados. O mesmo resultado foi encontrado para o trabalho de (Miranda Galvis et al., 2018), no qual foi seguida uma metodologia similar na seleção da população de estudo, mas houve sobreposição nas amostras estudadas por (Kaminagakura et al., 2011). Já (Chen et al., 2019) não reportaram os critérios de inclusão e exclusão com clareza, o que fez com que os examinadores considerassem um trabalho com risco de viés médio.

4.6.2 Desistências do estudo (viés de atrito)

Por se tratar de estudos retrospectivos, em que não se pôde selecionar uma amostra e acompanhá-la ao longo dos anos, relatando as perdas de acompanhamento e desistências do estudo, esses dados não foram coletados por nenhum dos trabalhos (Chen et al., 2019; Kaminagakura et al., 2011; Kaminagakura et al., 2016; Miranda Galvis et al., 2018), por isso todos apresentaram alto risco de viés. Não foi possível mensurar qual seria o índice de desistência ou perda de acompanhamento em um estudo retrospectivo.

4.6.3 Medição do fator prognóstico

Os fatores de prognóstico TNM, EC e grau de diferenciação histológica foram adequadamente relatados e estratificados pelos grupos nos trabalhos de (Kaminagakura et al., 2011; Kaminagakura et al., 2016; Galvis et al., 2018), já no trabalho de (Chen et al., 2019), essas informações foram descritas, porém sem estratificação por grupos, o que impediu a extração desses dados e uma possível comparação com os outros trabalhos. Isso fez com que este trabalho trouxesse um grau de viés para a medição do qufator prognóstico.

4.6.4 Medição de resultados

Todos os quatro trabalhos apresentaram os desfechos propostos e foram mensurados e preservados ao longo do estudo (Chen et al., 2019; Miranda Galvis et al., 2018; Kaminagakura et al., 2011, 2016).

4.6.5 Fatores de confundimento

Os trabalhos de (Miranda Galvis et al., 2018; Kaminagakura et al., 2011, 2016) levaram em consideração os principais fatores de confundimento elencados. Trouxeram informações completas e detalhadas a respeito dos índices de tabagismo, etilismo e diferentes modalidades de tratamento empregadas (cirurgia, radioterapia e quimioterapia) em suas amostras, o que pode ser analisado sistematicamente e exportado para a extração dos dados para análise quantitativa das informações, caracterizando um baixo risco de viés. Esse mesmo caso não se observou no trabalho de (Chen et al., 2019), em que não foram coletados dados a respeito do uso de álcool. Quanto ao tabagismo e informações a respeito das modalidades de tratamento empregadas (TNM, EC), por não serem estratificadas em grupo, não foram levados em consideração.

4.6.6 Análise estatística e registro dos dados

Não foi possível fazer análise estatística consistente pela limitação da quantidade de estudos eleitos pelos critérios de inclusão e exclusão.

5 DISCUSSÃO

A definição de pacientes jovens foi baseada nas recomendações do (National Institutes of Health, National Cancer Institute, LIVESTRONG™ Young Adult Alliance, 2006), que considera adultos jovens <40 anos. Nesse estudo, 13 trabalhos foram excluídos por considerarem adultos jovens a idade até 45 anos.

Existe controvérsia na literatura se há ou não diferença no prognóstico entre o grupo adulto jovem e o controle e os motivos dessa possível diferença. Os dados da literatura indicam piores prognósticos em grupos jovens porque, por serem poupados de cirurgias extensas e mutiladoras, podem ser submetidos a subtratamentos (Vargas et al., 2000). Desse modo, estão suscetíveis a recidivas. Paralelamente, existe a hipótese de que o grupo de idade mais avançada é o que apresenta pior prognóstico, fato este relacionado a terapias mais conservadoras em decorrência de doenças crônicas e estádios mais avançados da doença (Sanabria, 2007). Outros autores sugerem que, no grupo jovem, há maior instabilidade genômica em comparação aos de idade mais avançada (Santos-silva et al., 2011; Toner, O'Regan, 2009) aumentando a agressividade no CCEB de língua (Santos-silva et al., 2011).

As proteínas envolvidas no ciclo celular executam diversas funções nas células neoplásicas, a exemplo da Ki-67, responsável por manter a integridade da estrutura do DNA durante a mitose (Matsumoto et al., 1999; Miranda Galvis et al., 2018). (Miranda Galvis et al., 2018) não encontraram diferenças significativas na expressão de Ki67, P16, Ciclina D1, P21, Catepsina K, Bcl-2 e P53 entre pacientes jovens e no grupo controle. A P53 funcionante possui mecanismos para a supressão de tumor, inibindo a proliferação celular e induzindo à apoptose (Nagler et al., 2002). A hiperexpressão de P53 em pacientes ≤ 40 anos foi

correlacionada com piores prognósticos (Lingen et al., 2000). Esse fato foi observado por (Siegelmann-danieli et al., 2005), que, além de observar piores prognósticos, relatou similaridade na expressão entre o grupo jovem (≤ 45 anos de idade) e o controle. Entretanto, (Lam et al., 2000) não encontraram correlação entre a expressão de P53 com idade, mas sim entre a expressão da Ciclina D1 com idade.

A hiperexpressão da Ciclina D1 no grupo de pacientes jovens correlacionou-se com pior SLD, e, no grupo controle, houve correlação com piores taxas de SG (Kaminagakura et al., 2011), contrastando com os achados de (Miranda Galvis et al., 2018). Esses dois trabalhos possuem amostras sobrepostas, porém o trabalho de Miranda Galvis adicionou pacientes de quatro outros centros de patologia bucal da Universidade de Campinas (Escola de Odontologia de Piracicaba, Brasil), Universidade Estadual Paulista – Unesp (Escola de Odontologia de Araçatuba, Brasil), Centro Clínico de Cabeza y Cuello (Guatemala), e The University of Sheffield (School of Clinical Dentistry, UK), o que pode explicar a discrepância. Similares ao encontrado por (Kaminagakura et al., 2011), há trabalhos que relacionam a Ciclina D1 como um bom marcador prognóstico para CCEB. Entretanto, (Mineta et al., 2000; Tsai et al., 2011) relacionaram a hiperexpressão da Ciclina D1 com piores prognósticos e maiores índices de metástase em pacientes com CCEB em língua. A hiperexpressão da Ciclina D1 também apresenta pior prognóstico nos pacientes tabagistas (Tsai et al., 2011).

A hiperexpressão da proteína P16 também foi associada a melhores prognósticos do CCEB, inclusive em lesões que não estão associadas ao PVH (Harris et al., 2011). O gene Bcl-2 possui uma conhecida atividade antiapoptótica. A hipoexpressão da Bcl-2 é regulada pela proteína P53 mutada (Barros et al., 2005). A associação entre P53 e P21 demonstra bons resultados na avaliação prognóstica do CCEB. A P21 é uma conhecida proteína supressora de tumor que

tem relação com a expressão da P53, e sua hiperexpressão está relacionada a piores prognósticos (Yen-Ping Kuo et al., 2002).

A RECK é uma proteína que apresenta função essencial na remodelação tecidual e na angiogênese fisiológica ou tumoral, por meio da regulação pós-transcricional da atividade de metaloproteinases de matriz (Herbster, 2018). O trabalho de (Chen et al., 2019) associou piores índices de SLD à hipoexpressão de RECK em pacientes jovens. A RECK é expressa em tecidos saudáveis e, quando hipoexpressa nos CCEB, está relacionada a piores prognósticos (Khanh et al., 2008; Yuan et al., 2020a). Sua hipoexpressão leva a um aumento na expressão de MMP9 (Chen et al., 2019), o que contribui para degradação da membrana celular e, conseqüentemente, para a formação de metástase (Nishio et al., 2016). A MMP9 é mais expressa em CCEB de pacientes jovens, em comparação com os pacientes do grupo controle, e está relacionada a piores prognósticos em jovens (Miranda Galvis et al., 2018). A hiperexpressão de MMP9 pode estar relacionada a um maior índice de metástases e pior prognóstico (Zhou et al., 2006).

A biotransformação de drogas é importante no processo da carcinogênese do CCEB. As proteínas CYP1A1, CYP1B1, ALDH1A1 e ALDH2 foram avaliadas no grupo adulto jovem e controle por (Kaminagakura et al., 2016). A proteína ALDH1A1, relacionada com o metabolismo do álcool, apresentou hipoexpressão e, quando hiperexpressa, correlacionou-se com melhores taxas de SLD em pacientes jovens. Segundo (Hwang et al., 2012), a hiperexpressão dessa proteína aumenta a metabolização do acetaldeído, o que diminui os riscos de se desenvolver CCEB. Contrastando com o resultado, (Zhou, Sun, 2014) encontraram correlação da expressão dessa enzima com neoplasias pouco diferenciadas, metástases em linfonodo e piores prognósticos. Já no grupo controle, houve hiperexpressão da proteína CYP1B1, que foi relacionada ao consumo do tabaco e, também, a melhores taxas de SLD. O maior tempo de

exposição das células epiteliais ao tabaco levou a maior expressão dessa enzima, provavelmente esses pacientes desenvolveram maior capacidade de metabolização das drogas na idade mais avançada (Kaminagakura et al., 2011). Entretanto, existe controvérsia, diante da descoberta de a hiperexpressão da ALDH1A1 e da CYP1B1 ter demonstrado relação com maiores índices de resistência a agentes quimioterápicos e piores índices no prognóstico do CCEB (Verma et al., 2019).

No trabalho de (Miranda Galvis et al., 2018), os autores encontraram hiperexpressão de EGFR em pacientes jovens em comparação ao grupo controle, mas não se correlacionou com o prognóstico. A hiperexpressão de C-ErbB2 foi associada a menor SLD em pacientes jovens, sugerindo que, nesses grupos, a expressão das proteínas dessa família está associada à rápida progressão do CCEB. Entretanto (Ulanovski et al., 2004), não indica o uso de C-ErbB2 para determinar o prognóstico de CCEB. A hiperexpressão de EGFR em pacientes jovens também foi encontrada por (Costa et al., 2018), que não relacionaram diretamente a hiperexpressão dessa proteína a piores prognósticos, porém relataram que essa proteína está relacionada a neoplasias em estádios mais avançados, com maiores dimensões e que possuem tendência a apresentar piores taxas de sobrevida.

Uma das limitações deste estudo foi encontrar trabalhos que fizessem uma correlação entre a expressão das proteínas e o prognóstico do CCEB, estratificando grupos de pacientes entre jovens e grupo controle. A padronização da idade também limitou a seleção de trabalhos. Muitos autores consideram adultos jovens pacientes entre 30 a 50 anos, ou até 45 anos (Chandra, Thattil, 2013; Chen et al., 2020; Culhaci et al., 2004; Lohavanichbutr et al., 2013; Hsieh et al., 2013; Ruy et al., 2019; Maqsood et al., 2021; Muzio et al., 2003, 2007; Oliveira-Costa et al., 2012; Qi et al., 2008; Wang, Ge, 2018). Alguns estudos encontrados não realizaram a estratificação em grupos por diferentes faixas

etárias, o que impossibilitou fazer a correlação entre o prognóstico de jovens e adultos (Brisam et al., 2016; Chang et al., 2009, 2011; Gueiros et al., 2011; Sordo et al., 2010).

Há diferentes formas de se fazer uso do tabaco, de acordo com a região do mundo, sendo comum as formas mascáveis nas regiões sul-asiáticas, intimamente relacionadas a piores prognósticos do CCEB (Yang et al., 2021). Como foi demonstrado por (Lee et al., 2008), a hiperexpressão de metalotioneína-1, uma proteína do ciclo celular, pode estar relacionada a maior risco de metástase em pacientes que mascam folha de areca, mas não fez a associação dessa proteína ao tabaco convencional. Segundo (Zhong et al., 2021), o hábito de mascar folha de areca pode influenciar, também, na microbiota oral, tornando um microambiente mais favorável ao desenvolvimento do CCEB. Outro fato relacionado ao tabagismo, principalmente em jovens, é o uso dos cigarros eletrônicos, que, embora sua criação tenha sido voltada a encontrar um método menos nocivo à saúde, seu uso já vem sendo associado a novos casos de CCEB (Nguyen et al., 2017; Tsai et al., 2020). Por isso, sem ainda termos dados consistentes com relação às características das lesões relacionadas aos cigarros eletrônicos, ele deve ser considerado um potencial viés nos novos estudos que não discriminarem seu uso e não o diferenciarem dos métodos de tabaco convencionais.

Os fatores prognósticos para o CCEB ainda vão além do fator TNM, grau de diferenciação histopatológica, do grau de profundidade da invasão da neoplasia e da idade (Kaminagakura et al., 2021). Outro fator prognóstico que pode ser considerado um grande risco de viés em um estudo como este proposto é o fator socioeconômico. Ele deve ser levado em consideração quando analisamos que as populações carentes possuem maiores índices de incidência, mortalidade e piores prognósticos associados ao câncer (Kollman, Sobotka, 2018). Os maiores índices de hábitos como álcool e tabaco, dificuldade de acesso ao atendimento de saúde e situações de tratamento mais precárias faz com que essas populações enfrentem

maiores desafios frente ao diagnóstico do câncer (Boscoe et al., 2016). O panorama social do grupo de pacientes negros mostrou mais pacientes solteiros, menos pacientes cobertos por seguro de saúde, mais neoplasias em estágio avançado e pior SG do que os brancos (30,8% vs 53,6% em 5 anos) (Yu et al., 2019). Segundo (dos Santos et al., 2012) – que encontraram, em sua amostra, a maioria dos pacientes composta por homens idosos, de baixa renda, analfabetos e residentes no interior – o atraso entre o diagnóstico e o atendimento especializado foi um fator de preocupação, e essa dificuldade de acesso aos serviços para se determinar um diagnóstico e a falta de agilidade, com filas de espera para atendimento especializado, pode interferir negativamente no prognóstico desses pacientes. Diante dos fatores estudados para se determinar prognóstico, não há nada com tão forte influência no prognóstico e sobrevida do paciente como o diagnóstico precoce (dos Santos et al., 2010). O atraso para o início do tratamento em pacientes com condições socioeconômicas desfavoráveis compromete seriamente o prognóstico e é responsável por, muitas vezes, não existir mais alternativas de tratamento, quando o paciente chega ao atendimento especializado (Kowalski, Carvalho, 2001)

Também devemos levar em conta as características específicas de cada lesão, como topografia da neoplasia, TNM, grau de diferenciação histológica e modalidade de tratamento. Alguns trabalhos incluíam CCEB de orofaringe na amostra (Perisanidis et al., 2013; Smith et al., 2016), por isso foram excluídos em nossa revisão. O trabalho de (Chen et al., 2019), por não trazer essas informações estratificadas por grupos, foi considerado de alto risco de viés.

Encontrar trabalhos que estudassem as mesmas proteínas pela técnica de IHQ foram escassos, somente os trabalhos de (Miranda Galvis et al., 2018; Kaminagakura et al., 2011), mas houve sobreposição de amostras e a meta-análise não foi empregada. Miranda Galvis e Kaminagakura não relataram, na

metodologia, quais foram *cut off* para considerar hiper/hipoexpressão das proteínas avaliadas.

Há a necessidade de novos estudos multicêntricos, em que se estabeleça, adequadamente, uma padronização das faixas etárias para coletas de grupos, considerando jovem o paciente ≤ 40 anos, além da padronização dos dados clínicos, epidemiológicos, sociodemográficos, hábitos e vícios de cada paciente portador de CCEB, seguindo a recomendação do National Institutes of Health, National Cancer, Institute and LIVESTRONG Young Adult Alliance Consortium recommendations sobre a faixa etária do grupo adulto jovem, de 18 a 40 anos de idade.

6 CONCLUSÃO

O presente estudo não encontrou estudos primários que possam prever, com segurança, o prognóstico do CCEB em pacientes jovens por meio da técnica de IHQ. Entretanto, alguns resultados mostraram-se encorajadores, tais como:

- Hipoexpressão de RECK e foi associada à menor taxa de SLD em jovens;
- Hiperexpressão de Ciclina D1, e Cerb-2 foram correlacionadas com as menores taxas de SLD em jovens;
- Hiperexpressão de ALDH1A1 correlacionada a melhores taxas de SLD em jovens.

É necessária e promissora a iniciativa de se realizarem mais estudos multicêntricos que colem dados padronizados e criteriosos a respeito do CCEB e correlacioná-los com expressão proteica, estratificando os pacientes por grupos etários bem definidos. Dessa forma, poderá ser validado se a IHQ pode ser uma ferramenta útil para se estabelecer o prognóstico em pacientes adultos jovens.

REFERÊNCIAS

Anneroth G, Batsakis J, Luna M. Review of the literature and a recommended system of malignancy grading in oral squamous cell carcinomas. *Scand J Dent Res*. 1987 Jun;95(3):229-49. doi: 10.1111/j.1600-0722.1987.tb01836.x. PMID: 3299675

Anneroth G, Batsakis JG, Luna M. Malignancy grading of squamous cell carcinoma in the floor of the mouth related to clinical evaluation. *Scand J Dent Res*. 1986 Aug;94(4):347-56. doi: 10.1111/j.1600-0722.1986.tb01773.x. PMID: 3462898.

Arvanitidou S, Martinelli-Kläy CP, Samson J, Lobrinus JA, Dulguerov N, Lombardi T. HSP105 expression in oral squamous cell carcinoma: Correlation with clinicopathological features and outcomes. *J Oral Pathol Med*. 2020 Aug;49(7):665-71. doi: 10.1111/jop.13007. Epub 2020 Mar 21. PMID: 32128880.

Ba MAP, Blackford AL, Rettig EM, Richmon JD, Eisele DW. Rising Population of survivors of oral squamous cell cancer in the United States. *Cancer*. 2016;122(9):1380–7. doi: 10.1002/cncr.29921. PMID: 26950886.

Baba J, Kioi M, Akimoto K, Nagashima Y, Taguri M, Inayama Y, et al. Atypical protein kinase C λ / ι expression is associated with malignancy of oral squamous cell carcinoma. *Anticancer Res*. 2018;38:6291–7. doi: 10.21873/anticancer.12985.

Barros RMG de, Magalhães AV de, Schmit FC. Câncer : expressão imuno-

histoquímica de c-erbB-2, Bcl-2 e EGFR : estudo comparativo com leucoplasia e hiperplasia inflamatória. Rev Odonto Ciência – Fac Odonto/PUCRS. 2005;20(50):335–40.

Bello IO, Almangush A, Heikkinen I, Haglund C, Coletta RD, Kowalski LP, et al. Histological characteristics of early-stage oral tongue cancer in young versus older patients: A multicenter matched-pair analysis. Oral Dis. 2020 Jul;26(5):1081-1085. doi: 10.1111/odi.13288. Epub 2020 Feb 14. PMID: 31994277.

Bingham C, Dickinson D, Cray J, Koli K, Ogbureke KU. Expression of p8 in human oral squamous cell carcinoma. Head Neck Pathol. 2015 Jun;9(2):214-22. doi: 10.1007/s12105-014-0565-1. Epub 2014 Aug 26. PMID: 25155047; PMCID: PMC4424217.

Boeve K, Melchers LJ, Schuuring E, Roodenburg JL, Halmos GB, van Dijk BA, et al. Addition of tumour infiltration depth and extranodal extension improves the prognostic value of the pathological TNM classification for early-stage oral squamous cell carcinoma. Histopathology. 2019 Sep;75(3):329-37. doi: 10.1111/his.13886. Epub 2019 Jul 29. PMID: 31021008; PMCID: PMC6851684.

Boscoe FP, Henry KA, Sherman RL, Johnson CJ. The relationship between cancer incidence , stage and poverty in the United States. Int J Cancer. 2016;612:607–12. doi: 10.1002/ijc.30087.

Brierley J, Gospodarowicz M, Sullivan BO. The principles of cancer staging. Ecancer. 2016;61(10):3–6. doi: 10.3332/ecancer.2016.ed61.

Brisam M, Rauthe S, Hartmann S, Linz C, Brands RC. Expression of MAGE-A1-A12 subgroups in the invasive tumor front and tumor center in oral squamous cell carcinoma. *Oncol Rep.* 2016;35:1979–86. doi: 10.3892/or.2016.4600.

Budach V, Tinhofer I. Review Novel prognostic clinical factors and biomarkers for outcome prediction in head and neck cancer : a systematic review. *Lancet Oncol.* 2019;20(6):e313–26. doi: 10.1016/S1470-2045(19)30177-9.

Cappuzzo F, Hirsch FR, Rossi E, Bartolini S, Ceresoli GL, Bemis L, et al. Epidermal growth factor receptor gene and protein and gefitinib sensitivity in non-small-cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2005 May 4;97(9):643-55. doi: 10.1093/jnci/dji112. PMID: 15870435.

Chandler K, Vance C, Budnick S, Muller S. Muscle invasion in oral tongue squamous cell carcinoma as a predictor of nodal status and local recurrence: just as effective as depth of invasion? *Head Neck Pathol.* 2011 Dec;5(4):359-63. doi: 10.1007/s12105-011-0296-5. Epub 2011 Sep 4. PMID: 21892763; PMCID: PMC3210217.

Chandra A, Thattil B. Oral squamous cell carcinomas in age distinct population : A comparison of p53 immunoexpression. *J Cancer Res Ther -.* 2013;9(4):587–92. doi: 10.4103/0973-1482.126452.

Chang H, Chiang C, Hung H, Lin C, Deng Y. Histone deacetylase 2 expression predicts poorer prognosis in oral cancer patients. *Oral Oncol.* 2009;45(7):610–4. doi: 10.1016/j.oraloncology.2008.08.011.

Chang K, Kao H, Yen T, Chang Y, Liang Y, Liu S. Overexpression of macrophage inflammatory protein-3 a in oral cavity squamous cell carcinoma is associated with nodal metastasis q. *Oral Oncol.* 2011;47(2):108–13. doi: 10.1016/j.oraloncology.2010.11.012.

Charles KA, Harris BD, Haddad CR, Clarke SJ, Guminski A, Stevens M, et al. Systemic inflammation is an independent predictive marker of clinical outcomes in mucosal squamous cell carcinoma of the head and neck in oropharyngeal and non-oropharyngeal patients. *BMC Cancer.* 2016 Feb 18;16:124. doi: 10.1186/s12885-016-2089-4. PMID: 26892430; PMCID: PMC4759931.

Chen HC, Tseng YK, Shu CW, Fu TY, Liou HH, Huang CH, et al. Prognostic role of RECK in pathological outcome-dependent buccal mucosa squamous cell carcinoma. *Oral Dis.* 2020 Jan;26(1):62-71. doi: 10.1111/odi.13214. Epub 2019 Nov 15. PMID: 31618798.

Chen JH, Yen YC, Yang HC, Liu SH, Yuan SP, Wu LL, et al. Curative-Intent aggressive treatment improves survival in elderly patients with locally advanced head and neck squamous cell carcinoma and high comorbidity index. *Medicine (Baltimore).* 2016 Apr;95(14):e3268. doi: 10.1097/MD.0000000000003268. PMID: 27057882; PMCID: PMC4998798.

Chen S, Lin Z, Chen J, Yang A, Zhang Q, Xie C. Older age is a risk factor associated with poor prognosis of patients with squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Eur Arch Oto-Rhino-Laryngology.* 2020;277(9):2573–80. doi: 10.1007/s00405-020-05963-3.

Costa V, Kowalski LP, Coutinho-Camillo CM, Begnami MD, Calsavara VF, Neves JI, et al. EGFR amplification and expression in oral squamous cell carcinoma in young adults. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2018 Jul;47(7):817-23. doi: 10.1016/j.ijom.2018.01.002. Epub 2018 Feb 1. PMID: 29395668.

Culhaci N, Metin K, Copcu E, Dikicioglu E. Elevated expression of MMP-13 and TIMP-1 in head and neck squamous cell carcinomas may reflect increased tumor invasiveness. *BMC Cancer*. 2004 Aug 3;4:42. doi: 10.1186/1471-2407-4-42. PMID: 15291964; PMCID: PMC512290.

Cuneo KC, Nyati MK, Ray D, Lawrence TS. EGFR targeted therapies and radiation: Optimizing efficacy by appropriate drug scheduling and patient selection. *Pharmacol Ther*. 2015 Oct;154:67-77. doi: 10.1016/j.pharmthera.2015.07.002. Epub 2015 Jul 21. PMID: 26205191; PMCID: PMC4570853.

Deyhimi P, Azmoudeh F. HSP27 and HSP70 expression in squamous cell carcinoma: An immunohistochemical study. *Dent Res J (Isfahan)*. 2012 Mar;9(2):162-6. doi: 10.4103/1735-3327.95230. PMID: 22623932; PMCID: PMC3353692.

Gerdes J, Schwab U, Lemke H, Stein H. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *Int J Cancer*. 1983 Jan 15;31(1):13-20. doi: 10.1002/ijc.2910310104. PMID: 6339421

Get Data Digitizer [internet]. [cited 2021]. Available from: <http://getdata-graph-digitizer.com>

Gueiros LA, Coletta RD, Kowalski LP, Clinicopathological MAL. Clinicopathological features and proliferation markers in tongue squamous cell carcinomas. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2011;40(5):510–5. doi: 10.1016/j.ijom.2010.12.008.

Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011 Mar 4;144(5):646–74. doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013. PMID: 21376230.

Harris SL, Thorne LB, Seaman WT, Hayes DN, Couch ME, Kimple RJ. Association of p16(INK4a) overexpression with improved outcomes in young patients with squamous cell cancers of the oral tongue. *Head Neck*. 2011 Nov;33(11):1622–7. doi: 10.1002/hed.21650. Epub 2010 Dec 28. PMID: 21990227.

Hayden JA, van der Windt DA, Cartwright JL, Côté P, Bombardier C. Assessing bias in studies of prognostic factors. *Ann Intern Med*. 2013 Feb 19;158(4):280–6. doi: 10.7326/0003-4819-158-4-201302190-00009. PMID: 23420236.

Head and Neck Cancer Study Group (HNCSG), Monden N, Asakage T, Kiyota N, Homma A, Matsuura K, et al. A review of head and neck cancer staging system in the TNM classification of malignant tumors (eighth edition). *Jpn J Clin Oncol*. 2019 Jul 1;49(7):589–95. doi: 10.1093/jjco/hyz052. PMID: 31194232.

Herbster S da SG. Estudo do papel da proteína RECK no processo de tumorigênese mediado pelo papilomavírus humano [tese]. São Paulo : Universidade de São Paulo (USP), Instituto de Ciências Biomédicas (ICB/SDI); 2018.

Hsieh CH, Hou ML, Chiang MH, Tai HC, Tien HJ, Wang LY, et al. Head and neck irradiation modulates pharmacokinetics of 5-fluorouracil and cisplatin. *J Transl Med*. 2013;11(1):1. doi: 10.1186/1479-5876-11-231.

Huang SH, O'Sullivan B. Overview of the 8th Edition TNM Classification for Head and Neck Cancer. *Curr Treat Options Oncol*. 2017 Jul;18(7):40. doi: 10.1007/s11864-017-0484-y. PMID: 28555375.

Hwang PH, Lian L, Zavras AI. Alcohol intake and folate antagonism via CYP2E1 and ALDH1 : Effects on oral carcinogenesis q. *Med Hypotheses*. 2012;78(2):197–202. doi: 10.1016/j.mehy.2011.10.023.

JBIGlobal [internet]. Adelaide: Faculty of Health and Medical Sciences The University of Adelaide. [cited 2021]. Available from: <https://jbi.global>

Kaminagakura E, Caris A, Coutinho-Camillo C, Soares FA, Takahama-Júnior A, Kowalski LP. Protein expression of CYP1A1, CYP1B1, ALDH1A1, and ALDH2 in young patients with oral squamous cell carcinoma. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2016 Jun;45(6):706-12. doi: 10.1016/j.ijom.2016.02.004. Epub 2016 Mar 2. PMID: 26944893.

Kaminagakura E, Werneck da Cunha I, Soares FA, Nishimoto IN, Kowalski LP. CCND1 amplification and protein overexpression in oral squamous cell carcinoma of young patients. *Head Neck*. 2011 Oct;33(10):1413-9. doi: 10.1002/hed.21618. Epub 2011 Jan 20. PMID: 21254295

Kaminagakura E, Tango RN, Cruz-Perez D, Bonan R, Yamamoto de Almeida L,

de Almeida Lança ML, et al. Oral squamous cell carcinoma outcome in adolescent/young adult: Systematic review and meta-analysis. *Head Neck*. 2022 Feb;44(2):548-61. doi: 10.1002/hed.26940. Epub 2021 Nov 22. PMID: 34808012.

Kaminagakura E, Villa LL, Andreoli MA, Sobrinho JS, Vartanian JG, Soares FA, et al. High-risk human papillomavirus in oral squamous cell carcinoma of young patients. *Int J Cancer*. 2012 Apr 15;130(8):1726-32. doi: 10.1002/ijc.26185. Epub 2011 Aug 5. PMID: 21618514.

Kato K, Kawashiri S, Tanaka A, Noguchi N, Nakaya H, Hase T, et al. Predictive value of measuring p53 labeling index at the invasive front of oral squamous cell carcinomas. *Pathol Oncol Res*. 2008 Mar;14(1):57-61. doi: 10.1007/s12253-008-9022-3. Epub 2008 Mar 19. PMID: 18350375.

Khanh N, Kato K, Yamashita T, Makita H. Hypermethylation of the RECK gene predicts poor prognosis in oral squamous cell carcinomas. *Oral Oncol*. 2008;44(11):1052–8. doi: 10.1016/j.oraloncology.2008.02.004.

Kollman J, Sobotka HL. Poverty and cancer disparities in Ohio. *Prev Chronic Dis*. 2018 Dec 6;15:E152. doi: 10.5888/pcd15.180332. PMID: 30522581; PMCID: PMC6292140.

Kowalski LP, Carvalho AL. Influence of time delay and clinical upstaging in the prognosis of head and neck cancer. *Oral Oncol*. 2001 Jan;37(1):94-8. doi: 10.1016/s1368-8375(00)00066-x. PMID: 11120489.

Kuo R, Lin C, Kuo MY. Prognostic Role of c-Jun Activation in Patients with

Areca Quid Chewing-related Oral Squamous Cell Carcinomas in Taiwan. *J Formos Med Assoc.* 2006;105(3):229–34. doi: 10.1016/S0929-6646(09)60310-7.

Lam KY, Ng IO, Yuen AP, Kwong DL, Wei W. Cyclin D1 expression in oral squamous cell carcinomas: clinicopathological relevance and correlation with p53 expression. *J Oral Pathol Med.* 2000 Apr;29(4):167-72. doi: 10.1034/j.1600-0714.2000.290404.x. PMID: 10766394.

Lee SS, Yang SF, Ho YC, Tsai CH, Chang YC. The upregulation of metallothionein-1 expression in areca quid chewing-associated oral squamous cell carcinomas. *Oral Oncol.* 2008 Feb;44(2):180-6. doi: 10.1016/j.oraloncology.2007.01.019. Epub 2007 Apr 5. PMID: 17418620.

Lenouvel D, González-Moles MÁ, Ruiz-Ávila I, Chamorro-Santos C, González-Ruiz L, González-Ruiz I, et al. Clinicopathological and prognostic significance of PD-L1 in oral cancer A preliminary retrospective study. *Oral Dis* -. 2021;27:173–82. doi: 10.1111/odi.13509.

Lingen MW, Chang KW, McMurray SJ, Solt DB, Kies MS, Mittal BB, et al. Overexpression of p53 in squamous cell carcinoma of the tongue in young patients with no known risk factors is not associated with mutations in exons 5-9. *Head Neck.* 2000 Jul;22(4):328-35. doi: 10.1002/1097-0347(200007)22:4<328::aid-hed3>3.0.co;2-r. PMID: 10862014.

Lo Muzio L, D'Angelo M, Procaccini M, Bambini F, Calvino F, Florena AM, et al. Expression of cell cycle markers and human papillomavirus infection in oral squamous cell carcinoma: use of fuzzy neural networks. *Int J Cancer.* 2005 Jul

10;115(5):717-23. doi: 10.1002/ijc.20940. PMID: 15729691.

Lohavanichbutr P, Méndez E, Holsinger FC, Rue TC, Zhang Y, Houck J, et al. A 13-gene signature prognostic of HPV-negative OSCC: discovery and external validation. *Clin Cancer Res*. 2013 Mar 1;19(5):1197-203. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-12-2647. Epub 2013 Jan 14. PMID: 23319825; PMCID: PMC3593802.

Lydiatt WM, Shah JP, Hoffman HT; Head and Neck Sites Task Force. American Joint Committee on Cancer. AJCC stage groupings for head and neck cancer: should we look at alternatives? A report of the Head and Neck Sites Task Force. *Head Neck*. 2001 Aug;23(8):607-12. doi: 10.1002/hed.1086. PMID: 11443742.

Maqsood A, Ali A, Zaffar Z, Mokeem S, Mokeem SS, Ahmed N, et al. Expression of CD34 and α -SMA markers in oral squamous cell carcinoma differentiation. A histological and histo-chemical study. *Int J Environ Res Public Health*. 2020 Dec 29;18(1):192. doi: 10.3390/ijerph18010192. PMID: 33383808; PMCID: PMC7795485.

Mascarella MA, Mannard E, Silva SD, Zeitouni A. Neutrophil-to-lymphocyte ratio in head and neck cancer prognosis: A systematic review and meta-analysis. *Head Neck*. 2018 May;40(5):1091-100. doi: 10.1002/hed.25075. Epub 2018 Jan 22. PMID: 29356179.

Matsumoto M, Komiyama K, Tanaka HM, Mitsuhiko I, Matsumoto K, Shimoyama S, et al. Predicting tumor means metastasis in patients with oral cancer by of the proliferation marker. *J Oral Sci*. 1999;41(2):2–5. doi:

10.2334/josnugd.41.53.

Matsuzaki Y, Watabe Y, Enatsu K, Shigematsu S. Actinin-4 expression predicts poor disease-free survival and correlates with delayed lymph node metastasis in patients with completely resected oral squamous cell carcinoma. *Bull Tokyo Dent Coll.* 2020;61(3):179–86. doi: 10.2209/tdcpublication.2019-0045.

McLean A, LeMay W, Vila P, Wegner M, Remington P. Disparities in oral and pharyngeal cancer incidence and mortality among Wisconsin residents, 1999-2002. *WMJ.* 2006 Sep;105(6):32-5. PMID: 17042417.

Mineta H, Miura K, Takebayashi S, Ueda Y, Misawa K, Harada H, et al. Cyclin D1 overexpression correlates with poor prognosis in patients with tongue squamous cell carcinoma. *Oral Oncol.* 2000 Mar;36(2):194-8. doi: 10.1016/s1368-8375(99)00078-0. PMID: 10745172.

Miranda Galvis M, Santos-Silva AR, Freitas Jardim J, Paiva Fonseca F, Lopes MA, de Almeida OP, et al. Different patterns of expression of cell cycle control and local invasion-related proteins in oral squamous cell carcinoma affecting young patients. *J Oral Pathol Med.* 2018 Jan;47(1):32-39. doi: 10.1111/jop.12601. Epub 2017 Aug 4. PMID: 28626969.

Mitin T, Hunt D, Shipley WU, Kaufman DS, Uzzo R, Wu CL, et al. Transurethral surgery and twice-daily radiation plus paclitaxel-cisplatin or fluorouracil-cisplatin with selective bladder preservation and adjuvant chemotherapy for patients with muscle invasive bladder cancer (RTOG 0233): A randomised multicentre phase . *Lancet Oncol.* 2013;14(9):863–72. doi: 10.1016/S1470-2045(13)70255-9.

Muzio L, Procaccini M, Ferrari F. Survivin expression in oral squamous cell carcinoma. *Br J Cancer*. 2003;89:2244–8. doi: 10.1038/sj.bjc.6601402.

Nagler RM, Kerner H, Ira SB, Ben-itzhak O. Prognostic role of apoptotic Bcl-2, c-erbB-2 and p53 tumor markers in salivary gland malignancies. *Oncology*. 2003;64:389–98. doi: 10.1159/000070298.

Nagler RM, Kerner H, Laufer D, Ben-Eliezer S, Minkov I, Ben-Itzhak O. Squamous cell carcinoma of the tongue: the prevalence and prognostic roles of p53, Bcl-2, c-erbB-2 and apoptotic rate as related to clinical and pathological characteristics in a retrospective study. *Cancer Lett*. 2002 Dec 5;186(2):137-50. doi: 10.1016/s0304-3835(02)00265-3. PMID: 12213283.

National Institutes of Health, National Cancer Institute, LIVESTRONG™ Young Adult Alliance. Closing the gap: research and care imperatives for adolescents and young adults with cancer report of the adolescent and young adult oncology progress review group [Internet]. Bethesda: NIH Publication 06-6067; 2006 [cited Ano Mês Dia]. 107 p. Available from: <https://www.cancer.gov/types/aya/research/ayao-august-2006.pdf>

Németh N, Velich N, Bogdan S, Ujpál M, Szabó G, Suba Z. The prognostic role of clinical , morphological and molecular markers in oral squamous cell tumors Minireview. *Neoplasma*. 2005;52(2):95–102.

Nguyen H, Jp K, Kt N, Cd N, Tc B. Oral Carcinoma Associated with Chronic Use of Electronic Cigarettes. *Otolaryngology*. 2017(January):1–4. doi: 10.4172/2161-119X.1000304.

Nishio K, Motozawa K, Omagari D, Gojoubori T, Ikeda T, Asano M, et al. Comparison of MMP2 and MMP9 expression levels between primary and metastatic regions of oral squamous cell carcinoma. *J Oral Sci.* 2016;58(1):59–65.

Oliveira-Costa JP, Figueiredo D, Soares FA, Ribeiro-silva A. Topoisomerase expression in oral squamous cell carcinoma : relationship with cancer stem cells profiles and lymph node metastasis. *J Oral Pathol Med.* 2012;41(10):762–8. doi: 10.1111/j.1600-0714.2012.01174.x.

Perisanidis C, Wrba F, Brandstetter A, Kornek G, Mitchell D, Seemann R, et al. Impact of epidermal growth factor receptor , mesenchymal – epithelial transition factor , and insulin-like growth factor receptor 1 expression on survival of patients with oral and oropharyngeal cancer. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2013;51(3):234–40. doi: 10.1016/j.bjoms.2012.06.009.

Pich A, Chiusa L, Navone R. Review Prognostic relevance of cell proliferation in head and neck tumors. *Ann Oncol.* 2004;15(9):1319–29. doi: 10.1093/annonc/mdh299.

Qi S, Mogi S, Tsuda H, Tanaka Y, Kozaki K, Imoto I, et al. Expression of cIAP-1 correlates with nodal metastasis in squamous cell carcinoma of the tongue. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2008;37(July):1047–53. doi: 10.1016/j.ijom.2008.06.004.

Rahmani A, Alzohairy M, Babiker AY, Rizvi MA, Elkarimah- HG. Clinicopathological significance of PTEN and bcl2 expressions in oral

squamous cell carcinoma. *Int J Clin Exp Pathol*. 2012;5(9):965–71.

Roskoski Jr R. ErbB / HER protein-tyrosine kinases : Structures and small molecule inhibitors. *Pharmacol Res*. 2014;87:42–59. doi: 10.1016/j.phrs.2014.06.001.

Ryu HJ, Kim EK, Cho BC, Yoon SO. Characterization of head and neck squamous cell carcinoma arising in young patients: Particular focus on molecular alteration and tumor immunity. *Head Neck*. 2019 Jan;41(1):198-207. doi: 10.1002/hed.25507. Epub 2018 Dec 10. PMID: 30536665.

Sanabria A. Factors that influence treatment decision in older patients with resectable head and neck cancer. *Laryngoscope*. 2007;117(May):835–40. doi: 10.1097/MLG.0b013e318037827

Santos-silva AR, Carolina A, Ribeiro P, Maria A, Soubhia P, Miyahara I, et al. High incidences of DNA ploidy abnormalities in tongue squamous cell carcinoma of young patients : an international collaborative study. *Histopathology*. 2011;58:1127–35. doi: 10.1111/j.1365-2559.2011.03863.x.

dos Santos LCO, Batista O de M, Cangussu MCT. Characterization of oral cancer diagnostic delay in the state of Alagoas. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2010;76(4):416–22.

dos Santos V de C, de Assis AMA, Ferreira SMS, Dias EP. Câncer : análise do tempo decorrido da detecção ao início do tratamento em centro de Oncologia de Maceió. *Rev Bras Odontol*. 2012;69(2):159–64.

Sasahira T, Kirita T. Hallmarks of cancer-related newly prognostic factors of oral squamous cell carcinoma. *Int J Mol Sci Rev.* 2018;19:2413. doi: 10.3390/ijms19082413.

Shakib PA, Ensani F, Abdirad A, Valizadeh B, Seyedmajidi M, Sum S. CD44 and CD74 : The promising candidates for molecular targeted therapy in oral squamous cell carcinoma. *Dent Res J Orig.* 2015;12(2):181–6.

Siegelmann-danieli N, Ben-izhack O, Hanlon A, Ridge JA, Stein ME, Khandelwal V, et al. P53 Alteration in oral tongue cancer is not significantly associated with age at diagnosis or tobacco exposure *Tumori.* 2005;91(May 2015):346–50.doi:10.1177/030089160509100412.

Singh V, Husain N, Akhtar N, Khan M., Sonkar AA, Kumar V. p16 and p53 in HPV positive versus HPV negative oral squamous cell carcinoma (OSCC): do pathways differ? *J Oral Pathol Med.* 2017;46(9):744–51. doi: 10.1111/jop.12562.

Smith BBD, Smith GL, Carter D, Sasaki CT, Haffty BG. Prognostic significance of vascular endothelial growth factor protein levels in oral and oropharyngeal. *J Clin Oncol.* 2016;18(10):2046–52.

Sordo R Del, Angiero F, Bellezza G, Cavaliere A, Mameli MG, Stefani M, et al. HER family receptors expression in squamous cell carcinoma of the tongue : study of the possible prognostic and biological significance. *J Oral Pathol Med.* 2010;3:79–86. doi: 10.1111/j.1600-0714.2009.00815.x.

Soudry E, Preis M, Hod R, Hamzany Y, Hadar T, Bahar G, et al. Squamous cell

carcinoma of the oral tongue in patients younger than 30 years : clinicopathologic features and outcome. Clin Otolaryngol. 2010;35(4):307–12. doi: 10.1111/j.1749-4486.2010.02164.x.

Szabó B, Kárpáti A, Kenessey I, Jóri B, Székely C, Nelh GA, et al. Clinical significance of genetic alterations and expression of epidermal growth factor receptor (EGFR) in head and neck squamous cell carcinomas. Oral Oncol. 2011;47:487–96. doi: 10.1016/j.oraloncology.2011.03.020.

Takes RP, Rinaldo A, Silver CE, Piccirillo JF, Haigentz M, Suárez C, et al. Future of the TNM classification and staging system in the head and neck cancer. Head Neck. 2010(December):1693–711. doi: 10.1002/hed.

Toner M, O'Regan E. Head and neck squamous cell carcinoma in the young: a spectrum or a distinct group? Part 1. Head Neck Pathol. 2009;246. Doi: 10.1007/s12105-009-0135-0.

Tsai KYF, Budge KMH, Lepre AP, Rhees MS, Ajdaharian J, Geiler J, et al. Cell invasion , RAGE expression , and inflammation in oral squamous cell carcinoma (OSCC) cells exposed to e-cigarette flavoring. Clin Exp Dent Res. 2020(July):618–25. doi: 10.1002/cre2.314.

Tsai M, Tsai C, Tsou Y. Significant association of cyclin D1 single nucleotide polymorphisms with oral cancer in Taiwan. Anticancer Res. 2011;31:227–31.

Ulanovski D, Stern Y, Roizman P, Shpitzer T, Popovtzer A, Feinmesser R. Expression of EGFR and Cerb-B2 as prognostic factors in cancer of the tongue. Oral Oncol. 2004;40:532–7. doi: 10.1016/j.oraloncology.2003.11.004.

Vargas H, Pitman KT, Johnson JT, Galati LT. More aggressive behavior of squamous cell carcinoma of the anterior tongue in young women. *Laryngoscope*. 2000 Oct;110(10 Pt 1):1623-6. doi: 10.1097/00005537-200010000-00009. PMID: 11037814.

Verma H, Bahia MS, Choudhary S, Kumar P, Silakari O. Drug metabolizing enzymes-associated chemo resistance and strategies to overcome it. *Drug Metab Rev*. 2019;51(2):196–223. doi: 10.1080/03602532.2019.1632886.

Wang J, Jin X, Liu J, Zhao K, Xu H, Wen J, et al. The prognostic value of B7-H6 protein expression in human oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med*. 2017;9:766–72. doi: 10.1111/ijlh.12426.

Wang X, Ge W. EphA8 is a prognostic factor for oral tongue squamous cell carcinoma. *Med Sci Monit*. 2018;24:7213–22. doi: 10.12659/MSM.910909.

World Health Organization. World health statistics 2020: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals[Internet]. Geneva: World Health Organization; 2020. [cited 2022 mar 23]. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/332070>

Xu Q, Wang C, Li B, Kim K, Li J, Mao M. The impact of age on oral squamous cell carcinoma : A longitudinal cohort study of 2, 782 patients. *Oral Dis*. 2019(December 2018):730–41. doi: 10.1111/odi.13015.

Yang J, Wang Z, Huang L, Yu T, Wan S, Song J, et al. Do betel quid and areca nut chewing deteriorate prognosis of oral cancer? A systematic review, meta-

analysis and research agenda Running. *Oral Dis.* 2021;1366-1375. doi: 10.1111/odi.13456.

Yen-Ping Kuo M, Huang JS, Kok SH, Kuo YS, Chiang CP. Prognostic role of p21WAF1 expression in areca quid chewing and smoking-associated oral squamous cell carcinoma in Taiwan. *J Oral Pathol Med.* 2002 Jan;31(1):16-22. doi: 10.1046/j.0904-2512.2001.10055.x. PMID: 11896818.

Yu AJ, Choi JS, Swanson MS, Kokot NC, Brown TN, Yan G, et al. Association of race/ethnicity, stage, and survival in oral cavity squamous cell carcinoma: a SEER study. *Am Acad Otolaryngol Head Neck Surg.* 2019;3(4):1–10. doi: 10.1177/2473974X19891126.

Yu SY, Wang YP, Chang JY, Shen WR, Chen HM, Chiang CP. Increased expression of MCM5 is significantly associated with aggressive progression and poor prognosis of oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med.* 2014 May;43(5):344-9. doi: 10.1111/jop.12134. Epub 2013 Nov 18. PMID: 24245508.

Yuan J, Li W, Zhu J, Deng S, Tao X. Low expression of RECK in oral squamous cell carcinoma patients induces a shorter survival rate through an imbalance of RECK/MMPs. *Int J Clin Exp Pathol.* 2020 Mar 1;13(3):501-8. PMID: 32269688; PMCID: PMC7136997

Zanoni DK, Patel SG, Shah JP. Changes in the 8th edition of the american joint committee on cancer (AJCC) staging of head and neck cancer: rationale and implications. *Curr Oncol Rep.* 2019;21(6). doi: 10.1007/s11912-019-0799-x. PMID: 30997577.

Zhong X, Qin Lu QZ, Yuan He W, Wei YW. Oral microbiota alteration associated with oral cancer and areca chewing. *Oral Dis.* 2021;7(2):226-239. doi: 10.1111/odi.13545.

Zhou X, Temam S, Oh M, Pungpravat N, Huang BL, Mao L, et al. Global expression-based classification of lymph node metastasis and extracapsular spread of oral tongue squamous cell carcinoma. *Neoplasia.* 2006 Nov;8(11):925-32. doi: 10.1593/neo.06430. PMID: 17132224; PMCID: PMC1716013

ANEXOS

Tabela 8 - Prisma Checklist 2009

(continua)

Título			Página
Título	1	Identificação do trabalho como uma revisão sistemática, meta-análise, ou ambas.	1
Resumo			
Sumário estruturado	2	Forneça um resumo estruturado incluindo, conforme aplicável: antecedentes; Objetivos; fontes de dados; critérios de elegibilidade do estudo, participantes e intervenções; métodos de avaliação e síntese de estudos; resultados; limitações; conclusões e implicações das principais descobertas; número de registro da revisão sistemática.	11
Introdução			
Justificativa	3	Descreva a justificativa para a revisão no contexto do que já é conhecido.	16
Objetivos	4	Forneça uma declaração explícita das questões abordadas com referência aos participantes, intervenções, comparações, resultados e desenho do estudo (PICOS).	
Métodos			
Protocolo e registro	5	Indique se existe um protocolo de revisão, se e onde ele pode ser acessado (por exemplo, endereço da Web) e, se disponível, forneça informações de registro, incluindo o número de registro.	26
Critérios de elegibilidade	6	Especifique as características do estudo (por exemplo, PICOS, duração do acompanhamento) e as características do relatório (por exemplo, anos considerados, idioma, status de publicação) usados como critérios de elegibilidade, fornecendo justificativa.	30

Tabela - Prisma Checklist 2009

(continuação)

Título			Página
Fontes de informação	7	Descreva todas as fontes de informação (por exemplo, bancos de dados com datas de cobertura, contato com os autores do estudo para identificar estudos adicionais) na pesquisa e data da última pesquisa.	31
Busca	8	Apresentar estratégia de busca eletrônica completa para pelo menos uma base de dados, incluindo quaisquer limites utilizados, de forma que possa ser repetida.	32
Seleção dos estudos	9	Indique o processo de seleção de estudos (ou seja, triagem, elegibilidade, incluídos na revisão sistemática e, se aplicável, incluídos na meta-análise).	34
Processo de coleta de dados	10	Descrever o método de extração de dados dos relatórios (por exemplo, formulários piloto, independentemente, em duplicata) e quaisquer processos para obter e confirmar dados dos investigadores.	35
Itens de dados	11	Liste e defina todas as variáveis para as quais os dados foram solicitados (por exemplo, PICOS, fontes de financiamento) e quaisquer suposições e simplificações feitas.	39
Risco de viés em estudos individuais	12	Descreva os métodos usados para avaliar o risco de viés de estudos individuais (incluindo a especificação de se isso foi feito no nível do estudo ou do resultado) e como essa informação deve ser usada em qualquer síntese de dados.	39
Medidas resumidas	13	Indique as principais medidas de resumo (por exemplo, taxa de risco, diferença de médias).	40

Tabela- Prisma Checklist 2009

(continuação)

Título			Página
Síntese de resultados	14	Descreva os métodos de manipulação de dados e combinação de resultados de estudos, se feitos, incluindo medidas de consistência (por exemplo, I ²) para cada meta-análise.	40
Risco de viés entre estudos	15	Especifique qualquer avaliação de risco de viés que possa afetar a evidência cumulativa (por exemplo, viés de publicação, relatórios seletivos nos estudos).	40
Análises adicionais	16	Descreva métodos de análises adicionais (por exemplo, análises de sensibilidade ou subgrupo, meta-regressão), se feito, indicando quais foram pré-especificados.	-

Tabela 8 - Prisma Checklist 2009

(continuação)

Título			Página
Resultados			
Seleção de estudos	17	Forneça o número de estudos selecionados, avaliados quanto à elegibilidade e incluídos na revisão, com motivos para exclusões em cada estágio, de preferência com um diagrama de fluxo.	42
Características do estudo	18	Para cada estudo, apresente as características para as quais os dados foram extraídos (por exemplo, tamanho do estudo, PICOS, período de acompanhamento) e forneça as citações.	45
Risco de viés nos estudos	19	Apresentar dados sobre o risco de viés de cada estudo e, se disponível, qualquer avaliação do nível de resultado (ver item 12).	61
Resultados de estudos individuais	20	Para todos os resultados considerados (benefícios ou danos), apresente, para cada estudo: (a) dados resumidos simples para cada grupo de intervenção (b) estimativas de efeito e intervalos de confiança, idealmente com um gráfico de floresta.	60
Síntese de resultados	21	Apresente os resultados de cada meta-análise realizada, incluindo intervalos de confiança e medidas de consistência.	60
Risco de viés entre estudos	22	Apresente os resultados de qualquer avaliação de risco de viés entre os estudos (ver Item 15).	
Análise adicional	23	Dê resultados de análises adicionais, se feitas (por exemplo, análises de sensibilidade ou de subgrupo, meta-regressão [ver Item 16]).	-

Tabela 8 - Prisma Checklist 2009

				(conclusão)
Título				Página
Discussão				
Resumo das evidências	24	Resuma as principais descobertas, incluindo a força da evidência para cada resultado principal; considerar sua relevância para grupos-chave (por exemplo, profissionais de saúde, usuários e formuladores de políticas).		65
Limitações	25	Discuta as limitações no nível do estudo e do resultado (por exemplo, risco de viés) e no nível de revisão (por exemplo, recuperação incompleta de pesquisas identificadas, viés de relatório).		71
Conclusions	26	Fornecer uma interpretação geral dos resultados no contexto de outras evidências e implicações para pesquisas futuras.		72
Financiamento				
Financiamento	27	Descreva as fontes de financiamento para a revisão sistemática e outros apoios (por exemplo, fornecimento de dados); papel dos financiadores para a revisão sistemática.		-

Fonte:: Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, The PRISMA Group (2009). Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. PLoS Med 6(7): e1000097. doi:10.1371/journal.pmed1000097 www.prisma-statement.org.

Tabela 9 - Arquivo Complementar 1: Ferramenta de avaliação de risco de viés (QUIPS)

(continua)

Vieses	Questões a serem consideradas para julgar a classificação geral de “Risco de viés”	Julgamento	
1. Participação no estudo	Objetivo: Julgar o risco de viés de seleção	SIM	NÃO
<i>Origem da população-alvo</i>	A população de origem ou população de interesse é adequadamente descrita para as principais características		
<i>Método usado para identificar problema</i>	A base de amostragem e o recrutamento são adequadamente descritos, possivelmente incluindo métodos para identificar a amostra, local de recrutamento e período de recrutamento		
<i>Crítérios de inclusão e exclusão</i>	Os critérios de inclusão e exclusão estão adequadamente descritos		
<i>Participação adequada no estudo</i>	Há participação adequada no estudo por indivíduos elegíveis		
<i>Características base</i>	A amostra do estudo de linha de base é adequadamente descrita para as principais características		
Participação no Estudo Resumido	A amostra do estudo representa a população de interesse em características-chave, suficientes para limitar o potencial viés da relação observada entre o fator prognóstico e o desfecho		

Fonte: Adaptada de (Hayden et al., 2013)

Tabela 9 - Arquivo Complementar 1: Ferramenta de avaliação de risco de viés (QUIPS)

(continuação)

2. Desistência do estudo	Objetivo: Para apenas o risco de viés de atrito	
<i>Proporção da amostra de linha de base disponível para análise</i>	A taxa de resposta é adequada e é $> 80\%$	
<i>Tentativas de coletar informações sobre os participantes que desistiram</i>	As tentativas de coletar informações sobre os participantes que desistiram do estudo são descritas	
<i>Razões e impacto potencial de assuntos perdidos no acompanhamento</i>	Os motivos da perda de acompanhamento são descritos	
<i>Informações de desfecho e fator prognóstico sobre aqueles perdidos no acompanhamento</i>	Os participantes perdidos no acompanhamento são descritos adequadamente para as principais características	
	Não há diferenças importantes entre as principais características e resultados em participantes que completaram o estudo e aqueles que não o fizeram.	

Fonte: Adaptada de (Hayden et al., 2013)

Tabela 9 - Arquivo Complementar 1: Ferramenta de avaliação de risco de viés (QUIPS)

(continuação)

Resumo: Desistência do Estudo	A perda de seguimento não está associada a características-chave suficientes para limitar o potencial viés para a relação observada entre o fator prognóstico e o resultado	
3. Medição do Fator Prognóstico (FP)	Objetivo: Julgar o risco de viés de medição relacionado à forma como o fator prognóstico foi medido	
<i>Definição do FP</i>	Uma definição ou descrição clara dos fatores prognósticos é fornecida	
<i>Medição válida e confiável de FP</i>	O método de medição do fator prognóstico é adequadamente válido e confiável para limitar a classificação incorreta viés	
	Os fatores prognósticos medidos são cegos para medida de resultado	
	As variáveis contínuas são relatadas ou os pontos de corte apropriados são usados	
<i>Método e configuração de FP medição</i>	O método e a configuração de medição do FP são os mesmos para todos os participantes do estudo	
<i>Proporção de dados sobre FP disponíveis para análise</i>	Mais de 80% da amostra do estudo completou os dados para a variável FP	
<i>Método usado para dados ausentes</i>	Métodos apropriados de imputação são usados para dados 'FP' ausentes	
Resumo de Medição de FP	O FP é medido adequadamente nos participantes do estudo para limitar suficientemente o potencial viés	

Fonte: Adaptada de (Hayden et al., 2013)

Tabela 9 - Arquivo Complementar 1: Ferramenta de avaliação de risco de viés (QUIPS)

(continuação)

4. Medição deresultados	Objetivo: Julgar o risco de viés relacionado à medição do resultado	
<i>Definição do Resultado</i>	Uma definição clara do Resultado é fornecida	
<i>Medição válida e confiável do Resultado</i>	O método de medição de resultado usado é válido e confiável para limitar o viés de classificação incorreta	
<i>Método e configuração do Resultado Medição</i>	O método e a configuração da medição dos resultados são os mesmos para todos os participantes do estudo	
Resumo da medição de resultados	O resultado de interesse é medido adequadamente nos participantes do estudo para limitar suficientemente o potencial viés	
5. Estudo de confusão	Objetivo: Julgar o risco de viés devido a fatores de confusão	
<i>Fatores de confusão importantes</i>	Todos os fatores de confusão importantes são medidos	
<i>Definição do fator de confusão</i>	São fornecidas definições claras dos fatores de confusão importantes medidos	
<i>Método e configuração de Medição de confusão</i>	O método e a configuração da medição de confusão são os mesmos para todos os participantes do estudo	
<i>Contabilidade apropriada para confusão</i>	Importantes fatores de confusão potenciais são contabilizados no desenho do estudo	
	Importantes fatores de confusão potenciais são contabilizados na análise	
Estudo de confusão Resumo	Fatores de confusão potenciais importantes contabilizados, limitando viés no que diz respeito à relação entre FP e desfecho	

Fonte: Adaptada de (Hayden et al., 2013)

Tabela 9 - Arquivo Complementar 1: Ferramenta de avaliação de risco de viés (QUIPS)

(continuação)

6. Análise Estatística e Relatórios	Objetivo: Julgar o risco de viés relacionado à análise estatística e apresentação dos resultados	
<i>Apresentação de análise estratégia</i>	Há apresentação de dados suficiente para avaliar a adequação da análise	
<i>Estratégia de desenvolvimento do modelo</i>	A estratégia para a construção do modelo é apropriada e é baseada em uma estrutura conceitual ou modelo.	
	O modelo estatístico selecionado é adequado para o desenho do estudo	
<i>Relatório de resultados</i>	Há uma descrição da associação do fator prognóstico e o desfecho, incluindo informações sobre a significância estatística	
	Variáveis contínuas são relatadas ou pontos de corte são usados	
	Não há relatórios seletivos de resultados	
Análise Estatística e Resumo do relatório	A análise estatística é adequada para o desenho do estudo, limitando o potencial de apresentação de resultados inválidos ou espúrios	

Fonte: Adaptada de (Hayden et al., 2013)