

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 27/02/2025.



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Heitor Albergoni da Silveira

Análise clinicopatológica, imunoistoquímica e hibridização *in situ* de variantes histopatológicas de carcinomas espinocelulares de cabeça e pescoço: um estudo multicêntrico colaborativo

Araraquara

2023



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Heitor Albergoni da Silveira

Análise clinicopatológica, imunoistoquímica e hibridização *in situ* de variantes histopatológicas de carcinomas espinocelulares de cabeça e pescoço: um estudo multicêntrico colaborativo

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas, Área de concentração: Diagnóstico e Cirurgia, da Faculdade de Odontologia de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista para o título de Doutor em Ciências Odontológicas.

Orientador: Jorge Esquiche León

Araraquara

2023

S587a	Silveira, Heitor Albergoni da Análise clinicopatológica, imunoistoquímica e hibridização in situ de variantes histopatológicas de carcinomas espinocelulares de cabeça e pescoço: um estudo multicêntrico colaborativo / Heitor Albergoni da Silveira. -- Araraquara, 2023 81 p. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara Orientador: Jorge Esquiche León 1. Carcinoma de Células Escamosas de Cabeça e Pescoço. 2. Histocitoquímica. 3. Imuno-Histoquímica. 4. Hibridização in situ. 5. Patologia Cirúrgica. I. Título.
-------	---

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Odontologia, Araraquara.

Dados fornecidos pelo autor

Heitor Albergoni da Silveira

Análise clinicopatológica, imunoistoquímica e hibridização *in situ* de variantes histopatológicas de carcinomas espinocelulares de cabeça e pescoço: um estudo multicêntrico colaborativo

Comissão julgadora

Tese para obtenção do grau de Doutor em Ciência Odontológicas

Presidente e orientador: Prof. Dr. Jorge Esquiche León

2º Examinador: Profa. Dra. Andreia Bufalino

3º Examinador: Profa. Dra. Elaine Maria Sagavioli Massucato

4º Examinador: Profa. Dra. Camila Lopes Cardoso

5º Examinador: Prof. Dr. Fernando Chahud

Araraquara, 27 de fevereiro de 2023.

DADOS CURRICULARES

Heitor Albergoni da Silveira

NASCIMENTO: 20/06/1995 – Bernardino de Campos, São Paulo, Brasil

FILIAÇÃO: Ademilson Andrei da Silveira e Isabel Cristina Albergoni

2013-2016: Graduação em Odontologia, Universidade do Sagrado Coração, Bauru, São Paulo.

2017-2018: Aprimoramento em Estomatologia, Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, São Paulo.

2018-2020: Mestre em Ciências Odontológicas – área de concentração: Diagnóstico e Cirurgia, Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, São Paulo.

2020-2022: Doutorando em Ciências Odontológicas – área de concentração: Diagnóstico e Cirurgia, Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, São Paulo.

AGRADECIMENTOS

À **Deus**, por ser meu sustento e minha base. Sem Ele nada disso seria possível.

Aos meus avós **Osmar** e **Elza**, por serem meu esteio e por acreditarem sempre em mim.

Aos meus pais **Ademilson** e **Isabel Cristina** pelo apoio, pelo carinho, pelo cuidado, pelo amor infinito que demonstram por mim. A vocês minha eterna admiração e gratidão.

À minha irmã **Amanda**, pela cumplicidade e pela partilha. Obrigado por ser tão presente na minha vida. E por proporcionar dois presentes lindos, meus sobrinhos **Isabela** e **Arthur**.

Ao meu orientador Prof. Dr. **Jorge Esquiche León**, obrigado por acreditar em mim e confiar este trabalho. Com certeza serei grato eternamente por todo conhecimento compartilhado, com você eu aprendi ser melhor. Minha eterna admiração e gratidão.

À Faculdade de Odontologia de Araraquara – Universidade Estadual Paulista, representada pelo digníssimo Diretor Prof. Dr. **Edson Alves de Campos**.

À Profa. Dra. **Andreia Bufalino**, por toda amizade e troca de conhecimento, sua humildade e paciência me inspiram.

Aos meus grandes amigos e irmãos **Evânio Vilela da Silva** e **Paula Verona Ragusa da Silva**, por todo suporte e parceria.

À minha dupla de Pós-Graduação, **Camila de Oliveira Barbeiro** que esteve desde o começo comigo, apoiando e dividindo esses momentos maravilhosos que a pós-graduação proporcionou.

A todas as professoras da disciplina de Estomatologia, **Elaine Maria Sgavioli Massucato, Mirian Onofre e Claudia Maria Navarro.**

Aos meus amigos da Pós-Graduação, **Darcy Fernandes, Xiomara Beatriz Polanco Jimenez, Beatriz Zamboni Martins Panucci, Julia Biliato Javaroni e Tulio Morandin Ferrisse.**

À CAPES: O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001.

Silveira HA. Análise clinicopatológica, imunoistoquímica e hibridização *in situ* de variantes histopatológicas de carcinomas espinocelulares de cabeça e pescoço: um estudo multicêntrico colaborativo [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2023.

RESUMO

O carcinoma espinocelular (CEC) da região de cabeça e pescoço (CECCP) é um grupo heterogêneo de neoplasias malignas se originando da pele e mucosas, representando 95% de todos os cânceres nesta região anatômica. A etiologia do CECCP é multifatorial, apresenta variações por regiões geográficas e é frequentemente associado ao consumo crônico de tabaco, álcool ou ambos, bem como à infecção pelo papilomavírus humano (HPV), este último notavelmente associado com o CEC orofaríngeo (CECorof). O diagnóstico microscópico da grande maioria dos CECCP corresponde ao CEC convencional; no entanto, entre 5% e 15% dos casos corresponde a variantes histopatológicas do CECCP, as quais precisam ser reconhecidas e diagnosticadas corretamente, pelo seu impacto terapêutico e prognóstico. Microscopicamente, as variantes histopatológicas do CECCP podem simular neoplasias benignas ou malignas, ou até mesmo processos inflamatórios ou reativos. Diante disto, no presente trabalho, por meio de um estudo colaborativo multicêntrico, foram avaliados retrospectivamente 1.415 casos de CECCP, visando a caracterização de variantes histopatológicas, seguindo os critérios propostos pela Organização Mundial da Saúde (OMS, 2022). Adicionalmente, as variantes histopatológicas foram analisadas por meio de histoquímica, imunoistoquímica e hibridização *in situ*. Sessenta e sete (67/1.415; 4,7%) variantes foram identificadas, incluindo carcinoma verrucoso (n=21), CEC basalóide (n=13 casos), CEC de células fusiformes (n=08 casos), carcinoma adenoescamoso (n=06), CEC de células claras (n=04), carcinoma cuniculado (n=4), carcinoma linfoepitelial (n=3), CEC papilar (n=2), CEC acantolítico (n=2), CEC pigmentado (n=2), assim como 2 raros casos, de carcinoma com diferenciação neuroendócrina (n=1) e carcinoma com fenótipo rabdóide (n=1). Nossos resultados mostram que variantes histopatológicas do CECCP em centros de referência na população brasileira tem uma prevalência de 4,7%. Relevantemente, algumas dessas variantes ainda não estão consideradas na classificação proposta pela OMS 2022. Consideramos que nossos achados servirão base para propostas de classificação futuras, ampliando o espectro clinicopatológico das variantes histopatológicas do CECCP, bem como auxiliarão nos critérios diagnósticos, especialmente para patologistas, visando o correto diagnóstico, com impacto terapêutico e prognóstico de uma doença com altas taxas de morbimortalidade.

Palavras – chave: Carcinoma de Células Escamosas de Cabeça e Pescoço. Histocitoquímica. Imuno-Histoquímica. Hibridização *in situ*. Patologia Cirúrgica.

Silveira HA. Clinicopathological, immunohistochemical and in situ hybridization analysis of histopathological variants of head and neck squamous cell carcinomas: a collaborative multicenter study [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2023.

ABSTRACT

Head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) is a heterogeneous group of malignant neoplasms originating from the skin and mucous membranes, representing 95% of all cancers in this anatomical region. The etiology of HNSCC is multifactorial, varies by geographic region and is often associated with chronic consumption of tobacco, alcohol or both, as well as human papillomavirus (HPV) infection, the latter notably associated with oropharyngeal SCC (oroSCC). The microscopic diagnosis of the vast majority of HNSCC corresponds to conventional SCC; however, between 5% and 15% of cases correspond to histopathological variants of HNSCC, which need to be recognized and correctly diagnosed, due to their therapeutic and prognostic impact. Microscopically, the histopathological variants of HNSCC can simulate benign or malignant neoplasms, or even inflammatory or reactive processes. In view of this, in the present study, through a multicenter collaborative study, 1,415 cases of HNSCC were retrospectively evaluated, aiming at the characterization of histopathological variants, following the criteria proposed by the World Health Organization (WHO, 2022). Additionally, the histopathological variants were analyzed using histochemistry, immunohistochemistry and in situ hybridization. Sixty-seven (67/1,415; 4.7%) variants were identified, including verrucous carcinoma (n=21), basaloid SCC (n=13 cases), spindle cell SCC (n=08 cases), adenosquamous carcinoma (n=06), clear cell SCC (n=04), cuniculatum carcinoma (n=4), lymphoepithelial carcinoma (n=3), papillary SCC (n=2), acantholytic SCC (n=2), pigmented SCC (n=2), as well as 2 rare cases of carcinoma with neuroendocrine differentiation (n=1) and carcinoma with rhabdoid phenotype (n=1). Our results show that histopathological variants of HNSCC in reference centers in the Brazilian population have a prevalence of 4.7%. Relevantly, some of these variants are not yet considered in the classification proposed by WHO 2022. We believe that our findings will serve as a basis for future classification proposals, expanding the clinicopathological spectrum of histopathological variants of HNSCC, as well as helping in diagnostic criteria, especially for pathologists, aiming at the correct diagnosis, with therapeutic and prognostic impact of a disease with high morbidity and mortality rates.

Keywords: Squamous Cell Carcinoma of Head and Neck. Histochemistry. Immunohistochemistry. In Situ Hybridization. Pathology, Clinical.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 PROPOSIÇÃO	13
3 REVISÃO DA LITERATURA	14
3.1 Características clinicopatológicas do carcinoma adenocarcinoma (CAAd)	14
3.2 Características clinicopatológicas do carcinoma espinoelular basalóide (CECB)	15
3.3 Características clinicopatológicas do carcinoma verrucoso (CV)	17
3.4 Características clinicopatológicas do carcinoma espinoelular papilar (CECPa)	18
3.5 Características clinicopatológicas do carcinoma espinoelular de células fusiformes (CECF)	19
3.6 Características clinicopatológicas do carcinoma linfoepitelial (CL)	21
3.7 Características clinicopatológicas do carcinoma cuniculado (CC)	22
3.8 Características clinicopatológicas do carcinoma espinoelular acantolítico (CECAc)	23
3.9 Variantes incomuns do carcinoma espinoelular da região de cabeça e pescoço	23
4 MATERIAL E MÉTODO	26
4.1 Seleção da amostra	26
4.2 Técnica de histoquímica	27
4.3 Técnica de imunoistoquímica (IQ)	27
4.5 Técnica de hibridização in situ	28
4.4 Análise microscópica	29
5 RESULTADO	30
5.1 Características clinicopatológicas do carcinoma verrucoso (CV)	30
5.2 Características clinicopatológicas do carcinoma espinoelular basalóide (CECB)	32
5.3 Características clinicopatológicas do carcinoma espinoelular de células fusiformes (CECF)	34
5.4 Características clinicopatológicas do carcinoma adenocarcinoma (CAAd)	36
5.5 Características clinicopatológicas do carcinoma espinoelular de células claras (CECCC)	38
5.6 Características clinicopatológicas do carcinoma cuniculado (CC)	40
5.7 Características clinicopatológicas do carcinoma linfoepitelial (CL)	42

5.8 Características clinicopatológicas do carcinoma espinocelular papilar (CECPa)	44
5.9 Características clinicopatológicas do carcinoma espinocelular acantolítico (CECAc)	45
5.10 Características clinicopatológicas do carcinoma espinocelular pigmentado (CECPig)	48
5.11 Características clinicopatológicas do carcinoma com fenótipo rabdóide (CFR)	50
5.12 Características clinicopatológicas do carcinoma com diferenciação neuroendócrina (CDN)	52
 6 DISCUSSÃO	 54
 7 CONCLUSÃO	 63
 REFERÊNCIAS	 64
 APÊNDICE.....	 71
 ANEXO	 78

1 INTRODUÇÃO

O carcinoma espinocelular (CEC) da região de cabeça e pescoço (CECCP) é um grupo heterogêneo de neoplasias malignas se originando da pele e superfícies mucosas da cavidade oral, nasofaringe, orofaringe, hipofaringe, laringe e seios paranasais¹⁻⁴. O CECCP afeta anualmente mais de 700.000 pacientes em todo o mundo, com 350.000 mortes registradas em 2018⁵. De acordo com estimativas da Organização Mundial da Saúde (OMS) em 2017, o câncer é a primeira ou segunda causa de morte antes dos 70 anos em 91 de 172 países⁶. A incidência e a mortalidade por câncer mostram aumentos em todo o mundo; os motivos são complexos, mas refletem tanto o envelhecimento quanto o crescimento da população, bem como mudanças na prevalência e distribuição dos principais fatores de risco para o câncer. Em 2020, a *International Agency for Research on Cancer* (IARC) registrou 476.125 novos casos de câncer de orofaringe e cavidade oral em todo o mundo, dos quais 98.412 casos afetaram a orofaringe e 377.713 casos afetaram a cavidade oral. Na América do Sul, com aproximadamente 7.292 novos casos de câncer de orofaringe e 14.191 novos casos de câncer de cavidade oral, a incidência combinada foi estimada em 1,97% de todos os novos casos de câncer registrados em 2020⁷.

Para o Brasil, segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA), estimam-se 15.190 casos novos de cânceres diagnosticados em cavidade oral e orofaringe, sendo 11.180 em homens e 4.010 em mulheres para cada ano do triênio 2020-2022. Esses valores correspondem a um risco estimado de 10,69 casos novos a cada 100 mil homens, ocupando a quinta posição; e de 3,71 para cada 100 mil mulheres, sendo o 13º mais frequente entre todos os cânceres⁸.

A etiologia do CECCP é multifatorial, apresenta variações por regiões geográficas, e geralmente tem sido correlacionada com a exposição a carcinógenos derivados do tabaco, consumo excessivo de álcool ou ambos. Os CECs que surgem na orofaringe (CECorof) podem estar ligados à infecção por subtipos oncogênicos do papilomavírus humano (HPV), principalmente o HPV-16 e, seguido pelo HPV-18, entre outros subtipos^{2,4}. Atualmente, vacinas contra o HPV-16 e HPV-18, aprovadas pela *Food and Drugs Administration* (FDA), estão disponíveis e é possível que o CECCP HPV-positivo possa apresentar menores taxas de prevalência seguindo campanhas de vacinação bem-sucedidas em todo o mundo⁴. A patogênese do CEC oral (CECO) e de laringe (CECLar) está principalmente associada ao tabagismo e/ou alcoolismo,

com uma menor porcentagem dos casos associados com infecção pelo HPV^{4,9}. O consumo de tabaco e álcool parece ser dose/dependente e tempo/dependente e a combinação desses dois fatores leva ao efeito sinérgico, aumentando as chances de desenvolvimento do CEC¹⁰⁻¹². O uso crônico do tabaco foi considerado pela *International Agency for Research on Cancer (IARC)* como um agente cancerígeno do grupo 1, que indica alto risco oncogênico¹³.

As neoplasias de cabeça e pescoço apresentam vários desafios diagnósticos, principalmente devido à complexidade anatômica dessa região e à estreita associação com diversas estruturas vitais. As estruturas anatômicas possuem variados componentes histológicos, os mesmos que podem dar origem a uma variedade de neoplasias, sejam elas de origem epitelial, mesenquimal ou hematolinfóide^{14,15}. Muitas dessas lesões podem apresentar variantes morfológicas desafiadoras e algumas podem simular metástases ou neoplasias de origem primária desconhecida^{14,15}. Assim, uma ampla gama de diagnósticos diferenciais com características morfológicas e imunofenotípicas sobrepostas precisam ser consideradas. A dificuldade pode ser ainda maior pela disponibilidade de material diagnóstico limitado de punção aspirativa por agulha fina (PAAF) ou pequenas amostras de biópsia, que são insuficientes para concluir o diagnóstico^{14,15}. A relevância do diagnóstico preciso para instituir o correto tratamento no CECCP não pode ser subestimado. Assim, a correlação clínica, imaginológica, histopatológica e imunoistoquímica (IQ), precisa ser complementada por técnicas moleculares de diagnóstico, como hibridização *in situ* (HIS), sequenciamento genético, entre outros, para avaliar alterações genéticas específicas. Avanços recentes nas técnicas moleculares têm identificado alterações genéticas em uma variedade de neoplasias, os quais estão desempenhando cada vez mais um papel relevante no processo diagnóstico¹⁴⁻¹⁶.

O CECCP é a neoplasia maligna mais comum, representando mais de 95% de todos os cânceres nesta região anatômica^{2,9,17-19}. Clinicamente, o CEC pode ser ulcerativo, polipóide, verrucoso, exofítico, ou se apresentar como uma lesão branca (leucoplasia) ou vermelha (eritroplasia). Microscopicamente, três categorias histológicas são relevantes: *in situ*, superficialmente invasivo ou invasivo, incluindo o grau histológico e características próprias da região anatômica analisada no momento da classificação histopatológica¹⁷.

Entre os CECCP, além do tipo histológico clássico ou convencional, existem variantes microscópicas que precisam ser reconhecidas com implicações terapêuticas

e prognósticas. Essas variantes representam cerca de 10% a 15% de todos os CECs^{17,20-22}. Seguindo os critérios propostos pela OMS (2017, 2022)^{9,6,23}, as variantes histopatológicas incluem o carcinoma verrucoso (CV), o CEC papilar (CECPa), o CEC basalóide (CECB), o CEC de células fusiformes (CECF), o carcinoma adenoescamoso (CAAd), e outras menos comuns, como o carcinoma linfoepitelial (CL), o carcinoma cuniculado (CC) e o CEC acantolítico (CECAc). Estas variantes microscópicas do CECCP podem ser diagnosticadas erroneamente, consequentemente com inadequada terapêutica, devido à potencial armadilha diagnóstica com sarcomas, neoplasias glandulares, ou até mesmo com tumores benignos. A propedêutica diagnóstica precisa ser mais cautelosa ou incluir exames complementares para não omitir seu componente mais agressivo no caso de tumores compostos ou para não subestimar o estadiamento do tumor^{17,20-22}.

7 CONCLUSÃO

No presente trabalho, por meio de um estudo multicêntrico colaborativo avaliou-se um total de 1.415 casos de CECCP. Foi realizada uma análise detalhada das características morfológicas, IQs e de HIS, em estreita correlação com dados clinicopatológicos. Nossos resultados mostram que variantes histopatológicas do CECCP em centros de referência na população brasileira tem uma prevalência de 4,7%. Vale ressaltar que algumas dessas variantes ainda não estão consideradas na classificação proposta pela OMS (2022). Consideramos que nossos achados possam servir de base para propostas de classificação futuras, ampliando o espectro clinicopatológico das variantes histopatológicas do CECCP. Além disso, para que sirva de auxílio como critérios diagnósticos, especialmente para patologistas, visando o correto diagnóstico, com impacto terapêutico e prognóstico de uma doença com altas taxas de morbimortalidade e considerado um problema de saúde pública.

REFERÊNCIAS*

1. Hübbers CU, Akgül B. HPV and cancer of the oral cavity. *Virulence*. 2015; 6(3): 244-8.
2. Silveira HA, Almeida LY, Carlos R, Silva EV, Ferrisse TM, Duarte A et al. Human papillomavirus co-infection and survival in oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma: a study in 235 Brazilian patients. *Auris Nasus Larynx*. 2022; 49(2): 258-70.
3. Grünwald V, Chirovsky D, Cheung WY, Bertolini F, Ahn MJ, Yang MH et al. Global treatment patterns and outcomes among patients with recurrent and/or metastatic head and neck squamous cell carcinoma: Results of the GLANCE H&N study. *Oral Oncol*. 2020 Mar; 102: 104526. doi:10.1016/j.oraloncology.2019.104526.
4. Johnson DE, Burtneess B, Leemans CR, Lui VWY, Bauman JE, Grandis JR. Head and neck squamous cell carcinoma. *Nat Rev Dis Primers*. 2020; 6(1): 92. Published 2020 Nov 26. doi:10.1038/s41572-020-00224-3
5. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2018; 68(6): 394-424. doi:10.3322/caac.21492.
6. El Naggar AK, Chan JKC, Grandis JR, Takata T, Slootweg PJ. Classification of Head and Neck Tumours. 4th ed. Lyon, France: IARC Press; 2017.
7. Oliveira AC, Cavalcanti de Lima IC, Frez Marques VM, Alves de Araújo WH, de Campos Ferreira C. Human papillomavirus prevalence in oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma in South America: A systematic review and meta-analysis. *Oncol Rev*. 2022;16(1):552. Published 2022 Mar 24. doi:10.4081/oncol.2022.552
8. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2020: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. – Rio de Janeiro: INCA, 2019. p.39. Accessed June 22, 2022.
9. Muller S, Tilakaratne WM. Update from the 5th Edition of the World Health Organization Classification of Head and Neck Tumors: Tumours of the Oral Cavity and Mobile Tongue. *Head Neck Pathol*. 2022;16(1):54-62. doi:10.1007/s12105-021-01402-9
10. Anantharaman D, Marron M, Lagiou P, et al. Population attributable risk of tobacco and alcohol for upper aerodigestive tract cancer. *Oral Oncol*. 2011;47(8):725-731. doi:10.1016/j.oraloncology.2011.05.004.
11. Gupta B, Kumar N, Johnson NW. Relationship of Lifetime Exposure to Tobacco, Alcohol and Second Hand Tobacco Smoke with Upper aero-digestive tract cancers in India: a Case-Control Study with a Life-Course Perspective. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2017;18(2):347-356. Published 2017 Feb 1. doi:10.22034/APJCP.2017.18.2.347

* De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver. Disponível no site da Biblioteca: <http://www.foar.unesp.br/Home/Biblioteca/guia-de-normalizacao-atualizado.pdf>

12. Chi AC, Day TA, Neville BW. Oral cavity and oropharyngeal squamous cell carcinoma--an update. *CA Cancer J Clin.* 2015;65(5):401-421. doi:10.3322/caac.21293
13. International Agency for Research on Cancer (IARC). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. List of Classifications by Cancer Site. Monographs.iarc.fr/ENG/Classification/index.php. Accessed June 22, 2022.
14. Luk PP, Selinger CI, Cooper WA, et al. Clinical Utility of In Situ Hybridization Assays in Head and Neck Neoplasms. *Head Neck Pathol.* 2019;13(3):397-414. doi:10.1007/s12105-018-0988-1
15. Lewis JS Jr. Morphologic diversity in human papillomavirus-related oropharyngeal squamous cell carcinoma: Catch Me If You Can!. *Mod Pathol.* 2017;30(s1):S44-S53. doi:10.1038/modpathol.2016.152
16. Neves-Silva R, Almeida LY, Silveira HA, et al. SMARCB1 (INI-1) and NUT immunoexpression in a large series of head and neck carcinomas in a Brazilian reference center. *Head Neck.* 2020;42(3):374-384. doi:10.1002/hed.26008
17. Thompson LDR. MINI-SYMPOSIUM: HEAD AND NECK PATHOLOGY Squamous cell carcinoma variants of the head and neck. *Curr Diagn Pathol* 2003;9:384e96
18. Bufalino A, Cervigne NK, de Oliveira CE, et al. Low miR-143/miR-145 Cluster Levels Induce Activin A Overexpression in Oral Squamous Cell Carcinomas, Which Contributes to Poor Prognosis. *PLoS One.* 2015;10(8):e0136599. Published 2015 Aug 28. doi:10.1371/journal.pone.0136599
19. Teixeira LR, Almeida LY, Silva RN, et al. Young and elderly oral squamous cell carcinoma patients present similar angiogenic profile and predominance of M2 macrophages: Comparative immunohistochemical study. *Head Neck.* 2019;41(12):4111-4120. doi:10.1002/hed.25954
20. Allon I, Vered M, Kaplan I, et al. Rare variants of head and neck squamous cell carcinoma -differential immunohistochemical profiles. *Acta Histochem.* 2019;121(8):151444. doi:10.1016/j.acthis.2019.151444
21. Chute DJ, Stelow EB. Cytology of head and neck squamous cell carcinoma variants. *Diagn Cytopathol.* 2010;38(1):65-80. doi:10.1002/dc.21134
22. Thariat J, Hourseau M, Baglin AC, et al. Variants des carcinomes épidermoïdes dans les voies aérodigestives supérieures (VADS), implications pour le diagnostic et la prise en charge, selon les référentiels du REFCOR [Diagnostic and treatment pitfalls and guidelines for variants of squamous cell carcinomas of the head and neck: on behalf of the REFCOR]. *Bull Cancer.* 2019;106(4):395-403. doi:10.1016/j.bulcan.2019.01.015
23. Bishop JA, Loney EL, Thompson LDR. Classification of Head and Neck Tumours. In: Board WCTE, editor. 5th ed. Lyon, France: IARC Press; 2022.
24. Mehrad M, Trinkaus K, Lewis JS Jr. Adenosquamous Carcinoma of the Head and Neck: A Case-Control Study with Conventional Squamous Cell Carcinoma. *Head Neck Pathol.* 2016;10(4):486-493. doi:10.1007/s12105-016-0727-4

25. Liu Y, Mi Y, Zhang L, Jiang T. Survival and risk factors of adenosquamous carcinoma in the oral and maxillofacial region: a population-based study. *Am J Transl Res*. 2021;13(10):12071-12082.
26. Fonseca FP, Ramos LM, Vargas PA, de Almeida OP, Lopes MA, Santos-Silva AR. Oral adenosquamous carcinoma: evidence that it arises from the surface mucosal epithelium. *Histopathology*. 2012;61(2):321-323. doi:10.1111/j.1365-2559.2012.04257.x
27. Keelawat S, Liu CZ, Roehm PC, Barnes L. Adenosquamous carcinoma of the upper aerodigestive tract: a clinicopathologic study of 12 cases and review of the literature. *Am J Otolaryngol*. 2002;23(3):160-168.
28. Kass JI, Lee SC, Abberbock S, Seethala RR, Duvvuri U. Adenosquamous carcinoma of the head and neck: Molecular analysis using CRTC-MAML FISH and survival comparison with paired conventional squamous cell carcinoma. *Laryngoscope*. 2015;125(11):E371-E376. doi:10.1002/lary.25519
29. Lee RJ, Lin T, Lee SA, Lee KK, Christensen RE. Importance of tumor extent in adenosquamous carcinoma of the head and neck: a retrospective cohort study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2017;124(2):114-120. doi:10.1016/j.oooo.2017.03.004
30. Ereño C, Lopez JI, Loizate A, Bilbao FJ. Verrucous carcinoma of the esophagus. *Endoscopy*. 2001;33(3):297. doi:10.1055/s-2001-12806
31. Kleist B, Bankau A, Lorenz G, Jäger B, Poetsch M. Different risk factors in basaloid and common squamous head and neck cancer. *Laryngoscope*. 2004;114(6):1063-1068. doi:10.1097/00005537-200406000-00020
32. El-Mofty SK, Patil S. Human papillomavirus (HPV)-related oropharyngeal nonkeratinizing squamous cell carcinoma: characterization of a distinct phenotype. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006;101(3):339-345. doi:10.1016/j.tripleo.2005.08.001
33. Cabanillas R, Rodrigo JP, Ferlito A, et al. Is there an epidemiological link between human papillomavirus DNA and basaloid squamous cell carcinoma of the pharynx?. *Oral Oncol*. 2007;43(4):327-332. doi:10.1016/j.oraloncology.2006.04.014
34. Winzenburg SM, Niehans GA, George E, Daly K, Adams GL. Basaloid squamous carcinoma: a clinical comparison of two histologic types with poorly differentiated squamous cell carcinoma. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 1998;119(5):471-475. doi:10.1016/S0194-5998(98)70104-4
35. Fernandes D, Barbeiro CO, Palaçon MP, et al. High density of CD8 T cell and immune imbalance of T lymphocytes subsets are associated with proliferative verrucous leukoplakia [published online ahead of print, 2022 Aug 12]. *Immunology*. 2022;10.1111/imm.13565. doi:10.1111/imm.13565
36. Echanique KA, Desai SV, Marchiano E, et al. Laryngeal Verrucous Carcinoma. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2017;156(1):38-45. doi:10.1177/0194599816662631.

37. Akrish S, Eskander-Hashoul L, Rachmiel A, Ben-Izhak O. Clinicopathologic analysis of verrucous hyperplasia, verrucous carcinoma and squamous cell carcinoma as part of the clinicopathologic spectrum of oral proliferative verrucous leukoplakia: A literature review and analysis. *Pathol Res Pract*. 2019;215(12):152670. doi:10.1016/j.prp.2019.152670
38. Ramos-García P, González-Moles MÁ, Mello FW, Bagan JV, Warnakulasuriya S. Malignant transformation of oral proliferative verrucous leukoplakia: A systematic review and meta-analysis. *Oral Dis*. 2021;27(8):1896-1907. doi:10.1111/odi.13831
39. Lafuente Ibáñez de Mendoza I, Lorenzo Pouso AI, Aguirre Urizar JM, et al. Malignant development of proliferative verrucous/multifocal leukoplakia: A critical systematic review, meta-analysis and proposal of diagnostic criteria. *J Oral Pathol Med*. 2022;51(1):30-38. doi:10.1111/jop.13246
40. Wu M, Putti TC, Bhuiya TA. Comparative study in the expression of p53, EGFR, TGF- α , and cyclin D1 in verrucous carcinoma, verrucous hyperplasia, and squamous cell carcinoma of head and neck region. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2002;10(4):351-356. doi:10.1097/00129039-200212000-00011
41. Ding Y, Ma L, Shi L, Feng J, Liu W, Zhou Z. Papillary squamous cell carcinoma of the oral mucosa: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 12 cases and literature review. *Ann Diagn Pathol*. 2013;17(1):18-21. doi:10.1016/j.anndiagpath.2012.04.005
42. Serra A, Caltabiano R, Scalia G, Palmucci S, Di Mauro P, Cocuzza S. Papillary squamous cell carcinoma of the palatine tonsil: a rare cancer of the head and neck. *Carcinoma squamoso papillare della tonsilla palatina: un raro tumore della testa e del collo*. *Acta Otorhinolaryngol Ital*. 2017;37(4):341-345. doi:10.14639/0392-100X-1281
43. Fitzpatrick SG, Neuman AN, Cohen DM, Bhattacharyya I. Papillary variant of squamous cell carcinoma arising on the gingiva: 61 cases reported from within a larger series of gingival squamous cell carcinoma. *Head Neck Pathol*. 2013;7(4):320-326. doi:10.1007/s12105-013-0444-1
44. Romañach MJ, Azevedo RS, Carlos R, de Almeida OP, Pires FR. Clinicopathological and immunohistochemical features of oral spindle cell carcinoma. *J Oral Pathol Med*. 2010;39(4):335-341. doi:10.1111/j.1600-0714.2009.00843.x
45. Silva DFB, Santos HBP, León JE, Gomes DQC, Alves PM, Nonaka CFW. Clinicopathological and immunohistochemical analysis of spindle cell squamous cell carcinoma of the tongue: a rare case. *Einstein (Sao Paulo)*. 2019;17(1):eRC4610. Published 2019 Feb 18. doi:10.31744/einstein_journal/2019RC4610
46. Ferrisse TM, Rocha AFL, Lança MLA, et al. Post-radiotherapy recurrence of conventional oral squamous cell carcinoma showing sarcomatoid components: an immunohistochemical study. *Autops Case Rep*. 2020;11:e2020219. Published 2020 Dec 8. doi:10.4322/acr.2020.219
47. Bishop JA, Montgomery EA, Westra WH. Use of p40 and p63 immunohistochemistry and human papillomavirus testing as ancillary tools for the recognition of head and neck sarcomatoid carcinoma and its distinction from

benign and malignant mesenchymal processes. *Am J Surg Pathol*. 2014 Feb;38(2):257-64.

48. Singhi AD, Stelow EB, Mills SE, Westra WH. Lymphoepithelial-like carcinoma of the oropharynx: a morphologic variant of HPV-related head and neck carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2010 Jun;34(6):800-5.
49. Rytönen AE, Hirvikoski PP, Salo TA. Lymphoepithelial carcinoma: two case reports and a systematic review of oral and sinonasal cases. *Head Neck Pathol*. 2011;5(4):327-334. doi:10.1007/s12105-011-0278-7
50. Almeida LY, Silveira HA, Silva EV, Barbeiro CDO, De Paula JA, Bufalino A, Ribeiro-Silva A, León JE. EBV-negative lymphoepithelial-like carcinoma of the lower lip. *Autops. Case Rep*. 2019, 10, e2020138.
51. Emfietzoglou R, Pettas E, Georgaki M, et al. Lymphoepithelial Subtype of Oral Squamous Cell Carcinoma: Report of an EBV-Negative Case and Literature Review. *Dent J (Basel)*. 2022;10(9):165. Published 2022 Sep 5. doi:10.3390/dj10090165
52. Baz S, Amer HW, Wahed AA. Oral carcinoma cuniculatum: an unacquainted entity with diagnostic challenges-a case report. *J Egypt Natl Canc Inst*. 2022;34(1):3. Published 2022 Jan 17. doi:10.1186/s43046-021-00101-4
53. Silva RN, Silveira HA, Almeida LY, et al. Gingival carcinoma cuniculatum mimicking a reactive/inflammatory process. *J Brasil Patol Med Lab*. 2019;55(5):498- 505.
54. Beute JE, Seo GT, Greenberg LA, et al. Cuneiform (cuniculatum) variant of oral squamous cell carcinoma revisited: Presentation of two cases and literature review of a rare entity. *Head Neck*. 2022;44(4):E16-E24. doi:10.1002/hed.26984
55. Datar UV, Kale A, Mane D. Oral Carcinoma Cuniculatum: A New Entity in the Clinicopathological Spectrum of Oral Squamous Cell Carcinoma. *J Clin Diagn Res*. 2017;11(1):ZD37-ZD39. doi:10.7860/JCDR/2017/23437.9226
56. Farag AF, Abou-Alnour DA, Abu-Taleb NS. Oral carcinoma cuniculatum, an unacquainted variant of oral squamous cell carcinoma: A systematic review. *Imaging Sci Dent*. 2018;48(4):233-244. doi:10.5624/isd.2018.48.4.233
57. Shetty D, Suresh A, Acharya S, Desai A, Anehosur V, Kumar N. Acantholytic variant of squamous cell carcinoma in the mandible: A rare entity and a brief review. *Stomatologija*. 2022;24(1):26-32.
58. Abba M, Kaplan I, Livoff A, et al. Intra-oral Acantholytic Squamous Cell Carcinoma: 55 Cases. Is this Variant more Aggressive?. *Head Neck Pathol*. 2022;16(2):388-393. doi:10.1007/s12105-021-01368-8
59. Kim JE, Lee C, Oh KY, Huh KH. A rare acantholytic variant of squamous cell carcinoma of the maxilla: A case report and literature review. *Medicine (Baltimore)*. 2020;99(32):e21631. doi:10.1097/MD.00000000000021631
60. Allon I, Abba M, Kaplan I, et al. Oral variant of acantholytic squamous cell carcinoma-Histochemical and immunohistochemical features. *Acta Histochem*. 2019;121(8):151443. doi:10.1016/j.acthis.2019.151443

61. Lin JS, Lin HP, Liu CJ. Acantholytic squamous cell carcinoma of soft palate-case report and literature review. *J Dent Sci.* 2016;11(2):207-209. doi:10.1016/j.jds.2015.10.003
62. Ramani P, Gheena S, Karunagaran M, Hannah R. Clear-cell variant of oral squamous cell carcinoma: A rare entity. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2021;25(Suppl 1):S22-S26. doi:10.4103/jomfp.JOMFP_295_20
63. Khoury ZH, Bugshan A, Lubek JE, Papadimitriou JC, Basile JR, Younis RH. Glycogen-Rich Clear Cell Squamous Cell Carcinoma Originating in the Oral Cavity. *Head Neck Pathol.* 2017;11(4):552-560. doi:10.1007/s12105-017-0812-3
64. Mukkanwar RN, Palaskar S, Pawar R, Shah DR. Clear cell variant of oral squamous cell carcinoma: case report and review. *Autops Case Rep.* 2022;12:e2021388. Published 2022 Jul 18. doi:10.4322/acr.2021.388
65. Schartinger VH, Falkeis C, Laimer K, et al. Neuroendocrine differentiation in head and neck squamous cell carcinoma. *J Laryngol Otol.* 2012;126(12):1261-1270. doi:10.1017/S0022215112002265
66. Strosberg C, Ferlito A, Triantafyllou A, et al. Update on Neuroendocrine Carcinomas of the Larynx. *Am J Clin Pathol.* 2019;152(6):686-700. doi:10.1093/ajcp/aqz106
67. Lewis JS Jr, Chernock RD, Bishop JA. Squamous and Neuroendocrine Specific Immunohistochemical Markers in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma: A Tissue Microarray Study. *Head Neck Pathol.* 2018;12(1):62-70. doi:10.1007/s12105-017-0825-y
68. Dehghani F, Binesh F. Pigmented Squamous Cell Carcinoma of Skin: A Case Report. *J Rare Dis Diagn Ther.* 2015, 1:2.
69. Morais PM, Schettini APM, Rocha JA, Silva Júnior RCD. Pigmented squamous cell carcinoma: case report and importance of differential diagnosis. *An Bras Dermatol.* 2018;93(1):96-98. doi:10.1590/abd1806-4841.20186757
70. Martins F, Mistro FZ, Kignel S, Palmieri M, do Canto AM, Braz-Silva PH. Pigmented Squamous Cell Carcinoma In Situ: Report of a New Case and Review of the Literature. *J Clin Exp Dent.* 2017;9(11):e1362-e1365. Published 2017 Nov 1. doi:10.4317/jced.54053
71. Lin HP, Wang YP, Chiang CP. Expression of p53, MDM2, p21, heat shock protein 70, and HPV 16/18 E6 proteins in oral verrucous carcinoma and oral verrucous hyperplasia. *Head Neck.* 2011;33(3):334-340. doi:10.1002/hed.21452
72. Paral KM, Taxy JB, Lingen MW. CD34 and α smooth muscle actin distinguish verrucous hyperplasia from verrucous carcinoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2014;117(4):477-482. doi:10.1016/j.oooo.2013.12.401
73. Cobo F, Talavera P, Concha A. Review article: relationship of human papillomavirus with papillary squamous cell carcinoma of the upper aerodigestive tract: a review. *Int J Surg Pathol.* 2008;16(2):127-136. doi:10.1177/1066896908314700
74. Wang L, Jia Y, Jiang Z, Gao W, Wang B. FSCN1 is upregulated by SNAI2 and promotes epithelial to mesenchymal transition in head and neck squamous cell carcinoma. *Cell Biol Int.* 2017;41(8):833-841. doi:10.1002/cbin.10786

- 75.** Tran CM, Kuroshima T, Oikawa Y, Michi Y, Kayamori K, Harada H. Clinicopathological and immunohistochemical characteristics of pigmented oral squamous cell carcinoma. *Oncol Lett.* 2021;21(4):339. doi:10.3892/ol.2021.12600
- 76.** Kusafuka K, Onitsuka T, Miki T, Murai C, Suda T, Fuke T, Kamijo T, Iida Y, Nakajima T. Squamous cell carcinoma with rhabdoid features of the gingiva: a case report with unusual histology. *Med Mol Morphol.* 2014 Dec;47(4):240-5.
- 77.** Allam-Nandyala P, Bui MM, DeConti R, Purohit C, Altiok S. Squamous cell carcinoma with rhabdoid phenotype of skin/soft tissue in a transplant patient: an exceptional case and review of the literature. *Diagn Cytopathol.* 2013 Feb;41(2):150-62.