

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 06/02/2025.



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



Alexandre Augusto Sarto Dominguetto

**Invasão perineural e correlação com sobrevida em carcinomas
espinocelulares orais**

Araraquara

2023



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



Alexandre Augusto Sarto Dominguette

**Invasão perineural e correlação com sobrevida em carcinomas
espinocelulares orais**

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara para obtenção do título de Doutor em Ciências Odontológicas, na Área de Diagnóstico e Cirurgia

Orientador: Prof. Dr. Cleverton Roberto de Andrade

Araraquara

2023

D671i	Dominguette, Alexandre Augusto Sarto Invasão perineural e correlação com sobrevida em carcinomas espinocelulares orais / Alexandre Augusto Sarto Dominguette. -- Araraquara, 2023 65 p. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara Orientador: Prof. Dr. Cleverton Roberto de Andrade 1. Carcinoma de Células Escamosas. 2. Imuno-Histoquímica. 3. Proteínas S100. 4. Análise de Sobrevida. I. Título.
-------	---

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Odontologia, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Alexandre Augusto Sarto Dominguette

**Invasão perineural e correlação com sobrevida em carcinomas
espinocelulares orais**

Comissão julgadora

Tese para obtenção do grau de Doutor em Ciências Odontológicas

Prof. Dr. Cleverton Roberto de Andrade

Profa. Dra. Elaine Maria Sgavioli Massucato

Prof. Dr. Osmir Batista de Oliveira Junior

Profa. Dra. Patricia Peres Lucif Pereira

Prof. Dr. Matheus Henrique Lopes Dominguette

Araraquara, 06 de fevereiro de 2023.
(data da defesa)

DADOS CURRICULARES

Alexandre Augusto Sarto Dominguette

NASCIMENTO: 26 de setembro de 1988, Varginha, Minas Gerais.

FILIAÇÃO: Luiz Antonio Dominguette e Aparecida de Fátima Sarto Dominguette

2008 - 2011: Graduação em Odontologia pela Universidade Vale do Rio Verde – UninCor

Orientador: Prof. Dr. José Carlos Rabelo Ribeiro

Bolsista: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG)

2012 - 2014: Mestrado em Clínica Odontológica, na área de Diagnóstico Bucal, pela Universidade Vale do Rio Verde – UninCor

Orientador: Prof. Dr. Tufi Neder Meyer

Bolsista: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

2014 - 2015: Especialização em Implantodontia pela Associação Brasileira de Odontologia de Minas Gerais – ABO-MG

2013 - 2016: Especialização em Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial pela Faculdade São Leopoldo Mandic

2018 – 2022: Doutorando em Ciências Odontológicas, na área de Diagnóstico e Cirurgia, pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – FOAr/UNESP

Orientador: Prof. Dr. Cleverton Roberto de Andrade

Dedico essa pesquisa a todos os pacientes acometidos pelo câncer oral.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais **Luiz Antonio** e **Fátima**, por todo amor, dedicação e apoio durante toda minha fase de estudos acadêmicos,

À minha esposa **Gisele**, pelo carinho e paciência, sempre incentivando minha evolução profissional,

Ao **Luiz Antonio, Pâmella, Pedro e Miguel**, pela ajuda incondicional durante toda a vida,

Ao meu orientador Prof. Dr. **Cleverton Roberto de Andrade**, pessoa digna onde atua, excelente pesquisador e profissional, por me ensinar tanto sobre a ciência e me dar conselhos que transcendem a carreira profissional, que levarei para toda vida,

A Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Odontologia de Araraquara, na pessoa do seu diretor Prof. Dr. **Edson Alves de Campos** e de sua vice-diretora Profa. Dra. **Patrícia Petromilli Nordi Sasso Garcia**, pelas condições oferecidas para a realização desta pesquisa,

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas, na pessoa da coordenadora do programa Profa. Dra. **Andreia Bufalino**, por todo zelo e comprometimento com seus alunos e funcionários,

A todos os professores da pós-graduação da FOAr-UNESP, que num momento delicado de pandemia, souberam passar com maestria toda informação proposta aos alunos,

Aos meus colegas da pós-graduação, pela ajuda e ensinamentos passados,

A secretaria da pós-graduação, em especial ao **Cristiano Afonso Lamounier**, por toda ajuda nessa difícil e extensa caminhada da pós-graduação,

A Fundação Hospitalar do Município de Varginha (FHOMUV) – Hospital Bom Pastor, em especial ao Dr. **Ítalo Denelle Venturelli** que nos proporcionou a realização dessa pesquisa,

Ao Setor de Oncologia do Hospital Bom Pastor de Varginha-MG, em especial aos pacientes e funcionários,

Ao SAME - Serviço de Arquivo Médico do Hospital Bom Pastor de Varginha-MG, em especial a **Bruna Naiara da Silva**,

Ao IPD Laboratórios - Instituto de Prevenção e Diagnóstico J. Janinni de Varginha-MG, em especial a **Karen Bueno**,

A **Maria Clara Avila de Oliveira**, por toda ajuda e comprometimento nesse trabalho,

Ao **Pedro Sergio Simoes**, pela ajuda na confecção das lâminas histológicas,

A **Ana Claudia Couto de Abreu**, pela ajuda na análise estatística dos resultados,

Ao Prof. Dr. **Matheus Henrique Lopes Domingute**, pela amizade e companheirismo nessa pesquisa,

A Profa. Dra. **Patricia Peres Lucif Pereira**, pelo acolhimento como professora e pela amizade, hoje como colega de profissão,

Ao Prof. Dr. **José Carlos Rabelo Ribeiro**, por ter me inserido na pesquisa odontológica ainda na graduação, além de grande amigo e profissional,

Ao Prof. Dr. **João Gustavo Rabelo Ribeiro**, por ser exemplo de profissionalismo na Odontologia, e pelo incentivo em realizar a pós-graduação nessa instituição,

Aos colegas de profissão Prof. Dr. **Bruno Henrique Figueiredo Matos** e Prof. Ms. **Paulo Roberto Domingute**, por toda ajuda em minha caminhada profissional,

Enfim, a todos que participaram direta ou indiretamente dessa pesquisa

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.”

Arthur Schopenhauer*

*Schopenhauer A. Parerga und Paralipomena. Alemanha: Cambridge University Press; 1851.

Dominguette AAS. Invasão perineural e correlação com sobrevida em carcinomas espinocelulares orais [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2023.

RESUMO

O prognóstico de pacientes com carcinoma espinocelular (CEC) oral é afetado por muitos fatores, sendo crítico na decisão de quais tratamentos serão instituídos. Dentre esses fatores destacam-se o estadiamento clínico e histopatológico, o tipo histológico, e a presença de invasão perineural (PNI), embora seja controversa. O objetivo dessa pesquisa foi verificar a correlação entre PNI e dados clínico-patológicos de pacientes diagnosticados com CEC oral tratados no Hospital Bom Pastor (Varginha-MG [2004 a 2014]). PNI foi avaliada a partir de laudos histopatológicos e por meio de análise histopatológica revisional utilizando-se a coloração de hematoxilina e eosina (H&E) e o anticorpo contra S100. Com os dados coletados e as novas análises realizadas, foi efetuado teste de Qui-quadrado (análise univariada) e regressão logística (análise multivariada). A taxa de sobrevida e o teste log-rank foram calculados pelo método de Kaplan-Meier. Os dados iniciais foram obtidos de 310 pacientes, havendo forte predomínio masculino (78,7%) e idade média de 60,1 anos. A língua foi a região mais prevalente (40,3%). Os tumores moderadamente diferenciados somaram 52,2%. Os estádios IV (54,5%) e III (21,6%) predominaram. A radioterapia associada a quimioterapia foi o tratamento predominante (33,5%). Pacientes com menores taxas de sobrevida apresentaram maiores percentuais de PNI, cerca de 11,4%. Obtivemos 39 peças em parafina que foram cortadas e coradas em H&E e realizadas as imuno-histoquímicas para S100 e Ki67. Nesta nova análise, sete casos foram positivos para PNI utilizando a coloração de H&E (17,9%), aumentando para 20 (51,2%) casos com ajuda de imuno-histoquímica pra S100 ($p=0,004$). O PNI-S100 intraneural foi o tipo mais prevalente ($n = 9$), seguida do envolvimento total do nervo ($n=8$). Todos os pacientes com idade inferior a 50 anos foram PNI-S100 positivos. Pacientes fumantes+etilistas representaram 80,0% de todos os casos PNI-S100 positivos. Os tumores N0 e M0 representaram a maioria dos casos positivos para PNI-S100. Todos os casos PNI-S100 positivos com recorrência locorregional apresentaram invasão intraneural ($p=0,001$). Pacientes fumantes+etilistas tem 2 vezes mais chances de apresentar PNI-S100. Portanto, pudemos concluir que o uso da imuno-histoquímica para S100 melhora a acurácia diagnóstica de PNI, reduzindo os erros alfa e beta. PNI-S100 intraneural é preditiva de recidiva locorregional no CEC oral.

Palavras chave: Carcinoma de Células Escamosas. Imuno-Histoquímica. Proteínas S100. Análise de Sobrevida.

Dominguette AAS. Perineural invasion and correlation with survival in oral squamous cell carcinoma [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2023.

ABSTRACT

The prognosis of patients with oral squamous cell carcinoma (OSCC) is affected by many factors, all of which are critical in deciding which treatments to apply. Among these factors, those that stand out are the clinical and histopathological staging, the histological type, and the presence of perineural invasion (PNI), though this is controversial. The objective of this research was to verify the correlation between PNI and clinicopathological data of patients diagnosed with OSCC treated at Bom Pastor Hospital (Varginha-MG [2004 to 2014]). PNI was evaluated by histopathological reports and through revised histopathological analysis using hematoxylin and eosin (H&E) staining and the antibody against S100. After collecting the data and performing the new analyzes, we performed the Chi-square test (univariate analysis) and logistic regression (multivariate analysis). Survival rate and log-rank test were calculated using the Kaplan-Meier method. Initial data were obtained from 310 patients, who were predominantly male (78.7%) with a mean age of 60.1 years. The tongue was found to be the most prevalent region (40.3%), and moderately differentiated tumors accounted for 52.2%. Stages IV (54.5%) and III (21.6%) predominated. Radiotherapy associated with chemotherapy was the most common treatment (33.5%). Patients with lower survival rates had higher percentages of PNI, around 11.4%. We obtained 39 samples in paraffin that were cut and stained in H&E, and immunohistochemistry for S100 and Ki67 was performed. In this new analysis, seven cases were positive for PNI using H&E staining (17.9%), increasing to 20 (51.2%) cases with the use of immunohistochemistry for S100 ($p=0.004$). Intraneural PNI-S100 was the most prevalent type ($n=9$), followed by total nerve involvement ($n=8$). All patients younger than 50 years old were PNI-S100 positive. Patients who were smokers & alcoholics represented 80.0% of all PNI-S100 positive cases. N0 and M0 tumors represented the majority of positive cases for PNI-S100. All PNI-S100 positive cases with locoregional recurrence showed intraneural invasion ($p=0.001$). Smokers & alcoholics are 2 times more likely to present PNI-S100. Therefore, we can conclude that the use of immunohistochemistry for S100 improves the diagnostic accuracy of PNI, reducing alpha and beta errors. Intraneural PNI-S100 predicts locoregional recurrence in OSCC.

Keywords: Carcinoma, Squamous Cell. Immunohistochemistry. S100 Proteins. Survival Analysis.

LISTA DE ABREVIATURAS

AJCC	American Joint Committee on Cancer
CAAE	Certificado de Apresentação de Apreciação Ética
CAM	Membrana Corioalantóica
CEC	Carcinoma Espinocelular
CSF-1	Fator Estimulante de Colônia 1
DAB	Diaminobenzidina
DRG	Gânglio da Raiz Dorsal
FHOMUV	Fundação Hospitalar do Município de Varginha
GAL	Receptor de Galanina
GalR2	Receptor de Galanina 2
GDNF	Fator Neurotrófico Derivado da Glia
H&E	Hematoxilina e Eosina
HPV	Papilomavirus Humano
HRP	Peroxidase de Rábano Silvestre
LVI	Invasão Linfovascular
PNI	Perineural Invasion
Rxt	Radioterapia
SUS	Sistema Único de Saúde
TIF	Tumor Invasion Front
Qxt	Quimioterapia

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Descrição microscópica de PNI.....	32
Figura 2 - Análise histológica de PNI (H&E e S100).....	43
Figura 3 - Análise histológica tumoral (Ki67).....	54
Gráfico 1 - Sobrevida global.....	39
Gráfico 2 - Sobrevida (localização).....	39
Gráfico 3 - Sobrevida (estadiamento).....	40
Gráfico 4 - Sobrevida (tamanho).....	40
Gráfico 5 - Sobrevida (metástase linfonodal).....	41
Gráfico 6 - Sobrevida (tratamento).....	41
Gráfico 7 - Sobrevida (PNI).....	42
Gráfico 8 - Probabilidade de PNI (S100+).....	50
Gráfico 9 - Probabilidade de invasão linfovascular.....	51
Gráfico 10 - Probabilidade de recidiva locorregional.....	53
Gráfico 11 - Probabilidade de metástase linfonodal.....	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Análise descritiva das características clínicas e patológicas relacionadas a PNI (n = 310)	35
Tabela 2 - Grau histológico dos tumores relacionados com PNI	36
Tabela 3 - Tratamentos realizados e sua relação com PNI	36
Tabela 4 - Análise descritiva das características clínicas e patológicas relacionadas a sobrevida (n = 128)	37
Tabela 5 - Relação entre PNI, recidiva locorregional e metástase linfonodal com características clínico-patológicas (n = 39)	45
Tabela 6 - Relação entre PNI, recidiva locorregional e metástase linfonodal com características histopatológicas (n = 39)	47
Tabela 7 - Comparação entre análise de PNI em H&E e por imuno-histoquímica com anti-S100	48
Tabela 8 - Caracterização dos pacientes com PNI (S100+) segundo o tipo de invasão (n = 20)	49
Tabela 9 - Análise multivariada para identificação dos fatores associados ao resultado de PNI (S100+) (n = 39)	50
Tabela 10 - Análise multivariada para identificação dos fatores associados a LVI (n = 39)	51
Tabela 11 - Análise multivariada para identificação dos fatores associados à recidiva locorregional (n = 39)	52
Tabela 12 - Análise multivariada para identificação dos fatores associados à metástase linfonodal (n = 39)	54

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 PROPOSIÇÃO	18
2.1 Objetivo Geral.....	18
2.2 Objetivos Específicos	18
3 REVISÃO DA LITERATURA	19
3.1 Definição de PNI	20
3.2 Patogênese de PNI	21
3.3 Incidência de PNI no CEC Oral.....	23
3.4 Desfechos Relacionados a PNI	25
4 MATERIAL E MÉTODOS	28
4.1 Enfoque Metodológico da Investigação.....	28
4.2 Tipo de Estudo	28
4.3 Amostra	28
4.4 Critérios de Inclusão e Exclusão	28
4.4.1 Inclusão	28
4.4.2 Exclusão	29
4.5 Coleta de Dados	29
4.6 Análise Histopatológica	30
4.6.1 Imuno-histoquímica	30
4.6.2 Definição de PNI e anticorpos.....	31
4.7 Análise Estatística.....	31
5 RESULTADO	34
5.1 Análise de Sobrevida	36
5.2 Análise Histopatológica	42
5.2.1 PNI.....	42
5.2.2 Recidiva locorregional e metástase linfonodal	51
6 DISCUSSÃO	55

7 CONCLUSÃO	59
REFERÊNCIAS	60
ANEXO	65

1 INTRODUÇÃO

No ano de 2020, mais de 375.000 casos novos de câncer oral e 175.000 mortes foram registradas no mundo¹, dentre os quais, 95,0% eram carcinoma espinocelular (CEC)².

A sobrevida dos pacientes diagnosticados com CEC de cavidade oral foi relacionada com tumor residual nas margens cirúrgicas, estadiamento, TNM (tamanho, linfonodos e metástase) e invasão vascular³ e, mais recentemente, com a presença de invasão perineural (PNI), que foi associada a tumores agressivos, metástase à distância e menores taxas de sobrevida⁴.

A PNI é descrita como a capacidade das células tumorais de invadir o tecido nervoso⁵. O tumor apresenta essa capacidade devido a interações de sinalização recíprocas entre as células tumorais e componentes nervosos, particularmente as células de Schwann, que colaboram com a migração do câncer pelos nervos⁶. Além disso, o processo de invasão tumoral pode ocorrer ao redor ou através do tecido nervoso⁷. De fato, PNI pode ser considerada quando o tumor envolve mais de 33% ou totalmente a circunferência do nervo, ou ainda atinge o nervo em profundidade, representando a invasão intraneural⁸.

A prevalência de PNI no CEC sempre foi considerada baixa e os primeiros relatos de PNI no CEC oral foram relatados na década de 1980^{7,9,10}. Entretanto, dados recentes demonstraram tumores com PNI com comportamento mais agressivo¹¹⁻¹³, além de maiores taxas de recidiva e mortalidade¹⁴⁻¹⁷. Assim, PNI tem se demonstrado como um novo parâmetro no tratamento dos CECs orais¹⁸ onde a correlação entre PNI e estado clínico ou taxa de sobrevida dos pacientes diagnosticados com CEC oral vem sendo, aos poucos, estabelecida⁴.

Desse modo, dados publicados que relatam diagnóstico de PNI no CEC oral tem suscitado menor sobrevida global e livre da doença em 5 anos, assim como maior taxa de recorrência^{3,19}. De fato, o diagnóstico de PNI parece ser um preditor independente de sobrevida³, especialmente em CECs orais com invasões profundas²⁰. Dados de recidiva locorregional mostraram-se significativos, especialmente quando houve envolvimento de troncos nervosos²¹, demonstrando aumento do risco relativo de recorrências em 1,8 vezes²².

De outra parte, a presença de PNI em tumores iniciais foi associada a menor controle locorregional²³. Tumores em estadiamento I e II com PNI podem apresentar

menores taxas de sobrevida livre de recorrência quando comparados a tumores em estádios III e IV sem PNI¹⁹. Sendo assim, o diagnóstico de PNI pode ser fator importante para a inclusão de terapias adjuvantes no tratamento de CEC oral²⁴.

7 CONCLUSÃO

De acordo com a metodologia proposta e os resultados obtidos, podemos concluir que:

- a) A análise histológica dos CECs orais com auxílio de imuno-histoquímica para S100 melhora a acurácia diagnóstica de PNI, reduzindo os erros alfa e beta.
- b) Alto escore de Ki67 no CEC oral pode ser considerado fator preditivo de metástase linfonodal.
- c) PNI intraneural no CEC oral pode ser considerada fator preditivo para recidiva locorregional.
- d) As taxas de sobrevida dos pacientes positivos e/ou negativos para PNI foram extremamente baixas, entretanto não mostraram diferenças significativas entre si.

REFERÊNCIAS*

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2021; 71(3): 209-49.
2. Chi AC, Day TA, Neville BW. Oral cavity and oropharyngeal squamous cell carcinoma--an update. *CA Cancer J Clin.* 2015; 65(5): 401-21.
3. Zanoni DK, Montero PH, Migliacci JC, Shah JP, Wong RJ, Ganly I, et al. Survival outcomes after treatment of cancer of the oral cavity (1985-2015). *Oral Oncol.* 2019; 90: 115-21.
4. Nair D, Mair M, Singhvi H, Mishra A, Nair S, Agrawal J, et al. Perineural invasion: independent prognostic factor in oral cancer that warrants adjuvant treatment. *Head Neck.* 2018; 40(8): 1780-7.
5. Binmadi NO, Basile JR. Perineural invasion in oral squamous cell carcinoma: a discussion of significance and review of the literature. *Oral Oncol.* 2011; 47(11): 1005-10.
6. Misztal CI, Green C, Mei C, Bhatia R, Velez Torres JM, Kamrava B, et al. Molecular and cellular mechanisms of perineural invasion in oral squamous cell carcinoma: potential targets for therapeutic intervention. *Cancers (Basel).* 2021; 13(23): 6011.
7. Batsakis JG. Nerves and neurotropic carcinomas. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1985; 94(4 Pt 1): 426-7.
8. Schmitd LB, Beesley LJ, Russo N, Bellile EL, Inglehart RC, Liu M, et al. Redefining perineural invasion: integration of biology with clinical outcome. *Neoplasia.* 2018; 20(7): 657-67.
9. Brown B, Barnes L, Mazariegos J, Taylor F, Johnson J, Wagner RL. Prognostic factors in mobile tongue and floor of mouth carcinoma. *Cancer.* 1989; 64(6): 1195-202.
10. Conte CC, Ergin MT, Ricci A, Jr., Deckers PJ. Clinical and pathologic prognostic variables in oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Am J Surg.* 1989; 157(6): 582-4.
11. Alkhadar H, Macluskey M, White S, Ellis I. Perineural invasion in oral squamous cell carcinoma: Incidence, prognostic impact and molecular insight. *J Oral Pathol Med.* 2020; 49(10): 994-1003.

* 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. Schmitd LB, Scanlon CS, D'Silva NJ. Perineural invasion in head and neck cancer. *J Dent Res.* 2018; 97(7): 742-50.
13. Chen YW, Yu EH, Wu TH, Lo WL, Li WY, Kao SY. Histopathological factors affecting nodal metastasis in tongue cancer: analysis of 94 patients in Taiwan. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2008; 37(10): 912-6.
14. Bonifazi M, Malvezzi M, Bertuccio P, Edefonti V, Garavello W, Levi F, et al. Age-period-cohort analysis of oral cancer mortality in Europe: the end of an epidemic? *Oral Oncol.* 2011; 47(5): 400-7.
15. Chatzistefanou I, Lubek J, Markou K, Ord RA. The role of perineural invasion in treatment decisions for oral cancer patients: A review of the literature. *J Craniomaxillofac Surg.* 2017; 45(6): 821-5.
16. Perea LME, Antunes JLF, Peres MA. Oral and oropharyngeal cancer mortality in Brazil, 1983-2017: age-period-cohort analysis. *Oral Dis.* 2022; 28(1): 97-107.
17. Rapidis AD, Givalos N, Gakiopoulou H, Faratzis G, Stavrianos SD, Vilos GA, et al. Adenoid cystic carcinoma of the head and neck. Clinicopathological analysis of 23 patients and review of the literature. *Oral Oncol.* 2005; 41(3): 328-35.
18. Amit M, Na'ara S, Gil Z. Mechanisms of cancer dissemination along nerves. *Nat Rev Cancer.* 2016; 16(6): 399-408.
19. Laske RD, Scholz I, Ikenberg K, Meerwein C, Vital DG, Studer G, et al. Perineural invasion in squamous cell carcinoma of the oral cavity: histology, tumor stage, and outcome. *Laryngoscope Investig Otolaryngol.* 2016; 1(1): 13-8.
20. Subramaniam N, Murthy S, Balasubramanian D, Low TH, Vidhyadharan S, Clark JR, et al. Adverse pathologic features in T1/2 oral squamous cell carcinoma classified by the American Joint Committee on Cancer eighth edition and implications for treatment. *Head Neck.* 2018; 40(10): 2123-8.
21. Carrillo JF, Carrillo LC, Cano A, Ramirez-Ortega MC, Chanona JG, Aviles A, et al. Retrospective cohort study of prognostic factors in patients with oral cavity and oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Head Neck.* 2016; 38(4): 536-41.
22. Spoerl S, Spoerl S, Reil S, Gerken M, Ludwig N, Taxis J, et al. Prognostic value of perineural invasion on survival and recurrence in oral squamous cell carcinoma. *Diagnostics (Basel).* 2022; 12(5): 1062.
23. Low TH, Gao K, Gupta R, Clifford A, Elliott M, Ch'ng S, et al. Factors predicting poor outcomes in T1N0 oral squamous cell carcinoma: indicators for treatment intensification. *ANZ J Surg.* 2016; 86(5): 366-71.
24. Pfister DG, Spencer S, Adelstein D, Adkins D, Anzai Y, Brizel DM, et al. Head and neck cancers, Version 2.2020, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw.* 2020; 18(7): 873-98.
25. Instituto Nacional de Câncer José de Alencar Gomes da Silva. Câncer e consumo de álcool. Rio de Janeiro: INCA. 2022.

26. Instituto Nacional de Câncer José de Alencar Gomes da Silva. Diagnóstico precoce do câncer de boca. Rio de Janeiro: INCA. 2022.
27. Instituto Nacional de Câncer José de Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2018: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA. 2018.
28. Instituto Nacional de Câncer José de Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2020: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA. 2020.
29. Rutkowska M, Hnitecka S, Nahajowski M, Dominiak M, Gerber H. Oral cancer: the first symptoms and reasons for delaying correct diagnosis and appropriate treatment. *Adv Clin Exp Med*. 2020; 29(6): 735-43.
30. Carlander AF, Jakobsen KK, Bendtsen SK, Garset-Zamani M, Lynggaard CD, Jensen JS, et al. A contemporary systematic review on repartition of HPV-positivity in oropharyngeal cancer worldwide. *Viruses*. 2021; 13(7): 1326.
31. Stolinski C. Structure and composition of the outer connective tissue sheaths of peripheral nerve. *J Anat*. 1995; 186 (Pt 1): 123-30.
32. Olsson Y. Microenvironment of the peripheral nervous system under normal and pathological conditions. *Crit Rev Neurobiol*. 1990; 5(3): 265-311.
33. Bakst RL, Wong RJ. Mechanisms of perineural invasion. *J Neurol Surg B Skull Base*. 2016; 77(2): 96-106.
34. Panizza BJ. An overview of head and neck malignancy with perineural spread. *J Neurol Surg B Skull Base*. 2016; 77(2): 81-5.
35. Fagan JJ, Collins B, Barnes L, D'Amico F, Myers EN, Johnson JT. Perineural invasion in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 1998; 124(6): 637-40.
36. Kurtz KA, Hoffman HT, Zimmerman MB, Robinson RA. Perineural and vascular invasion in oral cavity squamous carcinoma: increased incidence on re-review of slides and by using immunohistochemical enhancement. *Arch Pathol Lab Med*. 2005; 129(3): 354-9.
37. Liebig C, Ayala G, Wilks JA, Berger DH, Albo D. Perineural invasion in cancer: a review of the literature. *Cancer*. 2009; 115(15): 3379-91.
38. Nagakawa T, Kayahara M, Ohta T, Ueno K, Konishi I, Miyazaki I. Patterns of neural and plexus invasion of human pancreatic cancer and experimental cancer. *Int J Pancreatol*. 1991; 10(2): 113-9.
39. Aivazian K, Ebrahimi A, Low TH, Gao K, Clifford A, Shannon K, et al. Perineural invasion in oral squamous cell carcinoma: quantitative subcategorisation of perineural invasion and prognostication. *J Surg Oncol*. 2015; 111(3): 352-8.

40. Caponio VCA, Troiano G, Togni L, Zhurakivska K, Santarelli A, Laino L, et al. Pattern and localization of perineural invasion predict poor survival in oral tongue carcinoma. *Oral Dis.* 2021; 29: 411-422.
41. Amit M, Binenbaum Y, Trejo-Leider L, Sharma K, Ramer N, Ramer I, et al. International collaborative validation of intraneural invasion as a prognostic marker in adenoid cystic carcinoma of the head and neck. *Head Neck.* 2015; 37(7): 1038-45.
42. Chi AC, Katabi N, Chen HS, Cheng YL. Interobserver Variation Among Pathologists in Evaluating Perineural Invasion for Oral Squamous Cell Carcinoma. *Head Neck Pathol.* 2016; 10(4): 451-64.
43. Rodin AE, Larson DL, Roberts DK. Nature of the perineural space invaded by prostatic carcinoma. *Cancer.* 1967; 20(10): 1772-9.
44. Cavel O, Shomron O, Shabtay A, Vital J, Trejo-Leider L, Weizman N, et al. Endoneurial macrophages induce perineural invasion of pancreatic cancer cells by secretion of GDNF and activation of RET tyrosine kinase receptor. *Cancer Res.* 2012; 72(22): 5733-43.
45. Huang L, Xu X, Hao Y. The possible mechanisms of tumor progression via CSF-1/CSF-1R pathway activation. *Rom J Morphol Embryol.* 2014; 55(2 Suppl): 501-6.
46. Gaudet AD, Popovich PG, Ramer MS. Wallerian degeneration: gaining perspective on inflammatory events after peripheral nerve injury. *J Neuroinflammation.* 2011; 8: 110.
47. Demir IE, Boldis A, Pfitzinger PL, Teller S, Brunner E, Klose N, et al. Investigation of Schwann cells at neoplastic cell sites before the onset of cancer invasion. *J Natl Cancer Inst.* 2014; 106(8): 184.
48. Ayala GE, Wheeler TM, Shine HD, Schmelz M, Frolov A, Chakraborty S, et al. In vitro dorsal root ganglia and human prostate cell line interaction: redefining perineural invasion in prostate cancer. *Prostate.* 2001; 49(3): 213-23.
49. Hulse RP, Wynick D, Donaldson LF. Activation of the galanin receptor 2 in the periphery reverses nerve injury-induced allodynia. *Mol Pain.* 2011; 7: 26.
50. Banerjee R, Henson BS, Russo N, Tsodikov A, D'Silva NJ. Rap1 mediates galanin receptor 2-induced proliferation and survival in squamous cell carcinoma. *Cell Signal.* 2011; 23(7): 1110-8.
51. Scanlon CS, Banerjee R, Inglehart RC, Liu M, Russo N, Hariharan A, et al. Galanin modulates the neural niche to favour perineural invasion in head and neck cancer. *Nat Commun.* 2015; 6: 6885.
52. Gil Z, Cavel O, Kelly K, Brader P, Rein A, Gao SP, et al. Paracrine regulation of pancreatic cancer cell invasion by peripheral nerves. *J Natl Cancer Inst.* 2010; 102(2): 107-18.

53. Chuang JY, Tsai CF, Chang SW, Chiang IP, Huang SM, Lin HY, et al. Glial cell line-derived neurotrophic factor induces cell migration in human oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol.* 2013; 49(12): 1103-12.
54. Rodolico V, Barresi E, Di Lorenzo R, Leonardi V, Napoli P, Rappa F, et al. Lymph node metastasis in lower lip squamous cell carcinoma in relation to tumour size, histologic variables and p27Kip1 protein expression. *Oral Oncol.* 2004; 40(1): 92-8.
55. Nair S, Singh B, Pawar PV, Datta S, Nair D, Kane S, et al. Squamous cell carcinoma of tongue and buccal mucosa: clinico-pathologically different entities. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2016; 273(11): 3921-8.
56. Liao CT, Chang JT, Wang HM, Ng SH, Hsueh C, Lee LY, et al. Does adjuvant radiation therapy improve outcomes in pT1-3N0 oral cavity cancer with tumor-free margins and perineural invasion? *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2008; 71(2): 371-6.
57. Huang TY, Hsu LP, Wen YH, Huang TT, Chou YF, Lee CF, et al. Predictors of locoregional recurrence in early stage oral cavity cancer with free surgical margins. *Oral Oncol.* 2010; 46(1): 49-55.
58. Brandwein-Gensler M, Teixeira MS, Lewis CM, Lee B, Rolnitzky L, Hille JJ, et al. Oral squamous cell carcinoma: histologic risk assessment, but not margin status, is strongly predictive of local disease-free and overall survival. *Am J Surg Pathol.* 2005; 29(2): 167-78.
59. Shen WR, Wang YP, Chang JY, Yu SY, Chen HM, Chiang CP. Perineural invasion and expression of nerve growth factor can predict the progression and prognosis of oral tongue squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med.* 2014; 43(4): 258-64.
60. Lee LY, De Paz D, Lin CY, Fan KH, Wang HM, Hsieh CH, et al. Prognostic impact of extratumoral perineural invasion in patients with oral cavity squamous cell carcinoma. *Cancer Med.* 2019; 8(14): 6185-94.
61. Baumeister P, Welz C, Jacobi C, Reiter M. Is perineural invasion of head and neck squamous cell carcinomas linked to tobacco consumption? *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2018; 158(5): 878-81.