



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 espinocelular basalóide (CECB)	15
3.3 Características clinicopatológicas do carcinoma verrucoso (CV)	17
3.4 Características clinicopatológicas do carcinoma espinocelular papilar (CECPa)	18
3.5 Características clinicopatológicas do carcinoma espinocelular 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 espinocelular acantolítico (CECAc)	23
3.9 Variantes incomuns do carcinoma espinocelular 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 espinocelular basalóide (CECB)	32
5.3 Características clinicopatológicas do carcinoma espinocelular de células fusiformes (CECF)	34
5.4 Características clinicopatológicas do carcinoma adenocarcinoma (CAAd)	36
5.5 Características clinicopatológicas do carcinoma espinocelular 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}.

2 PROPOSIÇÃO

O objetivo geral do presente estudo foi realizar um estudo colaborativo multicêntrico visando a análise das características clínicopatológicas, imunofenotípicas e de hibridização *in situ* de variantes histopatológicas do CEC, após avaliação histomorfológica detalhada de 1.415 casos de CECCP a fim de compreender melhor as suas características epidemiológicas, critérios diagnósticos, comportamento biológico, terapêutica e de prognóstico, que afetam a população brasileira.

3 REVISÃO DA LITERATURA

A revisão de literatura realizada no presente estudo foi realizada enfatizando os dados clinicopatológicos em estudos epidemiológicos de artigos científicos publicados em revistas indexadas em base de dados.

3.1 Características clinicopatológicas do carcinoma adenoescamoso (CAd)

O CAd é considerado como uma variante rara, de alto grau, que ocorre em vários locais anatômicos, recebendo essa nomenclatura devido à composição mista que remete ao CEC convencional e ao adenocarcinoma no mesmo material analisado. Na região cabeça e pescoço, o CAd foi descrito pela primeira vez em 1968 por Gerughty et al.,²⁴ e naquele momento a lesão já era classificada de alto grau, por apresentar curso clínico agressivo. No ano 1984, o CAd foi enfaticamente diferenciado do carcinoma mucoepidermóide (CME), devido às suas particularidades morfológicas e piores resultados em relação à sobrevida dos pacientes, mesmo quando comparados com CME de alto grau^{24,25}. Inicialmente, acreditava-se que o CAd se originava das células multipotentes dos ductos excretórios das glândulas salivares menores, no entanto, com o avanço dos imunomarcadores de diferenciação celular, principalmente em relação à expressão de citoqueratinas de alto e baixo peso molecular, e documentação da evolução de lesões iniciais, foi sugerido que o CAd se originasse do epitélio estratificado escamoso de revestimento²⁴⁻²⁶. Embora os achados clínicos e demográficos sejam similares ao CEC convencional, o CAd histologicamente apresenta dois componentes, o componente escamoso, que pode apresentar-se como *in situ* ou invasivo, de acordo com a diferenciação celular, sendo bem, moderado ou pouco diferenciados, outros achados incluindo as pontes intercelulares e as pérolas de queratina; já o componente glandular (adenocarcinoma) é tipicamente encontrado nas partes mais profundas do espécime analisado, e apresentam características morfológicas tubular, alveolar e/ou glandular, embora a presença de células mucosas não seja essencial para o diagnóstico^{17,24-26}. Ambos os componentes podem evidenciar a presença de mitoses, necrose e infiltração no tecido circundante com invasão perineural associada. Há tipicamente um infiltrado de células inflamatórias esparsas na interface tumor-estroma e produção de mucina intracitoplasmática ou dentro dos espaços glandulares, podendo ser evidenciadas por

técnicas de histoquímica, como PAS, mucicarmim e azul de Alcian^{17,24-27}. A IQ geralmente evidencia a positividade de p63 no componente escamoso, enquanto, o antígeno carcinoembrionário (ACE), citoqueratina de baixo peso molecular (CAM 5.2) e CK7 no componente adenocarcinomatoso. A CK20 geralmente é negativa nesse grupo. A associação do CAd com HPV tem sido relatada, porém, é ainda pouco explorada. Prévios estudos mostraram que os casos HPV-positivos apresentaram resultados mais favoráveis ao tratamento que os casos HPV-negativos. Também, foi destacada a importância da translocação *CRTC1-MAML2* como uma ferramenta auxiliar no diagnóstico diferencial, a qual, se presente, suporta o diagnóstico de CME²⁸.

As características clinicopatológicas indicam que o CAd tem um comportamento clínico agressivo, com muitos pacientes apresentando tumores em estágio clínico avançado, metástases linfonodais cervicais e recorrências locorregionais e/ou metástases à distância, após o tratamento^{17,24-27}. A laringe é a localização mais comum em cabeça e pescoço, os sinais clínicos incluem rouquidão, dor de garganta, disfagia e hemoptise, além dos nódulos palpáveis em região cervical⁶. Na análise, dos 235 pacientes diagnosticados com CAd de cabeça e pescoço,²⁹ 66,8% eram do sexo masculino e 33,2% do sexo feminino, com média de idade de 64 anos. Os resultados demonstraram taxas de sobrevida em 5 anos de 30% para sobrevida global e 50% para sobrevida específica da doença²⁹. Este mesmo estudo demonstrou que a ressecção cirúrgica melhora a sobrevida em pacientes com doença localizada ou regional, enquanto a radioterapia confere benefício de sobrevida em pacientes com recorrência distante²⁹.

3.2 Características clinicopatológicas do carcinoma espinocelular basalóide (CECB)

O CECB é uma variante de alto grau do CEC convencional, com predileção pelo envolvimento multifocal da orofaringe (base da língua e tonsila palatina), seio piriforme e laringe supraglótica. Outros sítios menos comuns incluem soalho bucal, mucosa jugal, palato duro, trato nasossinusal, nasofaringe e traqueia. Além disso, o CECB já foi relatado no esôfago, pulmão, ânus, colo do útero, pênis e bexiga. Clinicamente, estes tumores são preferencialmente diagnosticados em homens, na sétima década de vida, não incomumente apresentando metástases linfonodais cervicais^{17,20,22,30}. O consumo de álcool e tabaco são fatores de risco frequentemente

associados, mas devido a sua predileção por estruturas anatômicas localizadas na orofaringe, a sua associação com o HPV também é amplamente estudada atualmente. Kleist et al.³¹ (2004) e El-Mofty et al.³² (2006) detectaram uma maior frequência de HPV em CECB do que em CEC convencionais de cabeça e pescoço^{31,32}. Entretanto, outros estudos não evidenciaram essa relação entre o HPV e o CECB³³. Clinicamente, esses tumores são consistentes à palpação, podendo apresentar necrose central, manifestando-se como massas exofíticas a nodulares, podendo medir até 6 cm em seu maior diâmetro^{17,30}.

Ao exame microscópico, o tumor oferece uma variedade de padrões morfológicos, incluindo: sólido, lobular, cribriforme, cordões, trabéculas, ninhos e císticos^{17,30}. Uma biópsia superficial pode causar dificuldades para determinar o padrão de infiltração do CECB. A identificação do componente basaloide é importante para o diagnóstico, sendo constituído por pequenas células pleomórficas, núcleos hipercromáticos e citoplasma escasso, arrançados em uma configuração lobular com paliçada periférica, intimamente associada ou envolvendo a mucosa superficial. Pequenos espaços pseudoglandulares contendo material mixóide e hialino no estroma, e necrose do tipo comedo. O componente escamoso pode estar presente permeando o componente basalóide, como displasia do epitélio de superfície e como CEC convencional^{17,30,33}.

A maioria dos estudos imunoistoquímicos recomendam marcadores de citoqueratinas (pan-CK AE1/AE3, CAM5.2, CK7, e CK34βE12, sendo este último como o marcador mais útil como critério diagnóstico. Além disso, este tumor é p63 e p40 positivo^{17,29,32}. O marcador antígeno de membrana epitelial (EMA) e outros, como cromogranina, sinaptofisina, antígeno leucocitário comum (LCA), HMB-45 e desmina são negativos. No entanto, alguns marcadores, como S100, enolase específica do neurônio (NSE), vimentina, actina de músculo liso (AML), antígeno carcinoembrionário (CEA), Leu-7, CK20 e proteína ácida fibrilar glial (GFAP) podem ter expressão variável^{17,30,33}.

O principal diagnóstico diferencial do CECB inclui o carcinoma adenóide cístico (CAC) e o carcinoma neuroendócrino de pequenas células. No CAC não há sinais de CEC invasivo, carcinoma *"in situ"*, displasia ou diferenciação escamosa focal, sendo todos esses achados do CECB. Mitoses, pleomorfismo nuclear e necrose são mais proeminentes no CECB e raros no CAC. Alguns estudos correlacionaram o

comportamento mais agressivo do CECB pela alta expressão de p53^{17,30,33}. No entanto, os CECB HPV-positivos apresentam expressão variável de p53^{30,33}.

Um dos fatores mais significativos em relação à sobrevida de pacientes com CECB é a metástase linfonodal. Estudos mostraram diferenças significativas na sobrevida do CECB com e sem metástases linfonodais, com sobrevidas de 19 e 48 meses, respectivamente³⁴. A taxa de metástase pode variar entre 15% e 75%, sendo o pulmão o principal alvo das metástases à distância no CECB^{30,33}. O CECB requer terapia antineoplásica multimodal agressiva, incluindo remoção cirúrgica radical, esvaziamento cervical, radioterapia e/ou quimioterapia. Apesar da terapia agressiva, a taxa de mortalidade geral é alta (60%)^{17,30}.

3.3 Características clinicopatológicas do carcinoma verrucoso (CV)

Dentre as variantes histopatológicas do CECCP, principalmente as que afetam a cavidade oral, o CV é prevalente quando comparado com outras variantes^{17,35}. Do ponto de vista clínico, o CV se apresenta como uma lesão exofítica, séssil, superfície verrucosa e coloração extremamente branca, assintomática, medindo até 10 cm na maior dimensão, com alguns casos apresentando ulceração superficial^{17,36}. Embora a cavidade oral seja o sítio mais comum, outras estruturas anatômicas como laringe, trato nasossinusal e nasofaringe podem também ser acometidas^{17,36}.

Vale ressaltar que o CV pode ser precedido por uma desordem potencialmente maligna oral (DPMO), denominada leucoplasia verrucosa proliferativa (LVP). Atualmente existe um estadiamento clínico que atende às características clínicas dessa DPMO, com o estágio inicial não diferindo de uma leucoplasia oral convencional, o estágio intermediário representa o estágio pré-maligno e apresenta-se clinicamente como lesões verrucosas que são diagnosticadas microscopicamente como hiperplasia verrucosa (HV). O estágio tardio, representa o estágio maligno, com as características supracitadas³⁷. Desde 1985, inúmeros estudos, com grandes séries de casos de LVP, demonstraram em consenso que essa DPMO é mais comum em mulheres adultas/idosas, que não possuem hábitos nocivos como o uso do tabaco e álcool. A localização mais comum é na gengiva, palato e mucosa jugal, com uma minoria de casos se manifestando na língua e lábios³⁶. A taxa de transformação maligna da LVP em CEC convencional ou CV é alta, variando entre 14,3% e 75%, com taxa média variando de 43,8% a 65,8%^{35,37-39}.

Embora todas as variantes apresentem um desafio diagnóstico, o CV pode ser um dos mais difíceis e problemáticos para conclusão diagnóstica, porque o CV no geral não apresenta arranjos arquiteturais indicando franca infiltração, além de ser citologicamente não atípico. Um problema que pode ser encontrado em casos desafiadores, se dá pelas biópsias pequenas ou não representativas¹⁷. Outra dificuldade no momento do diagnóstico histopatológico é a distinção entre HV e CV. Argumenta-se que a diferença está na análise da interface epitélio-córion, arranjo tecidual e estrita correlação clínica. A distinção apenas baseada em características histológicas, mesmo considerando estudos genéticos (análise de DNA), muitas vezes não é possível^{17,37,40}. O exame microscópico demonstra comumente uma hiperqueratose, projeções epiteliais que lembram cristas as quais parecem comprimir o estroma da lesão, a superfície pode ser papilar ou verruciforme e a paraceraatina parece preencher as projeções formadas pelo epitélio. As células epiteliais não demonstram evidente pleomorfismo e atipias celulares, ao invés, as células tumorais mostram um aparente padrão de maturação normal. Um infiltrado inflamatório crônico no estroma subjacente pode ser observado^{17,37,40}. O comportamento biológico do CV parece corresponder aquele observado entre HV e CEC convencional, mas devido à progressão contínua da doença, este fato parece não cooperar com as tentativas de categorização. Esses tumores precisam ser tratados como CEC bem diferenciado, realizando-se ampla ressecção cirúrgica, podendo ser complementado por radioterapia. Vale ressaltar que metástases são eventos raros no CV^{17,37,40}. Uma sobrevida de 75% em 5 anos é observada na maioria dos pacientes com CV na região de cabeça e pescoço, embora esses números variem dependendo do local e do estágio clínico no momento do diagnóstico^{17,37,40}.

3.4 Características clinicopatológicas do carcinoma espinocelular papilar (CECPa)

O CECPa é uma variante rara do CEC localizada comumente na mucosa do trato aéreo superior. O CECPa é uma malignidade *de novo*, ou seja, não é precedida por nenhuma lesão benigna ou DPMO pré- ou co-existente (ex: papiloma escamoso, leucoplasia oral, LVP)^{17,41,42}. Clinicamente se apresenta como uma lesão única, de crescimento exofítico ou papilar, de tamanho variável. Os pacientes mais afetados são homens, na sexta década de vida, e as localizações mais frequentes são laringe, seguido pela orofaringe e hipofaringe. Na cavidade oral, a mucosa jugal e gengiva são

as áreas mais afetadas^{17,41,42}. A aparência clínica é de uma lesão tumoral nodular, exofítica, volumosa, de superfície papilar ou levemente verrucosa, sendo pediculada na maioria dos casos^{17,41,42}. O CV difere do CECPa por exibir uma proliferação epitelial altamente queratinizada com bordas largas e volumosas, de aparência citológica benigna, sem evidência de infiltração, em contrapartida, o CECPa mostra uma proliferação epitelial com padrão de crescimento arquitetural papilar ou exofítico dominante (>70%) e evidência citomorfológica inequívoca de malignidade. Dois padrões histológicos são levantados, primeiro, o padrão exofítico consiste em um crescimento de base ampla e bulboso do epitélio escamoso^{7,17,41-43}. A arquitetura epitelial consiste em formação de projeções arredondadas que lembram o aspecto de “couve-flor”. Já o padrão papilar consiste em múltiplas, finas e delicadas projeções papilares filiformes, semelhantes a dedos. As papilas contêm um delicado núcleo fibrovascular cercado pelo epitélio neoplásico, mitoses, perda de polaridade, aumento da relação núcleo-citoplasma, nucléolos proeminentes e pleomorfismo celular^{17,41-43}. Os marcadores de IQ para esse grupo de variantes ainda é escasso na literatura, apenas sabe-se que o p16 é fortemente positivo para CECPa localizados em orofaringe, bem como HPV positivos⁶.

O prognóstico do CECPa quando comparado com o CEC convencional, é melhor. O potencial metastático desse grupo é baixo⁶. As taxas de sobrevivência do CECPa de cabeça e pescoço foram relatadas até 90% em 2 anos e 72% em 5 anos. O CECPa no trato aerodigestivo superior associado ao HPV demonstrou ter um melhor prognóstico do que o CECPa não associado ao HPV^{6,43}.

3.5 Características clinicopatológicas do carcinoma espinocelular de células fusiformes (CECF)

No decorrer dos anos, muitos termos já foram aplicados a esta variante do CEC, incluindo: carcinossarcoma, pseudossarcoma, CEC com pseudossarcoma CEC sarcomatóide. Atualmente, o termo CECF é amplamente usado⁴⁴⁻⁴⁶. O CECF é uma neoplasia incomum, de comportamento agressivo, sendo classificado como um tumor bifásico, apresentando alteração no componente epitelial de superfície (displasia epitelial ou carcinoma invasivo) e uma proliferação fusocelular no estroma subjacente⁴⁴⁻⁴⁶. O CECF compreende de 1% a 3% de todos os casos de CECCP, havendo predileção acentuada pelo sexo masculino (11:1), em indivíduos com mais de 60 anos de idade⁴⁴⁻⁴⁶. Além dos fatores de risco já comentados do CEC

convencional, o CECF parece ter associação com radioterapia na região de cabeça e pescoço, sendo considerado um fator de risco distinto para esta variante. Os principais sítios de ocorrência são a via aerodigestiva superior, notavelmente laringe e hipofaringe; entretanto, na cavidade oral a ocorrência é rara, com a maioria dos casos sendo relatados em lábio inferior, língua e gengiva⁴⁴⁻⁴⁶.

Microscopicamente, o CECF é caracterizado pela presença de dois componentes morfológicos distintos, o carcinomatoso e o sarcomatóide ou proliferação de células fusiformes, com ambos os componentes de origem epitelial. Na superfície do espécime analisado, pode ser identificada a presença de ulceração e necrose fibrinóide. As áreas de diferenciação escamosa são frequentes na base da lesão ou dentro de invaginações na superfície onde o epitélio não está ulcerado. Os dois componentes, o carcinomatoso e o sarcomatóide irão se posicionar estreitamente, e as áreas onde eles se fusionam podem ser imperceptíveis^{7,17,44-46}. A porção da lesão com aspecto fusiforme, pode apresentar células com morfologia variando de achatadas, arredondadas ou ovais, com citoplasma e núcleos de tamanhos variados. Ainda assim, a porção sarcomatóide ou fusiforme pode ser organizada em uma variedade de aparências, imitando vários processos neoplásicos mesenquimais diferentes, incluindo fibromatose, leiomioma, fascíte nodular, fibrossarcoma, leiomiossarcoma, rabdomiossarcoma, tumor maligno da bainha do nervo periférico, sarcoma de Kaposi, angiossarcoma, sarcoma sinovial e melanoma^{7,17,44-46}. A distinção microscópica entre CECF e tumores mesenquimais malignos é difícil, ou mesmo impossível sem auxílio da imunoistoquímica⁴⁵. Os marcadores epiteliais mais úteis para o diagnóstico de CECF incluem pan-CK AE1/AE3, CK1, CK18 e EMA. As áreas escamosas são quase sempre positivas para pan-CK AE1/AE3, enquanto o componente fusiforme revela positividade em 40% a 85% dos casos. Caso haja a negatividade em alguns casos para pan-CK AE1/AE3, devem ser utilizados os marcadores EMA, p40 e p63. As células fusiformes apresentam positividade à vimentina e expressão variável para outros marcadores mesenquimais como AML, actina músculo-específica (HHF-35) e desmina, enquanto o componente carcinomatoso é negativo para esses marcadores^{7,17,44-46}. Existem poucos dados sobre a associação entre o CECF e o HPV, porém, estudo realizado recentemente evidenciou que o HPV16 (alto risco oncogênico) foi detectado em 3 de 10 (30%) casos de CECF localizados em orofaringe, mas em nenhum CECF não orofaríngeo⁴⁷.

Em uma revisão de literatura, em relação às modalidades de tratamento para o CECF, o tratamento inicial mais utilizado é a combinação de cirurgia e radioterapia, o qual apresentou melhor resultado a longo prazo, em comparação aos pacientes com cirurgia isolada, os quais frequentemente apresentaram recorrência. Neste último grupo, o tempo de recorrência variou de 2 meses a 11 anos^{17,44-46}.

3.6 Características clinicopatológicas do carcinoma linfoepitelial (CL)

O CL é um subtipo distinto de CEC pouco diferenciado. O carcinoma indiferenciado de nasofaringe, que frequentemente mostra associação com infecção pelo vírus Epstein-Barr (VEB), representa os típicos aspectos morfológicos do CL^{7,17,48-50}. Para o CL da região de cabeça e pescoço, estudos mostram que o VEB pode ser detectado em 87,5% dos casos. Além disso, estudos avaliando a presença de infecção pelo HPV, revelaram um subgrupo de CL HPV-positivo, frequentemente afetando orofaringe, que é microscopicamente indistinguível do CL VEB-positivo. Esta variante (CL HPV-positivo) foi associada a um resultado clínico altamente favorável. Para CLs que se apresentam como metástases em linfonodos cervicais, o teste molecular para identificação do HPV e VEB é obrigatório^{7,17,48-51}. O CL é comumente diagnosticado em pacientes do gênero masculino, entre 40 e 70 anos. Na cavidade oral, o palato, soalho, região retromolar e mucosa jugal são os sítios acometidos^{7,17,48-51}. O CL em cavidade nasal é mais comum que em seios paranasais, e os pacientes apresentam obstrução nasal, secreção nasal e/ou epistaxe⁶.

Histologicamente, consiste em células epiteliais atípicas que apresentam citoplasma pálido, núcleos vesiculares e nucléolos proeminentes. Suportadas por um estroma proeminente, as células tumorais são circundadas por um extenso número de linfócitos e plasmócitos. O CL mostra forte positividade para pan-CK AE1/AE3 no componente epitelial e CD45 no infiltrado inflamatório localizado no estroma. Além disso, observa-se positividade para EMA, p63, p53 e CD138, destacando as células malignas, enquanto EMA e CD138 também evidenciam o infiltrado plasmocitário. A expressão de CD138 parece correlacionar-se significativamente com o grau de diferenciação histológica, exibindo imunomarcação fraca e irregular em neoplasias pouco diferenciadas⁴⁸⁻⁵¹. O tratamento do CL consiste em cirurgia, podendo estar associada com radioterapia e/ou quimioterapia. Embora a disseminação local ou

metástases nodais não sejam incomuns no momento do diagnóstico, a taxa de sobrevida específica da doença é de 50% em 5 anos^{7,17,48-51}.

3.7 Características clinicopatológicas do cacinoma cuniculado (CC)

O CC é uma entidade rara, com incidência <1% quando comparada com outras variantes do CEC. Na cavidade oral, os sítios de maior acometimento são a gengiva (mais comumente na mandíbula) e língua. São lesões consideradas localmente agressivas, com tendência a invadir estruturas próximas da área inicial, especialmente o osso subjacente^{7,20,52-56}. Os achados histopatológicos do CC se assemelham a estruturas denominadas de “tocas de coelhos”, que são conhecidas como *cuniculus* em latim, daí seu nome. Representa um desafio diagnóstico para os patologistas devido à sua semelhança histológica com cistos e abscessos. Essa dificuldade, e armadilhas diagnósticas nas biópsias iniciais, foi demonstrada por meio de uma ampla revisão sistemática realizada em 2018, a qual mostrou que todos os casos, dos 43 casos relatados de CC apresentaram laudos incorretos no momento do diagnóstico⁵⁶. Os pacientes com CC apresentam uma ampla faixa etária, variando de 7 a 92 anos, sendo mais comum na sexta década de vida, com predileção pelo sexo feminino^{7,20,52-56}.

Por meio da microscopia, o CC demonstra semelhança histológica com o CV. Especificamente, CC e CV compartilham características semelhantes, incluindo falta de pleomorfismo, falta de mitoses atípicas, e razão núcleo-citoplasma alterada. No entanto, o critério mais relevante para sua distinção é o padrão de crescimento de ambas as neoplasias, onde o CC é endofítico e o CV é predominantemente exofítico^{20,52-56}.

Em pacientes submetidos a tratamento cirúrgico adequado, o prognóstico do CC é geralmente favorável. Em um estudo, 78% dos pacientes permaneceram livres da doença após terapia cirúrgica adequada, enquanto 10% apresentaram recidiva local e 3% faleceram da doença. Quando há recorrência, o local de maior acometimento é o tecido ósseo. O papel da quimioterapia e radioterapia no tratamento do CC ainda permanece controverso^{20,52-56}.

3.8 Características clinicopatológicas do carcinoma espinocelular acantolítico (CECAc)

O CECAc foi descrito inicialmente em 1947, e ao longo do tempo tem sido previamente denominado de CEC pseudoglandular, CEC com características glandulares, CEC com características de angiossarcoma, e CEC adenóide pseudovascular. O CECAc é predominantemente diagnosticado em homens adultos/idosos, com idade média de 55,3 anos (variando de 41 a 75 anos)^{7,57-61}. A maioria dos casos relatados afetaram pele, principalmente em regiões frequentemente expostas ao sol. Relatos envolvendo a mucosa aerodigestiva superior, incluindo lábio, cavidade oral, nasofaringe e laringe também foram relatadas previamente^{7,57-61}.

A histopatologia do CECAc revela a presença de ninhos de células epiteliais malignas apresentando acantólise na porção central das ilhas remetendo a uma aparência pseudoglandular ou pseudoluminal. Esse padrão resulta da perda da junção de células escamosas situadas em direção ao centro dos lóbulos tumorais. Esta acantólise pode ocorrer devido à perda de proteínas de adesão (desmossômicas), levando a uma adesão celular deficiente. As células acantolíticas podem apresentar um grau de alterações morfológicas acentuadas^{7,57-61}. O diagnóstico diferencial do CECAc inclui carcinoma adenoescamo, carcinoma adenóide cístico e carcinoma mucoepidermóide, bem como adenocarcinoma metastático e angiossarcoma⁵⁷⁻⁶¹. Marcadores úteis para diferenciação tumoral incluem citoqueratinas, com o perfil CK7+/CK20– favorecendo neoplasia de glândula salivar, e marcadores vasculares (CD31, CD34, FVIII-ag, FLI-1, ERG) podem diferenciar de angiossarcomas⁵⁹.

Comparado ao CEC convencional, o CECAc tem pior prognóstico, com propensão aumentada para metástase e recorrência local. Relevantemente, o CECAc cutâneo tem melhor prognóstico quando comparado com CECAc intraoral ou outra estrutura do trato aereodigestivo^{58,59}.

3.9 Variantes incomuns do carcinoma espinocelular da região de cabeça e pescoço

O CEC, variante de células claras (CECCC) é um tumor incomum, descrito pela primeira vez em 1980,⁶² como um tumor cutâneo. Até a presente data, há apenas 9 casos de CECCC relatados em cavidade oral. Embora a OMS (2022) ainda não tenha considerado o CECCC na lista de variantes do CECCP, vários estudos suportam a sua inclusão, devido a sua peculiaridade morfológica e comportamento biológico⁶²⁻⁶⁴.

Diferentes autores têm sugerido que “alterações de células claras” podem ser um processo progressivo observado em casos avançados de CEC, o que pode explicar sua natureza agressiva, metástase precoce, e pobre prognóstico⁶⁴. O aspecto de células claras pode ser devido ao acúmulo intracelular de água, glicogênio, mucina, lipídios, bem como tonofilamentos e grânulos citoplasmáticos imaturos⁶³. O diagnóstico diferencial inclui tumores de células claras de glândulas salivares (carcinoma epitelial-mioepitelial, carcinoma mioepitelial, carcinoma de células acinares, carcinoma mucoepidermóide e carcinoma de células claras), tumores odontogênicos (carcinoma odontogênico de células claras, tumor de Pindborg, ameloblastoma) e tumores metastáticos (mama, rim, tireoide, próstata)⁶²⁻⁶⁴.

No CECCC, a análise histoquímica pode ser de grande valor na elucidação do conteúdo citoplasmático. Alguns casos de CECC revelam conteúdo de glicogênio, por meio da coloração de PAS com e sem diástase, enquanto a maioria dos casos é negativa para PAS, azul de Alcian e mucicarmim⁶²⁻⁶⁴. Devido sua raridade e poucos casos relatados na literatura, ainda não está claramente estabelecido o comportamento biológico do CECCC oral; no entanto, alguns casos mostraram curso clínico agressivo.

Os carcinomas neuroendócrinos (CN) em região de cabeça e pescoço são considerados neoplasias raras, e apresentam predileção em laringe e seios paranasais. Os CN podem ser classificados em bem diferenciados (tumor carcinoide), moderadamente diferenciados (carcinoide atípico) e pobremente diferenciados (células pequenas ou grandes). Microscopicamente, o CN apresenta ninhos ou camadas de células epitelíoides com núcleos redondos ou ovais, com frequente paliçada periférica, cromatina pontilhada, nucléolos ocasionais e hipercromasia variável. Destes achados, a presença de núcleo com cromatina apresentando grânulos dispersos, denominado também de “sal e pimenta”, é relevante^{65,66}. Esse grupo de tumores expressa positividade para pan-citoqueratina AE1/AE3, CAM5.2, cromogranina A, sinaptofisina e somatostatina. Não incomumente, podem ser vistos associados com outros tipos de carcinoma. Além disso, diferenciação neuroendócrina foi relatada no CEC de pulmão e esôfago, bem como em CEC de laringe e lesões precursoras epiteliais^{65,66}. No entanto, ainda é pouco conhecido o potencial biológico da expressão de marcadores neuroendócrinos no CEC convencional com diferenciação neuroendócrina (CDN)^{65,66}. Um estudo recente com 214 casos de CECCP convencional que teve como objetivo avaliar a expressão de marcadores

neuroendócrinos mostrou que <1% desses casos expressaram CD56, cromogranina A e sinaptofisina⁶⁷.

O CEC pigmentado (CECpig) é outra variante rara do CECCP que afeta preferencialmente a pele. Sua incidência varia de 0,01% a 7%, dependendo da metodologia do estudo realizado⁶⁸⁻⁷⁰. Clinicamente, essas lesões se manifestam por meio de pápulas, nódulos ou placas pigmentadas. O diagnóstico diferencial pode incluir carcinoma de células basais pigmentado, ceratose seborréica, e ceratose actínica, nevo melanocítico e melanoma. Os achados microscópicos do CECpig incluem a presença de queratinócitos atípicos, depósitos de melanina nas células epiteliais tumorais e alguns casos podem evidenciar a presença de melanócitos com morfologia dendrítica, sendo este um achado peculiar⁶⁸⁻⁷⁰. O CECpig é extremamente raro afetando superfícies mucosas, e na cavidade oral, até o momento foram relatados apenas 16 casos de CECpig⁷⁰.

4 MATERIAL E MÉTODO

Este estudo foi realizado no Laboratório de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP/USP) e nos Laboratórios de Microscopia, Histopatologia e Imunopatologia e Análise Genética, Serviço de Patologia Oral, da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FORP/USP). Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HC-FMRP/USP (CAAE: 40393820.7.0000.5440).

4.1 Seleção da amostra

Foram avaliados 1.415 casos de CECCP, pertencentes ao Arquivo do Serviço de Patologia (SERPAT) do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto (HC-FMRP/USP), Serviço de Patologia Oral, da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto (FORP/USP), Serviço de Histopatologia Bucal do Instituto de Ciência e Tecnologia – Câmpus de São José dos Campos (ICT/Unesp), Serviço de Histopatologia Bucal da Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), Serviço de Histopatologia Bucal da Universidade Três Corações (UninCor) e Serviço de Histopatologia Bucal da Universidade Federal do Vale do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), os quais foram avaliados no período de 2011 a 2021. Foi realizado um estudo retrospectivo, cujos dados epidemiológicos foram obtidos dos prontuários médicos e odontológicos.

A classificação histopatológica dos casos atuais foi estabelecida de acordo com os critérios propostos pela Organização Mundial da Saúde (OMS, 2017 e 2022).^{6, 9, 22} Os critérios de inclusão foram: casos que apresentavam informações clínicas completas, material disponível em blocos de parafina para confirmação histopatológica por coloração de hematoxilina e eosina (H&E), bem como para análise histoquímica, imunoistoquímica (IQ) e hibridização *in situ* (HIS). Foi excluído do presente estudo qualquer caso com falta de informação clínica, história prévia de radioterapia e/ou quimioterapia ou qualquer outro tratamento antes do procedimento cirúrgico.

4.2 Técnica de histoquímica

Após análise histomorfológica em lâminas de H&E, algumas variantes de CECCP também foram avaliadas por meio de colorações especiais, incluindo ácido periódico-Schiff (PAS), com ou sem diastase, mucicarmim de Mayer, azul de Alcian e Fontana-Masson.

4.3 Técnica de imunoistoquímica (IQ)

Todos os casos de variantes do CECCP foram submetidos à técnica de IQ seguindo um amplo painel de marcadores (**Tabela 01**), para auxiliar na caracterização fenotípica em cada caso.

Foram obtidos cortes de 3- μ m de espessura de cada caso, colocados em lâminas devidamente revestidas com organossilano (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, EUA). As lâminas foram submetidas à técnica de IQ pelo método estreptavidina-biotina-peroxidase (K0690; Universal, Dako LSAB®+ Kit, Peroxidase, Carpinteria, CA, EUA) para avaliação de anticorpos primários individuais, conforme protocolo do fabricante. As amostras de controle negativo incluíram a substituição do anticorpo primário por tampão fosfato-salino (PBS). Os protocolos seguiram metodologia publicada previamente por nosso grupo^{2,16}.

Tabela 01 - Imunomarcadores utilizados no presente estudo

ANTICORPO	CLONE	DILUIÇÃO	FORNECEDOR
Pan-CK	AE1/AE3	1:800	DakoCytomation,Glostrup, Denmark
EMA	E29	1:1000	DakoCytomation,Glostrup, Denmark
CD138	MI15	1:500	DakoCytomation,Glostrup, Denmark
p40 (deltaNp63)	Polyclonal	1:500	Abcam, Cambridge, MA, USA.
p63	DAK-p63	1:500	DakoCytomation,Glostrup, Denmark
Vimentina	Vim 3B4	1:1000	DakoCytomation,Glostrup, Denmark
CK7	OV-TL 12/30	1:1000	DakoCytomation,Glostrup, Denmark
CAM 5.2	Catalog No. 349205	1:500	BD Biosciences, CA, USA.
CK 8/18	EP17/EP30	1:1000	DakoCytomation,Glostrup, Denmark
CK alto peso molecular	34βE12	1:200	Abcam, Cambridge, MA, USA.
Actina músculo liso	1A4	1:1000	Leica Leica Biosystems Newcastle, UK.
p16 ^{INK4a}	EPR1473	1:2000	Abcam, Cambridge, MA, USA.
S100	Polyclonal	1:3000	Leica Leica Biosystems Newcastle, UK.
HMB-45	HMB45	1:500	DakoCytomation,Glostrup, Denmark
CD34	QBEnd/10	1:500	Leica Biosystems Newcastle, UK.
D2-40	M3619	1:500	DakoCytomation,Glostrup, Denmark
CD56	CD564	1:100	Leica Biosystems Newcastle, UK.
CD57	TB01	1:600	DakoCytomation,Glostrup, Denmark
Cromogranina	Polyclonal	1:1000	Abcam, Cambridge, MA, USA.
Sinaptofisina	YE269	1:1000	Abcam, Cambridge, MA, USA.
CD99	12E7	1:100	DakoCytomation,Glostrup, Denmark.
HPV	K1H8	1:500	DakoCytomation,Glostrup, Denmark.
Ciclina D1	P2D11F11	1:100	Leica Biosystems Newcastle, UK.
Ki-67	SP6	1:500	Abcam, Cambridge, MA, USA.

Fonte: Elaboração própria.

4.3 Técnica de hibridização *in situ* (HIS)

As variantes de CECCP também foram avaliadas por HIS. A análise da região não codificadora do vírus Epstein–Barr (EBER) HIS, foi realizada com sondas EBER1/2 PNA conjugadas com isotiocianato de fluoresceína (FITC) (DAKO, código Y5200). A amplificação do sinal foi desenvolvida com anticorpo conjugado com

fosfatase alcalina (AP) anti-FITC, seguido da aplicação dos substratos cromogênicos (cloreto de tetrazólio de 4-nitroazul [NBT]/fosfato de 5-bromo-4-cloro-3-indolil [BCIP] combinado com levamisol [um potente inibidor de fosfatases endógenas]) (DAKO, código K5201). A detecção de DNA/HPV in situ foi realizada com sondas biotiniladas Y1404 Wide Spectrum, Y1411 HPV tipos 6/11 DNA Probe Mix e Y1443 GenPoint HPV, sequências de direcionamento de sonda de DNA biotinilada de genótipos de HPV de “alto risco” 16, 18 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 e 68. A amplificação do sinal foi desenvolvida com K620 (GenPoint, Dako, Carpinteria, CA, EUA). Para análise de EBER e HPV por HIS, foi seguida metodologia publicada previamente por nosso grupo^{2, 16}.

4.4 Análise microscópica

Nessa etapa, foram analisados todos os casos e classificados segundo a OMS (2017; 2022). A análise das lâminas em H&E, histoquímica, IQ e HIS foi realizada através do microscópio óptico (Leica DM500) e as capturas das imagens foram realizadas de uma câmera de alta resolução (Leica IC50).

5 RESULTADO

Todos os dados clinicopatológicos das variantes de CECCP estão sumarizados na **Tabela 02 (APÊNDICE A)**. No total foram identificados 67 casos (4,7%) correspondentes a variantes histopatológicas do CECCP, após analisar um total de 1.415 CECCP. A variante mais comum foi o CV (n=21 casos), seguido do CECB (n=13 casos), CECF (n=08 casos), CAd (n=06 casos), CECCC (n=04 casos), CC (n=04 casos), CL (n=03 casos), CECPa (n=02 casos), CECAC (n=02 casos), CEPig (n=02 casos), carcinoma com fenótipo rabdoide (n=01 caso), CDN (n=01 caso).

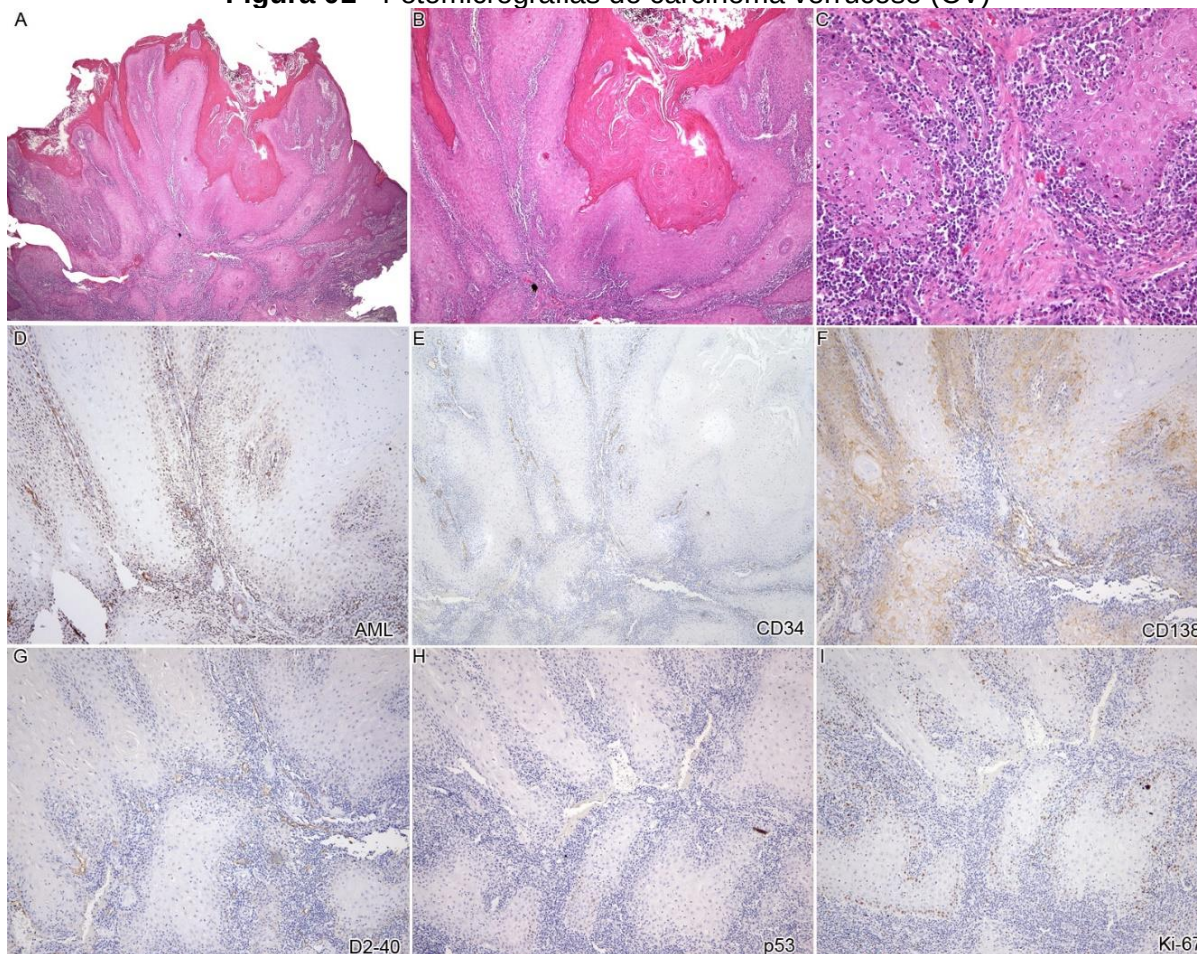
5.1 Características clinicopatológicas do carcinoma verrucoso (CV)

Dos 21 casos diagnosticados como CV, 12 casos afetaram homens e 09 afetaram mulheres, com a idade variando entre 46 e 96 anos (média, 68 anos). Em relação à localização, 5 casos afetaram a língua, seguido de 4 casos em rebordo alveolar, 3 em mucosa jugal, 2 em soalho, 2 em lábio inferior, 1 em comissura labial, 1 em gengiva, 1 em região retromolar, 1 caso intraósseo (mandíbula), 1 caso em orofaringe (palato mole). Dos dados disponíveis nos prontuários, 3 casos eram fumantes, 2 não fumantes e os outros não foram relatados. Cinco casos confirmaram consumo de bebida alcoólica e 16 não relataram esse hábito. Em relação ao diagnóstico clínico realizado antes da biópsia, foram considerados leucoplasia oral, LVP, hiperkeratose, candidíase hiperplásica, paracoccidiodomicose, CV e CEC (convencional). Ao exame microscópico, todos os casos se apresentaram com uma neoplasia bem diferenciada, com projeções epiteliais alongadas, e amplas áreas contendo grande quantidade de parakeratina na porção superior do epitélio, bem como preenchendo as lacunas formadas pelas projeções epiteliais, bem como ausência de mitoses atípicas. Nenhum caso mostrou associação com CEC convencional, nem infiltração evidente das estruturas anatômicas vizinhas. Infiltrado inflamatório predominantemente crônico, em grau moderado a intenso, foi encontrado em poucos casos (**Figura 01**).

Todos os casos foram positivos para pan-CK AE1/AE3, CK34βE12, EMA, CD138, p63, p40, e focalmente para CK8/18. Vimentina e AML foram negativos no tumor e positivos no estroma tumoral. O marcador p53 demonstrou positividade em metade dos casos. S100 mostrou positividade apenas para células dendríticas (células de Langerhans), principalmente permeando as células malignas. Em relação

à infecção viral associada, todos os casos foram negativos para o marcador p16, HPV (IQ), HPV (HIS) e EBER1/2 (HIS). A média do índice de proliferação celular medido pelo Ki-67 foi de 15%. A caracterização do estroma vascular tumoral revelou positividade para CD34 em distribuição difusa, já escassos vasos linfáticos peritumorais foram ressaltados por D2-40 (**Figura 01**).

Figura 01 - Fotomicrografias do carcinoma verrucoso (CV)



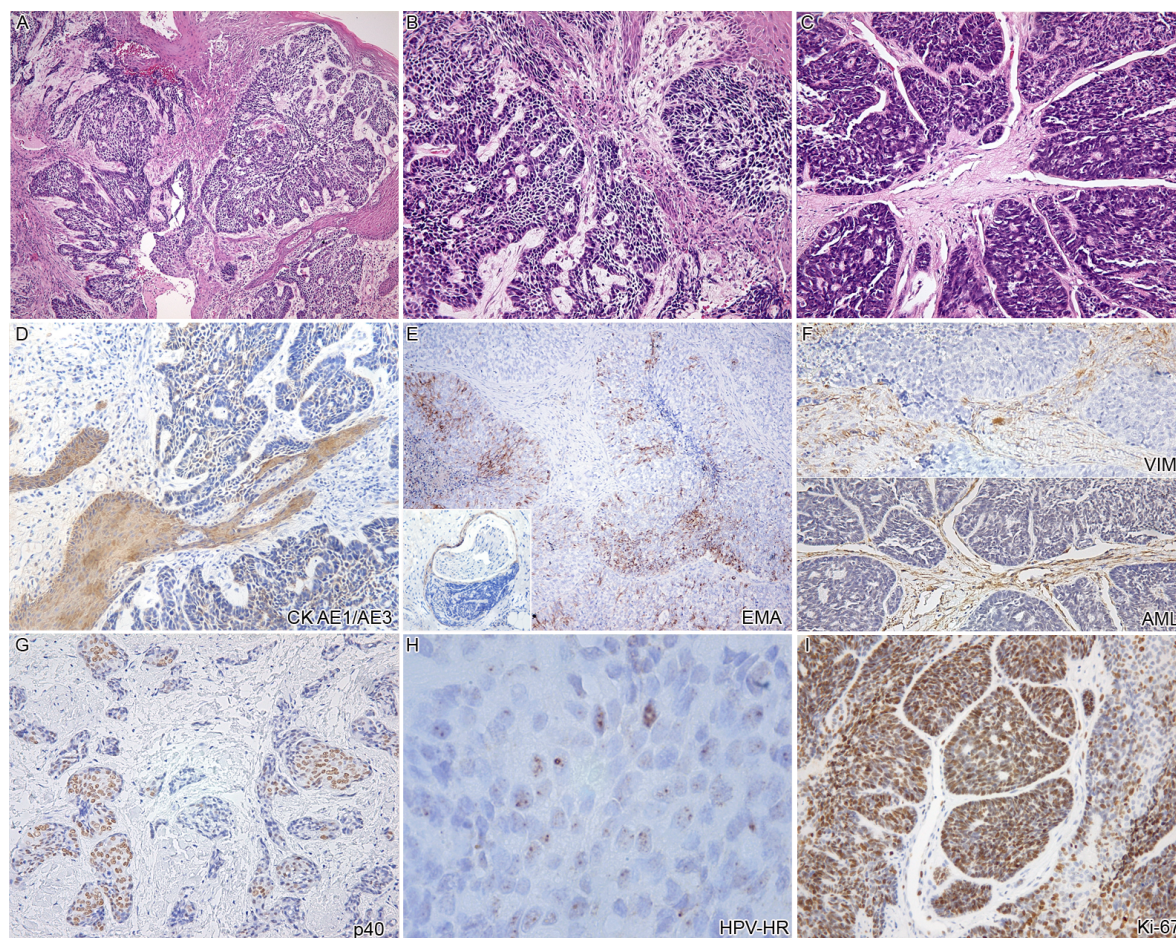
Visão panorâmica da lesão, mostrando projeção epitelial exofítica e presença de hiperparaceratose preenchendo essas projeções (A, H&E, 10x). Em maior aumento, denota-se um epitélio bem diferenciado com ausência de pleomorfismo celular e atipias (B, H&E, 20x). Na figura C (H&E, 40x) nota-se a presença de um infiltrado inflamatório crônico no estroma tumoral. A imunomarcação de AML demonstra positividade nas paredes dos vasos sanguíneos e miofibroblastos no estroma tumoral (D, IQ, 20x). CD34 evidência positividade apenas em vasos sanguíneos (E, IQ, 20x). Positividade para CD138 nas células no epitélio neoplásico (F, IQ, 20x). Escassos vasos linfáticos D2-40+ localizados no estroma tumoral (G, IQ, 20x). Negatividade para o marcador p53 (H, IQ, 20x). O índice de proliferação celular, através do Ki-67, foi 15% (I, IQ, 20x).

Fonte: Arquivo pessoal do autor.

5.2 Características clinicopatológicas do carcinoma espinocelular basalóide (CECB)

Dos 13 casos diagnosticados como CECB, 10 casos afetaram homens e 03 casos afetaram mulheres. O intervalo da idade variou de 38 a 90 anos (média, 60 anos). Em relação à localização, 4 casos afetaram a língua, seguido de 3 casos em rebordo alveolar, 1 caso em região retromolar, 1 caso intraósseo (maxila), 1 caso em palato duro, 2 casos em orofaringe (1 caso em palato mole e 1 caso em tonsila palatina), e 1 caso em laringe (epiglote). Dos dados disponíveis nos prontuários, 5 casos eram fumantes, 2 não fumantes e os outros não foram relatados. Dois casos relataram consumo de álcool, 4 casos negaram e 7 não relataram esse hábito. Em relação ao diagnóstico clínico realizado antes da biópsia, todos os casos consideraram CEC convencional. Ao exame microscópico, os casos apresentaram um padrão de crescimento ora lobular ora sólido, o componente predominante era basalóide, alguns casos exibiram a presença de necrose do tipo comedo, estroma fibrocelular, com pouca presença de infiltrado inflamatório. As células epiteliais malignas apresentavam hipercromatismo acentuado e citoplasma escasso. Um componente escamoso geralmente estava em íntimo contato com o componente basaloide, também alguns casos mostraram displasia epitelial severa e focos de CEC convencional (**Figura 02**).

Todos os casos foram positivos para pan-citoqueratina AE1/AE3 e CK34 β E12, com graus de intensidades diferentes, onde o componente escamoso convencional apresentava um grau de marcação intenso e o componente basaloide com grau moderado a fraco. Além disso, EMA, CD138, p40 e p63 foram positivos no tecido tumoral, enquanto vimentina e AML foram negativos no tumor e positivos no estroma tumoral. O marcador p53 demonstrou positividade em metade dos casos. S100 foi focalmente positivo em poucos casos, e variavelmente ressaltavam células de Langerhans. Em relação à infecção viral associada, 2 casos foram positivos para p16, sendo um desses casos também positivo para HPV (amplo espectro e alto risco, por HIS). Todos os casos foram negativos para HPV (IQ), HPV (baixo risco) e EBER1/2 (HIS). O índice de proliferação celular medido pelo Ki-67 variou entre 20% e 75%. Foi realizada também a caracterização do estroma vascular tumoral, e os imunomarcadores usados (CD34 para vasos sanguíneos e D2-40 para vasos linfáticos) foram negativos no tumor (**Figura 02**).

Figura 02 - Fotomicrografia do carcinoma espinocelular basalóide (CECB)

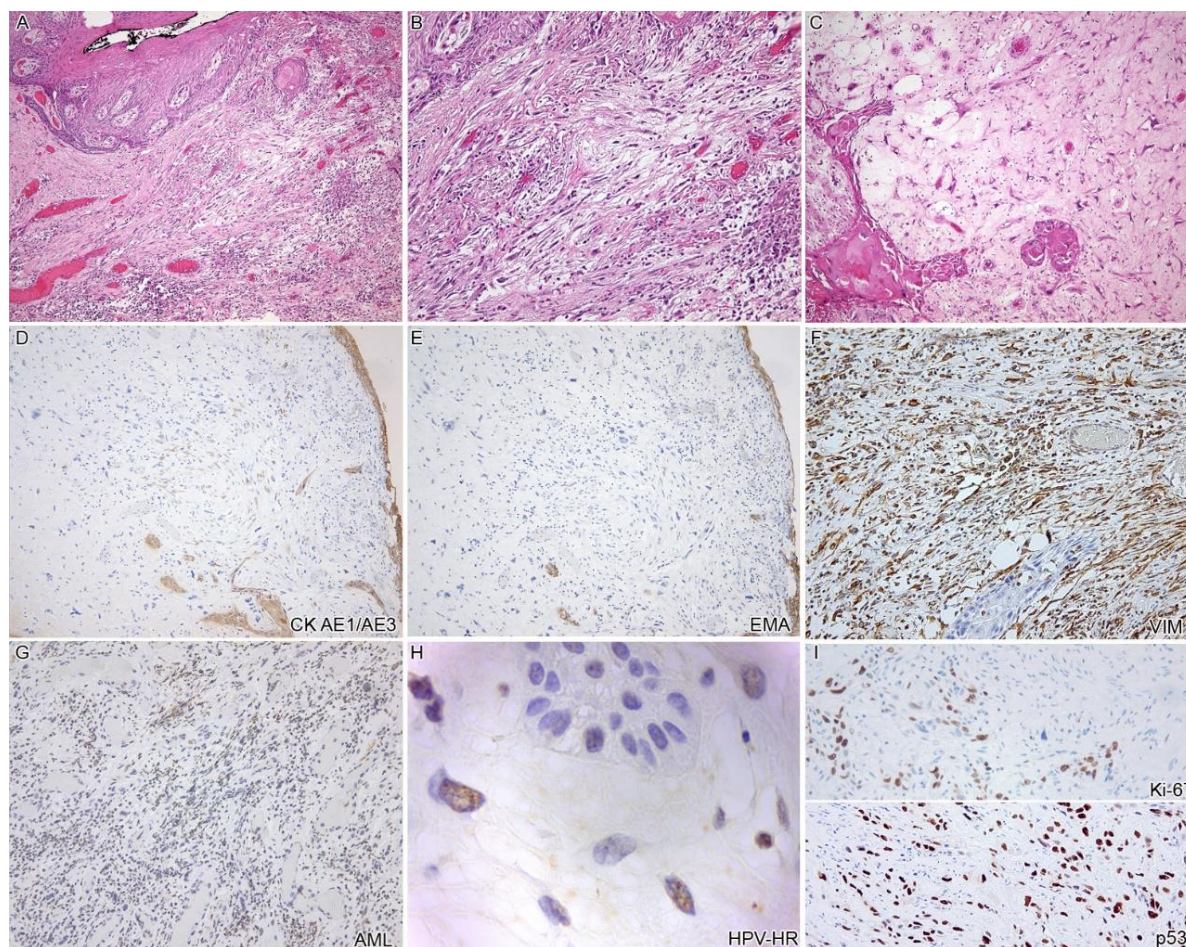
Visão panorâmica do CECB mostrando dois componentes, um componente escamoso displásico envolvendo um componente basalóide (A, H&E, 10x). Em maior aumento, denota-se a franca transição e o componente basalóide apresentando um grau acentuado de hiperchromatismo nuclear e escasso citoplasma (B, H&E, 20x). Na figura C (H&E, 40x) nota-se a um escasso estroma hialino lóbulos tumorais e ausência de células inflamatórias. Interessantemente, a pan-citoqueratina AE1/AE3 evidencia uma marcação mais intensa no componente escamoso, enquanto se torna mais fraca no componente basalóide (D, IQ, 20x). O marcador EMA evidencia positividade focal nas células do componente basalóide e escassos plasmócitos; o *inset* demonstra infiltração perineural, com positividade para EMA nas células perineuriais (E, IQ, 20x; inset, 40x). Vimentina e AML são negativos nas células neoplásicas e positivos no estroma tumoral, sugerindo diferenciação miofibroblástica (F, IQ, 20x). Positividade para p40 no componente basalóide (G, IQ, 20x). Positividade para HPV por HIS (alto risco oncogênico) demonstrando padrão integrado (H, 40x). A avaliação do índice de proliferação celular, através do Ki-67, neste caso foi 60% (I, IQ, 20x).

Fonte: Arquivo pessoal do autor.

5.3 Características clinicopatológicas do carcinoma espinocelular de células fusiformes (CECF)

Dos 8 casos diagnosticados como CECF, todos afetaram homens, com idade variando entre 39 e 83 anos (média, 62 anos). Com relação à localização, 3 casos afetaram a língua, seguido de 2 casos em região retromolar, 1 soalho, 1 caso em orofaringe (palato mole), e 1 caso em laringe (pregas vocais). Dos dados obtidos através dos prontuários, 3 casos eram fumantes, 2 não fumantes e os outros casos não foram relatados. Dois casos relataram o consumo de álcool, 2 casos negaram consumir qualquer tipo de bebida alcoólica, já 4 casos não relataram esse hábito. Em relação ao diagnóstico clínico realizado antes da biópsia, 7 casos consideraram CEC convencional, já um único caso considerou leiomiossarcoma. Ao exame microscópico, os casos apresentaram ora componentes de CEC convencional ora componentes fusocelulares, com este último sugerindo neoplasia de origem mesenquimal. O padrão de crescimento celular era variado, incluindo fascicular, mixoide, estoriforme, e um caso sugerindo tecido de granulação. O componente fusocelular demonstrava células atípicas, de formato ora alongado/estrelado ora epitelióide (**Figura 03**).

Em todos os casos, o componente escamoso foi positivo para pan-citoqueratina AE1/AE3 e CK34 β E12, com o componente fusocelular apresentando marcação de intensidade fraca a negativa). A expressão de EMA, CD138, p63, p40 e CK8/18 foi variável; no entanto, a combinação destes marcadores permitia evidenciar a origem epitelial no tumor. Vimentina foi positiva no componente fusocelular, enquanto AML foi positiva em poucos casos de CECF. O estroma tumoral foi positivo para vimentina e AML. O marcador p53 demonstrou positividade em 6 casos. S100 foi negativo. Em relação à infecção viral associada, todos os casos foram negativos p16. Relevantemente, um caso foi positivo para HPV (amplo espectro e alto risco, por HIS). Todos os casos foram negativos para HPV (IQ), HPV (baixo risco) e EBER1/2 (HIS). O índice de proliferação celular medido pelo Ki-67 variou entre 15% e 60% (**Figura 03**). CD34 e D2-40 somente ressaltaram vasos sanguíneos e linfáticos, respectivamente (**Figura 03**).

Figura 03 - Fotomicrografias do carcinoma espinocelular fusiforme (CECF)

Visão panorâmica do tumor mostrando dois componentes, primeiro um componente escamoso na superfície e um componente fusocelular adjacente (A, H&E, 10x). Em maior aumento, o componente fusocelular em íntimo contato com o epitélio de superfície atípico (B, H&E, 20x). Na figura C (H&E, 40x), nota-se a transição abrupta do componente escamoso e fusocelular. Interessantemente, a pan-citoqueratina AE1/AE3 evidenciou uma marcação mais intensa no componente escamoso, com uma expressão fraca e/ou negativa no componente fusocelular (D, IQ, 20x). O marcador EMA evidencia positividade apenas nas células escamosas (E, IQ, 20x). Vimentina com imunopositividade no estroma e componente fusocelular (F, IQ, 20x). Positividade focal para AML no componente fusiforme e estroma tumoral (vasos sanguíneos) (G, IQ, 20x). Positividade para HPV por HIS (alto risco oncogênico) em um caso de CECF (H, 40x). A avaliação do índice de proliferação celular, através do Ki-67, neste caso foi 15% (I, IQ, 20x] e para p53 foi de 40% (I, IQ, 20x).

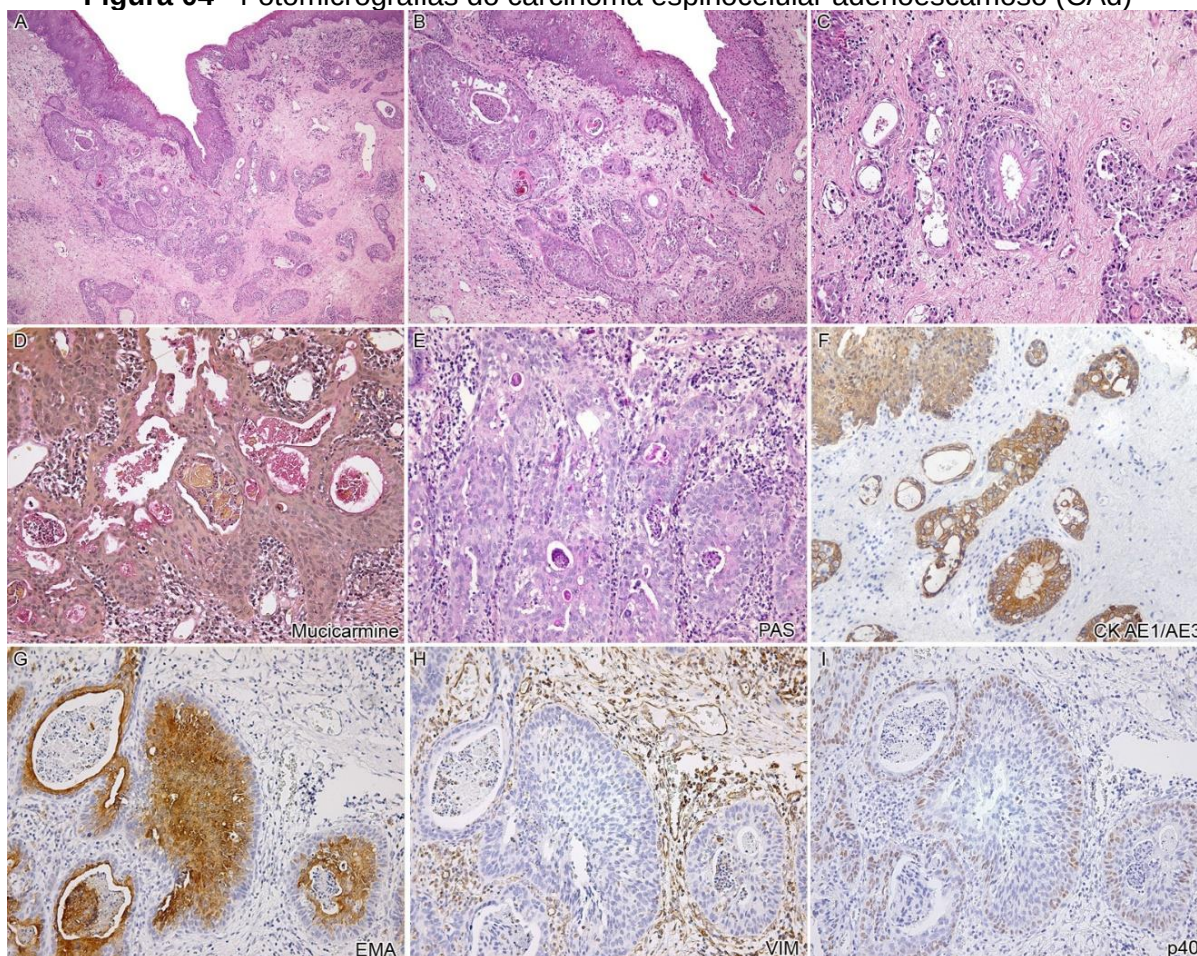
Fonte: Arquivo pessoal do autor.

5.4 Características clinicopatológicas do carcinoma adenoescamoso (CAd)

Dos 6 casos diagnosticados como CAd, 5 casos afetaram homens com 1 caso afetando mulher, e idade variando entre 39 e 76 anos (média, 57 anos). Com relação à localização, 2 casos afetaram o palato duro, 2 casos orofaringe (ambos em palato mole), 1 caso em soalho, e 1 caso em rebordo alveolar. Dos dados obtidos através dos prontuários, 5 casos eram fumantes e 1 caso não foi informado. Três casos relataram consumo de álcool, dois casos negaram consumir qualquer tipo de bebida alcoólica e 1 caso não obteve informação sobre o uso. Em relação ao diagnóstico clínico, todos os casos consideraram o CEC convencional. A histopatologia demonstrou em todos os casos um componente escamoso de superfície e um componente glandular. Nesses casos, o que auxiliou o diagnóstico foi o íntimo contato do componente semelhante com adenocarcinoma com o epitélio escamoso de superfície o mesmo que se apresentava displásico ou em associação com CEC convencional. A presença de pleomorfismo celular e mitoses (típicas e atípicas) foram observadas em ambos os componentes, já ceratinização foi mais evidente no componente escamoso. O componente glandular apresentava um padrão de crescimento que configurava a projeção de estruturas ductais no interior das ilhas tumorais (**Figura 04**).

Em todos os casos, ambos os componentes foram positivos para pan-citoqueratina AE1/AE3 (padrão de marcação intenso). EMA e CK8/18 destacaram o componente glandular, já CD138, p40 e p63 evidenciaram o componente escamoso. Vimentina e AML foram negativos no tumor e positivos no estroma tumoral. O marcador p53 demonstrou positividade em 2 casos. Em relação à infecção viral associada, todos os casos foram negativos para p16, HPV (IQ e HIS) e EBER1/2 (HIS). A média do índice de proliferação celular medido pelo Ki-67 foi 30%. A caracterização do estroma vascular, revelou positividade para CD34 e D2-40m nos vasos sanguíneos e linfáticos, respectivamente. PAS, mucicarmin e azil de Alcian evidenciaram mucina intracitoplasmática e intraductal, no componente glandular. Vale ressaltar a importância do p40 e p63 nestes casos, onde a positividade se limitou apenas no componente escamoso, poupando o componente glandular luminal (**Figura 04**).

Figura 04 - Fotomicrografias do carcinoma espinocelular adenoescamoso (CAd)



Visão panorâmica mostrando dois componentes, um componente escamoso na superfície e um componente glandular nas partes mais profundas (A, H&E, 10x). Em maior aumento, mostrando disqueratose e pleomorfismo celular em ambos os componentes de franca transição (B, 20x). Na figura C (H&E, 40x), maior detalhe das estruturas glandulares ductais. Por histoquímica, mucicarmin (D, 20x) e PAS com diastase (E, x20) demonstrando positividade para mucina no interior de células e estruturas ductais tumorais. A pan-citoqueratina AE1/AE3 evidenciou uma marcação intensa em ambos os componentes (F, IQ, 20x). O marcador EMA evidenciou positividade no componente glandular luminal e focalmente no componente escamoso (G, IQ, 20x). Vimentina mostrando imunopositividade no estroma tumoral (H, IQ, 20x). Relevantemente, p40 foi positivo nas células basais e parabasais das ilhas tumorais, poupando o componente glandular luminal (I, IQ, 20x).

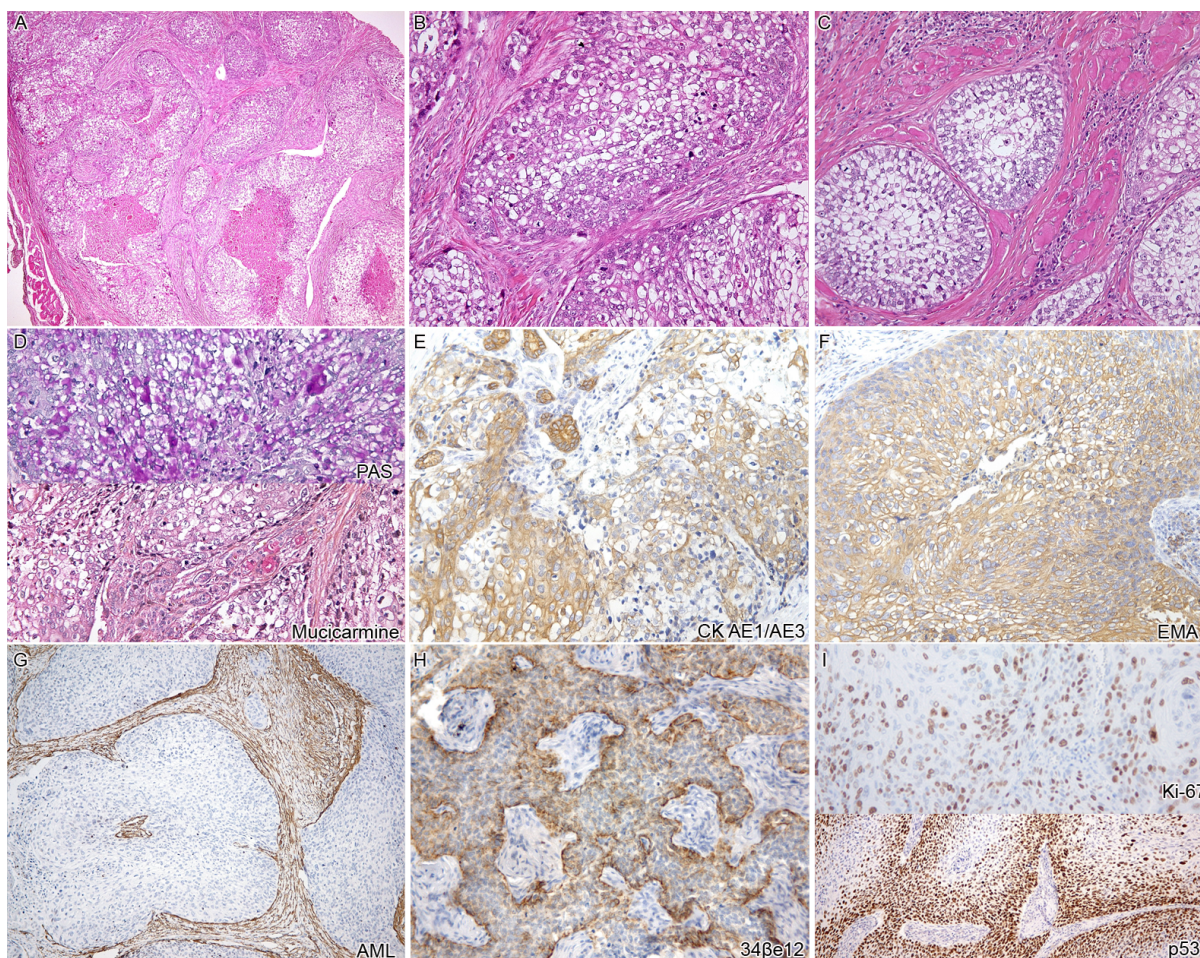
Fonte: Arquivo pessoal do autor.

5.5 Características clinicopatológicas do carcinoma espinocelular de células claras (CECCC)

Dos 4 casos diagnosticados como CECCC, todos afetaram homens, com a idade variando entre 55 e 74 anos (média, 63 anos). Em relação à localização, 2 casos afetaram o lábio inferior, seguido de 1 caso em orofaringe (tonsila palatina) e 1 caso em faringe, sem outra especificação (SOE). Dos dados obtidos através dos prontuários, 2 casos eram fumantes, 1 não fumante e 01 não foi informado. Um paciente relatou o consumo de álcool, 1 caso negou consumir qualquer tipo de bebida alcoólica, já em 2 casos não houve informação. Em relação ao diagnóstico microscópico inicial, tal como encaminhado ao serviço, 3 casos foram diagnosticados como CEC convencional e um caso como carcinoma de células claras. A histopatologia demonstrou amplos lóbulos ou ilhas tumorais contendo numerosas células de citoplasma claro, com morfologia arredondada e poligonal, núcleos hipercromáticos com alguns deles tomando uma posição periférica. As ilhas tumorais eram suportadas por estroma de tecido conjuntivo denso. A proporção de células claras, variou entre 10% e 50%, do total do espécime avaliado (**Figura 05**).

Através de histoquímica, PAS sem diástase foi positivo em 2 (50%) casos, enquanto PAS com diástase foi negativo, suportado o conteúdo intracitoplasmático de glicogênio. Mucicarmin foi negativo em todos os casos. Através de IQ, em todos os casos, o componente epitelial foi positivo para pan-citoqueratina AE1/AE3 e CK34βE12, com padrão de marcação intenso. A expressão de EMA e CD138 foi variável, com várias áreas no mesmo caso mostrando negatividade. Análise de p40 e p63 foi uniforme em todos os casos. CK8/18 e CAM5.2 foram negativos. Vimentina e AML foram positivos no estroma tumoral, sugerindo diferenciação miofibroblástica. O marcador p53 demonstrou positividade em 2 casos, com média de 50% de positividade nas células neoplásicas. S100 apenas ressaltou células de Langerhans no interior dos lóbulos ou ilhas tumorais. Em relação à infecção viral, todos os casos foram negativos p16, HPV (IQ e HIS) e EBER1/2 (HIS). A média do índice de proliferação celular medido pelo Ki-67 foi 30% (**Figura 05**).

Figura 05 - Fotomicrografia do carcinoma espinocelular de células claras (CECCC)



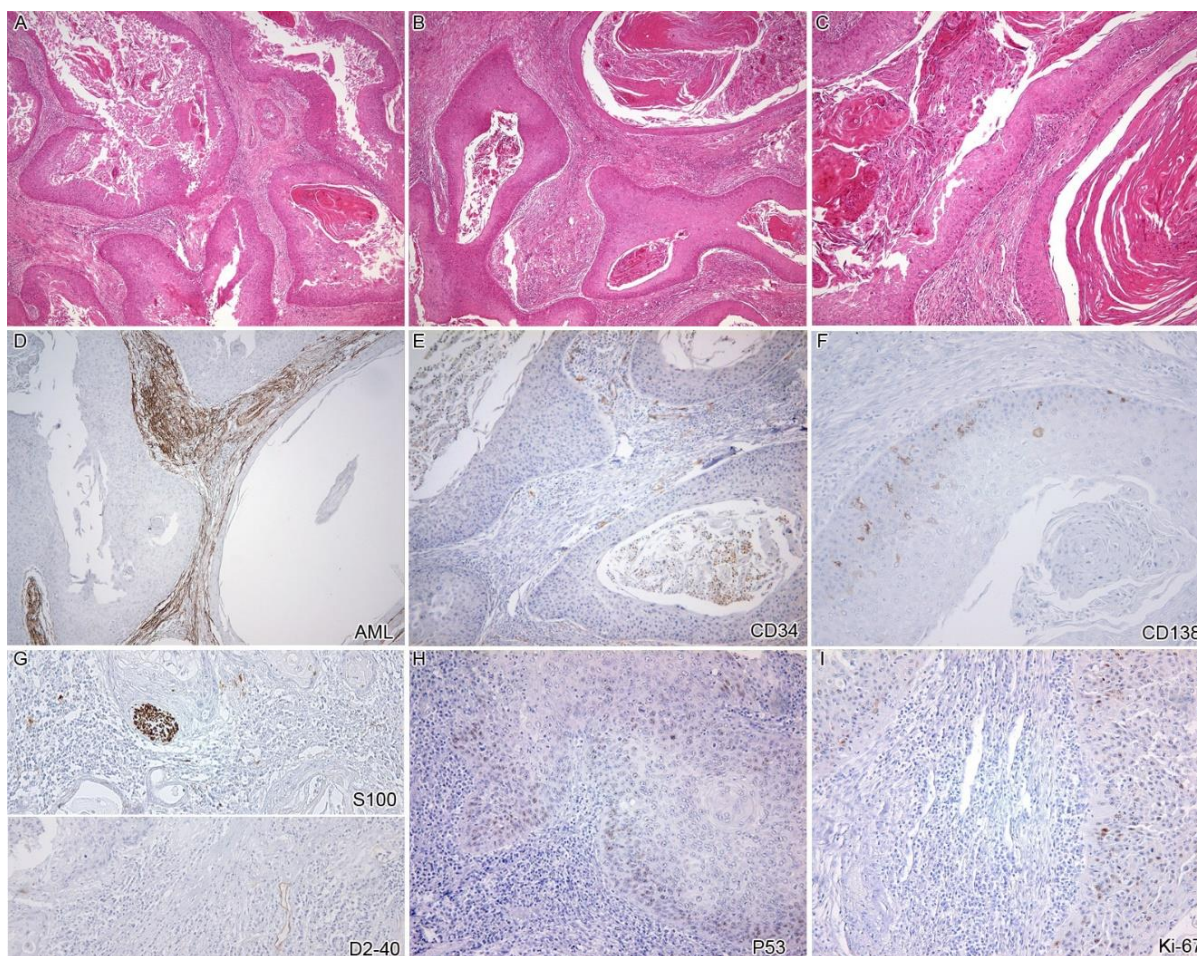
Visão panorâmica do tumor mostrando uma ampla proliferação de células claras dispostas em lóbulos bem delimitados, suportados por estroma de tecido conjuntivo fibroso (A, H&E, 10x). Em maior aumento, denota-se células tumorais com citoplasma claro e formato arredondado ou poligonal (B, H&E, 20x). Na figura C (H&E, 40x), observa-se células claras com núcleos hiperclomáticos e localização periférica ou em paliçada. Positividade para PAS sem diástase e negatividade para mucicarmin, suporta conteúdo glicogênico nas células tumorais sitivo para material mucinoso (D, 20x). A pan-citoqueratina AE1/AE3 mostra uma marcação intensa em todo componente epitelial tumoral (E, IQ, 20x). Positividade uniforme para EMA neste lóbulo tumoral (F, IQ, 20x). Vimentina (não mostrado) e AML marcaram fortemente o estroma tumoral (G, IQ, 20x). Uniforme positividade para CK34βe12 nos cordões tumorais, destacando as camadas basais (H, IQ, 20x). O índice de proliferação celular medido pelo Ki-67 foi 20%, com numerosas células tumorais (60%) sendo p53 positivas (I, IQ, 20x).

Fonte: Arquivo pessoal do autor.

5.6 Características clinicopatológicas do carcinoma cuniculado (CC)

Dos 4 casos diagnosticados como CC, 3 casos afetaram homens e 1 caso afetou uma mulher, com idade variando entre 41 e 67 anos (média, 54 anos). Com relação à localização, 1 caso foi diagnosticado na gengiva, 1 caso em palato duro, 1 caso em rebordo alveolar, e 1 caso em laringe, exclusivamente afetando as pregas vocais. Dos dados obtidos através dos prontuários, 3 casos eram fumantes e 1 não fumante. Três casos relataram o consumo de álcool e 1 caso negou o consumo de bebida alcoólica. Em relação ao diagnóstico clínico inicial, 3 casos foram diagnosticados como CEC convencional e 1 caso de actinomicose. A histopatologia demonstrou intensa proliferação de epitélio escamoso bem diferenciado, com invaginações que delimitavam cavidades pseudocísticas, geralmente preenchidas por uma grande quantidade de paraceratina. Este último achado é típico, e frequentemente denominado de “toca de coelho”. Pleomorfismo celular, hiperchromatismo nuclear, mitoses atípicas e apoptose evidente foram ausentes no tecido tumoral. O estroma fibrovascular mostrou significativo infiltrado inflamatório misto (**Figura 06**).

Em todos os casos, o componente epitelial foi positivo para pan-citoqueratina AE1/AE3 e CK34 β E12, com padrão de marcação intenso. A expressão de EMA e CD138 foi heterogênea, com EMA ressaltando as camadas superficiais, já CD138 exibiu células esparsas nas camadas parabasais. As células das camadas parabasais também foram evidenciadas por p40 e p63. CK8/18 e CAM5.2 foram negativos. Vimentina e AML foram positivos no estroma tumoral. O marcador p53 foi negativo em todos os casos, com uma média de 10%. Em relação à infecção viral associada, todos os casos foram negativos p16, HPV (IQ e HIS) e EBER1/2 (HIS). S100 foi negativo no tecido tumoral; no entanto, relevantemente, detectou foco de feixe neural envolvido pelo tumor em um único caso. A média do índice de proliferação celular medido pelo Ki-67 foi 10%. CD34 e D2-40 somente destacaram o estroma vascular tumoral (**Figura 06**).

Figura 06 - Fotomicrografia do carcinoma cuniculado (CC)

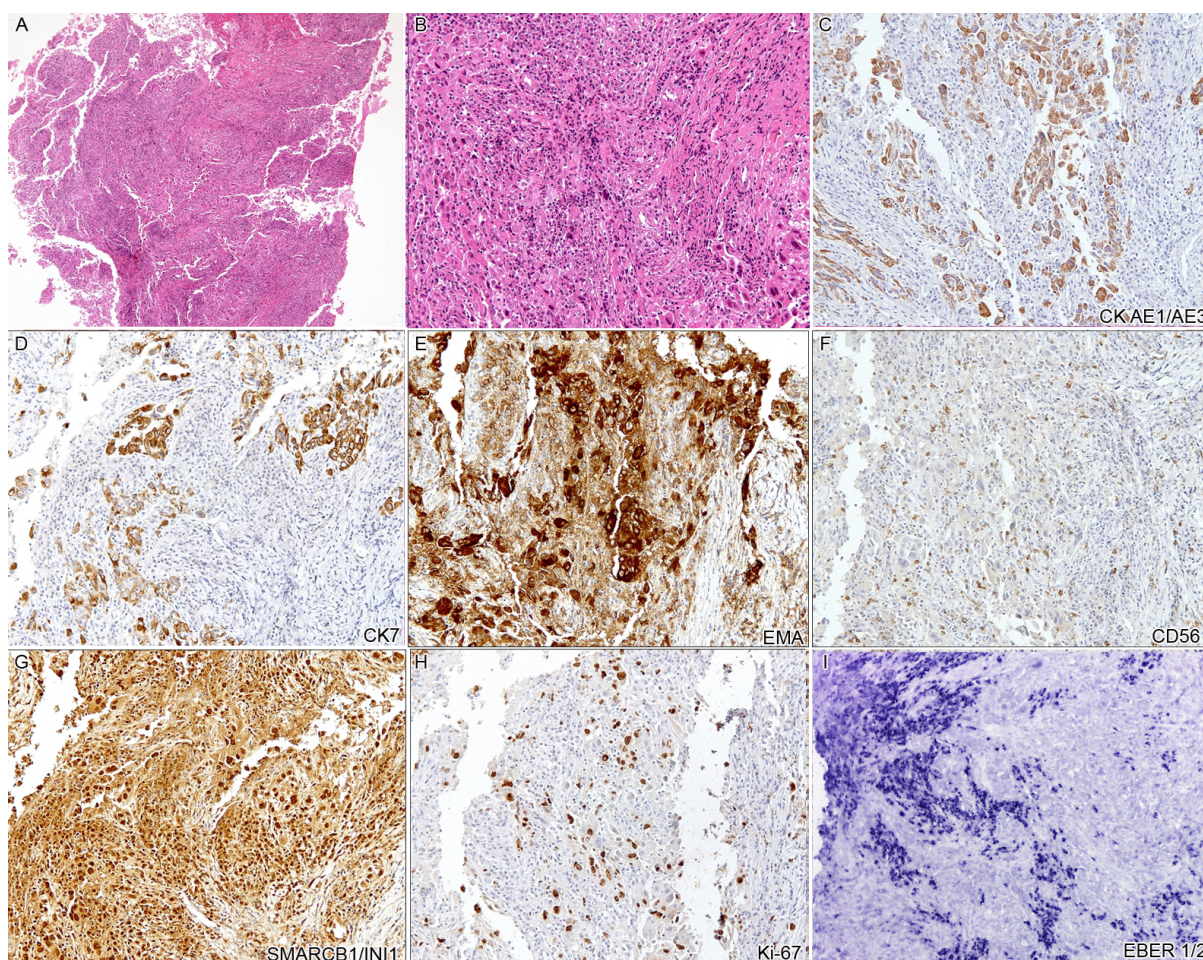
Visão panorâmica do tumor, observando-se projeções epiteliais endofíticas e presença de paraceratina preenchendo essas projeções, aspecto de “toca de coelho” (A, H&E, 10x). Em maior aumento, denota-se um epitélio bem diferenciado com ausência de pleomorfismo celular e atipias celulares (B, H&E, 20x). Na figura C (H&E, 40x), nota-se a presença de infiltrado inflamatório crônico e amplos depósitos de paraceratina. Forte imunomarcagem para AML no estroma tumoral (D, IQ, 20x). CD34 evidencia expressão apenas nos vasos sanguíneos (E, IQ, 20x). Positividade para CD138 em raras células do epitélio neoplásico (F, IQ, 20x). S100 ressaltou um foco de feixe neural envolvido por células tumorais e escassas células dendríticas dispersas no estroma tumoral. Já D2-40 evidenciou escassos vasos linfáticos (G, IQ, 20x). p53 evidencia positividade na periferia dos lóbulos tumorais (H, IQ, 20x). O índice de proliferação celular, através do Ki-67, neste caso foi 15% (I, IQ, 20x).

Fonte: Arquivo pessoal do autor.

5.7 Características clinicopatológicas do carcinoma linfoepitelial (CL)

Dos 3 casos diagnosticados como CL, 2 casos afetaram mulheres e 1 caso afetou um homem, com idade variando entre 50 e 82 anos (média, 54 anos). Em relação à localização, 1 caso cada afetou lábio inferior, região retromolar e seio maxilar. Dos dados obtidos através dos prontuários, todos os casos negaram o hábito de consumir bebida alcoólica e tabaco. Em relação ao diagnóstico clínico inicial, todos foram diagnosticados como CEC convencional. A histopatologia demonstrou ilhas e cordões discretos de proliferação de epitélio escamoso pouco diferenciado, que estavam permeados por um infiltrado inflamatório crônico intenso. Em algumas áreas, o componente epitelial neoplásico foi difícil de ser identificado (**Figura 07**).

Em todos os casos, o componente epitelial foi positivo para pan-citoqueratina AE1/AE3, CK5/6 e CK34βE12, com padrão de marcação intenso. A marcação para EMA e CD138 foi variável, com 2 casos mostrando intensidade forte. Um caso mostrou positividade para CK7. CD56 ressaltou linfócitos, provavelmente de fenótipo NK. Expressão nuclear de SMARCB1/INI1 foi preservada em todos os casos. Dois casos foram p53 positivos. Vimentina e AML (marcação heterogênea) foram positivos no estroma tumoral. Os marcadores p63 e p40 foram positivos em todos os casos. Em relação à infecção viral associada, todos os casos foram negativos para p16 e HPV (IQ e HIS). Somente um caso (seio maxilar), foi positivo para EBER1/2 (HIS). O índice de proliferação celular medido pelo Ki-67 variou de 30% a 70%. CD34 e D2-40 destacaram apenas o componente vascular no estroma tumoral (**Figura 07**).

Figura 07 - Fotomicrografias do carcinoma linfoepitelial (CL)

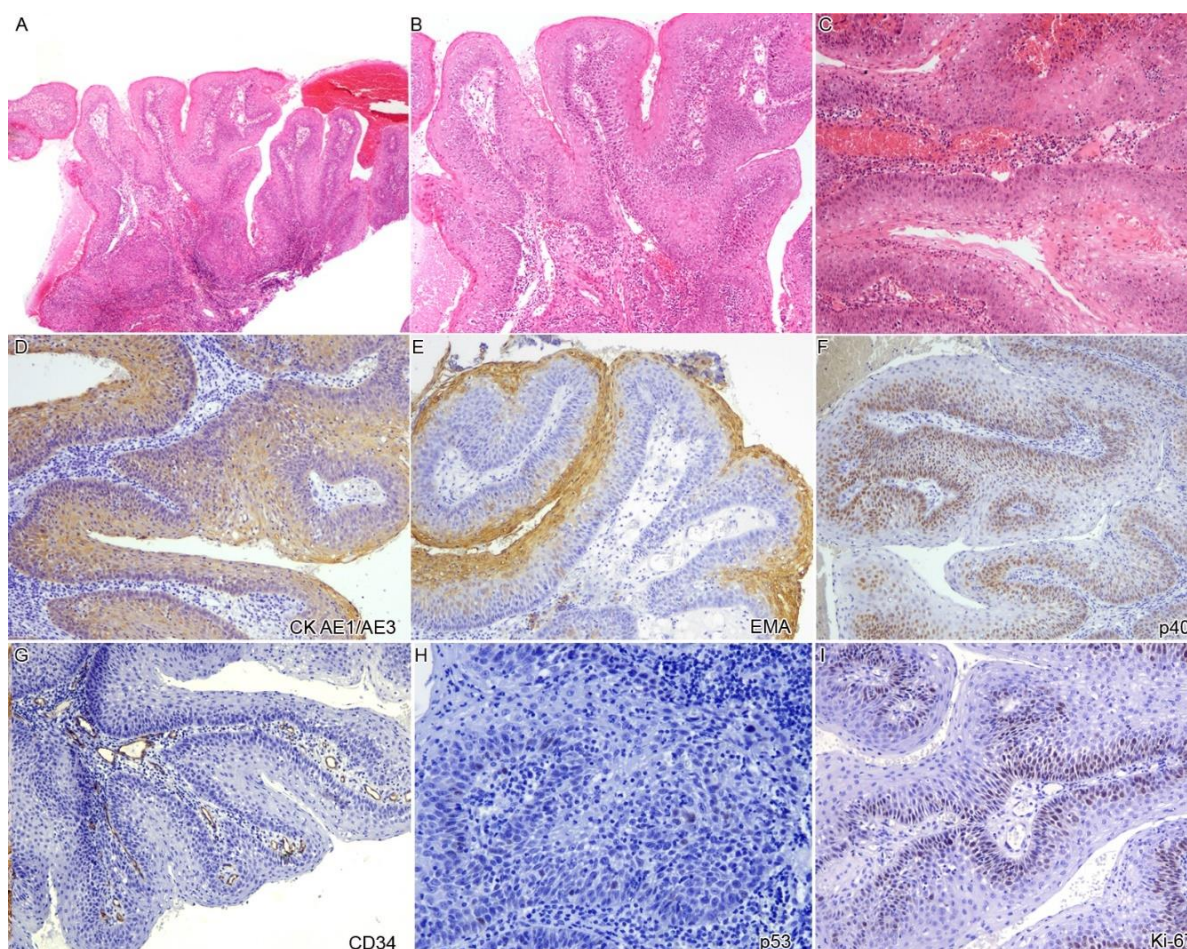
Visão panorâmica evidenciando intenso infiltrado inflamatório suportado por estroma fibrocelular, já o componente tumoral é difícil de ser evidenciado (A, H&E, 2,5x). Em maior aumento, é possível denotar células tumorais pleomórficas dispostas em cordões entremeadas por intenso infiltrado inflamatório linfoplasmocitário (B, H&E, 20x). Imunomarcação intensa e homogênea por pan-citoqueratina AE1/AE3 (C, IQ, 20x). Expressão de CK7 foi observada em um único caso (D, IQ, 20x). Forte marcação para EMA no epitélio neoplásico (E, IQ, 20x). CD56 evidenciou uma população linfocítica esparsa (F, IQ, 20x). A expressão de SMARCB1/INI1 foi intacta em todos os casos (G, IQ, 20x). A avaliação do índice de proliferação celular, através do Ki-67, foi 50% neste caso (H, IQ, 20x). Este caso localizado em seio maxilar demonstrou positividade para EBER1/2 (I, HIS, x20).

Fonte: Arquivo pessoal do autor.

5.8 Resultados obtidos do carcinoma espinocelular papilar (CECPa)

Dois casos foram diagnosticados como CECPa. Um caso afetou uma mulher de 70 anos, afetando mucosa jugal. Já outro caso afetou um homem de 58 anos, envolvendo a língua. Dos dados obtidos através dos prontuários, os 2 casos negaram o hábito de consumir bebida alcoólica e tabaco. Em relação ao diagnóstico clínico inicial, todos foram diagnosticados como CEC convencional. A histopatologia demonstrou intensa proliferação de epitélio escamoso, bem a moderadamente diferenciado, com padrão de crescimento exofítico,, semelhante a “couve-flor” delimitando projeções superficiais digitiformes. Focalmente foi possível observar áreas contendo “atipias colócíticas”, e ceratinização abrupta. Pleomorfismo celular e nuclear, bem como corpos apoptóticos e figuras de mitose, foram identificados no tecido tumoral. O estroma fibrovascular tumoral mostrou numerosas células inflamatórias crônicas, permeadas por granulócitos **(Figura 08)**.

Nos 2 casos, o componente epitelial foi positivo para pan-citoqueratina AE1/AE3, CK34βE12 e CK5/6, com padrão de marcação intenso, já EMA destacou as camadas superficiais. A marcação com CD138 foi variável, as mesmas de exibiu populações de plasmócitos no estroma tumoral. Expressão de p53 foi detectada nos 2 casos, em aproximadamente 50% das células tumorais. Positividade para vimentina e AML (marcação heterogênea) foram detectadas no estroma tumoral. Os marcadores p40 e p63 foram expressos homogeneamente nas camadas basal e parabasal. Em relação à infecção viral associada, ambos os casos foram negativos para p16, HPV (IQ e HIS) e EBER1/1 (HIS). O índice de proliferação celular medido pelo Ki-67 foi de 30% e 50%. Os marcadores CD34 e D2-40, foram restritos ao componente vascular do estroma tumoral **(Figura 08)**.

Figura 08 - Fotomicrografias do carcinoma espinocelular papilar (CECPa)

Visão panorâmica do tumor mostrando o padrão de crescimento exofítico, com projeções epiteliais digitiformes (A, H&E, 10x; B, H&E, 20x). Em maior aumento, observa-se detalhes citomorfológicos no epitélio neoplásico, bem como congestão vascular e presença de infiltrado inflamatório, predominantemente crônico (C, H&E, 40x). A imunomarcação para pan-citoqueratina AE1/AE3 foi uniforme, de intensidade moderada a forte (D, IQ, 20x). EMA destacou as camadas superficiais (E, IQ, 20x). A expressão de p40 no epitélio neoplásico confinada as camadas basais e parabasais (F, IQ, 20x). O estroma vascular foi ressaltado por CD34 (G, IQ, 20x). p53 positivo para raras células epiteliais (H, IQ, 40x). A avaliação do índice de proliferação celular neste caso foi 30% (I, IQ, 20x).

Fonte: Arquivo pessoal do autor.

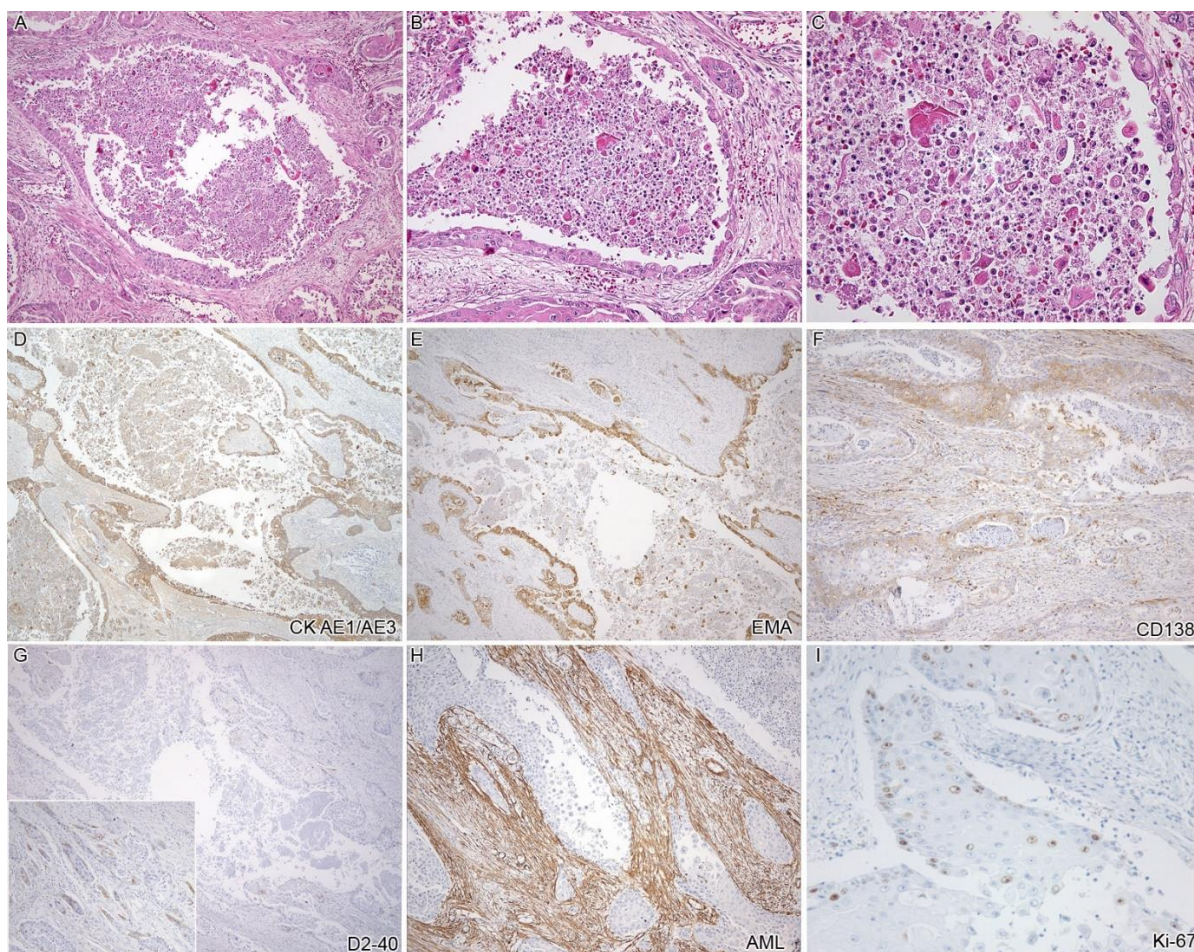
5.9 Resultados obtidos do carcinoma espinocelular acantolítico (CECAc)

Dois casos afetando homens foram diagnosticados como CECAc. O primeiro caso, com 56 anos, apresentou envolvimento de laringe; já o segundo caso, com 61 anos, mostrou envolvimento em lábio inferior. Dos dados obtidos dos prontuários, os 2 casos negaram o hábito de fumar, já 1 caso revelou consumir bebida alcoólica. Em relação ao diagnóstico clínico inicial, todos foram diagnosticados como CEC convencional. A histopatologia revelou a formação de amplos lóbulos tumorais, os

quais na parte central evidenciavam extensas áreas de acantólise. As células tumorais na periferia dos ninhos ou lóbulos apresentavam pleomorfismo celular, núcleos hipercromáticos e irregular, citoplasma densamente eosinofílico e frequentes figuras mitóticas. Áreas de CEC convencional também foram frequentemente observadas (**Figura 09**).

Nos 2 casos, as células neoplásicas foram positivas para pan-citoqueratina AE1/AE3, CK5/6 e CK34 β E12, com padrão de marcação intenso. EMA e CD138 ressaltaram as células tumorais na periferia dos lóbulos tumorais. Vimentina e e AML mostram forte marcação no estroma tumoral, sugerindo diferenciação miofibroblástica. Os marcadores p40 e p63 foram positivos no tumor, já p53 foi negativo. Em relação à infecção viral associada, todos os casos foram negativos para p16, HPV (IQ e HIS) e EBER1/2 (HIS). A média do índice de proliferação celular medido pelo Ki-67 foi <30%. Também, foi realizada a caracterização do estroma vascular tumoral, por meio dos marcadores CD34 e D2-40, os quais destacaram vasos sanguíneos e linfáticos, respectivamente. Além disso, D2-40 mostrou expressão fraca e focal em escassos ninhos tumorais (**Figura 09**).

Figura 09 - Fotomicrografias do carcinoma espinocelular acantolítico (CECAc)



Visão panorâmica do tumor, no qual observa-se a formação de lóbulos tumorais, e na porção central dos mesmos é possível denotar a presença de amplas áreas de acantólise (A, H&E, 10x). Em maior aumento, observa os detalhes celulares da acantólise (B, H&E, 20x; C, H&E, 40x). Imunomarcagem homogênea e intensa para pan-citoqueratina AE1/AE3 (D, IQ, 20x). EMA (E, IQ, 20x) e CD138 (F, IQ, 20x) destacando imunopositividade na periferia dos lóbulos tumorais e no processo acantolítico, D2-40 evidenciou escassos vasos linfáticos e alguns grupamentos de células tumorais (G, IQ, 20x), Intensa marcação para AML sugerindo diferenciação miofibroblástica no estroma tumoral (H, IQ, 20x). A avaliação do índice de proliferação celular, através do Ki-67, neste caso foi 25% (I, IQ, 20x).

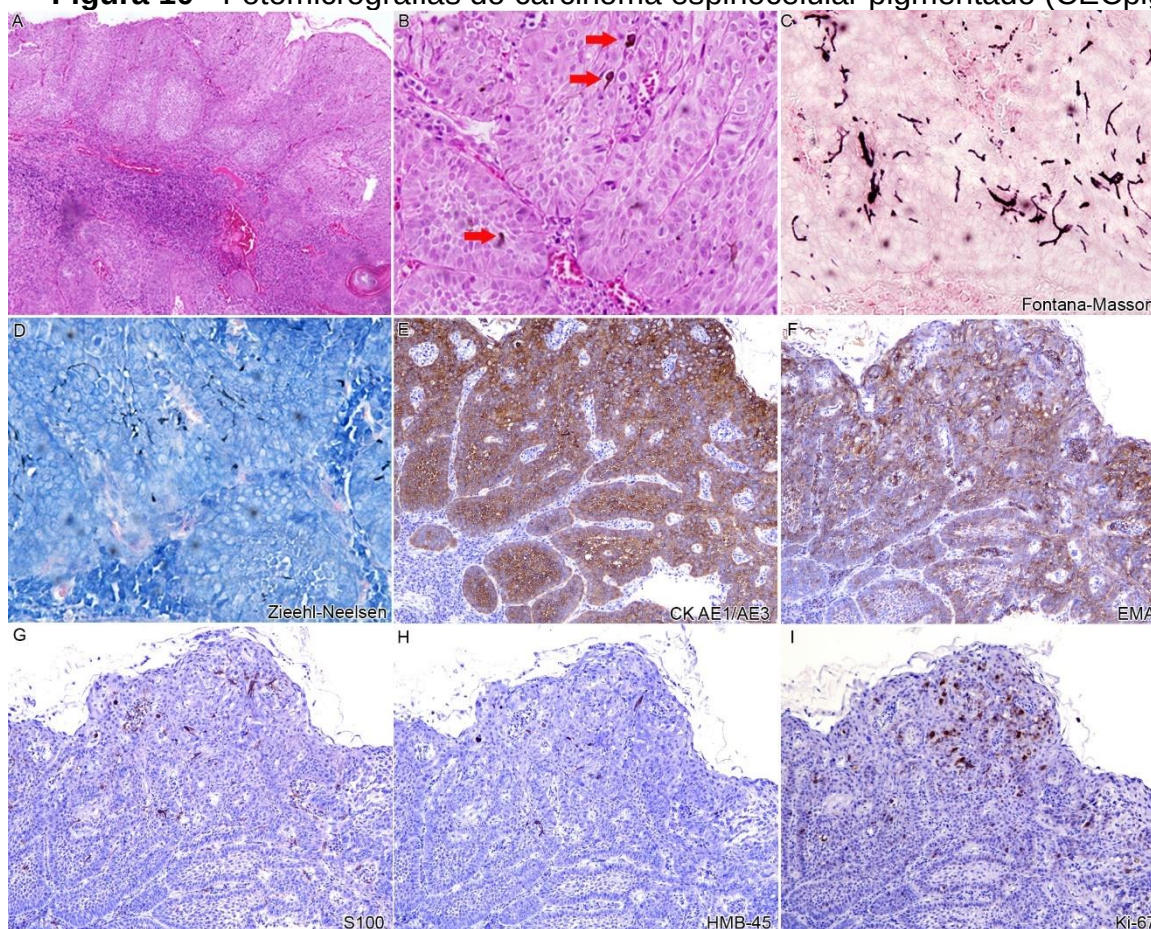
Fonte: Arquivo pessoal do autor.

5.10 Resultados obtidos do carcinoma espinocelular pigmentado (CECPig)

Dois casos foram diagnosticados como CECPig, todos foram em homens. O primeiro caso, com 65 anos, apresentou envolvimento de língua; já o segundo caso, com 50 anos, mostrou envolvimento de orofaringe (palato mole). Dos dados obtidos através dos prontuários, os dois casos relataram o uso de tabaco e apenas um caso, o consumo de bebida alcoólica (caso 2). Em relação ao diagnóstico clínico inicial, foram considerados leucoplasia e hiperplasia fibrosa. A histopatologia revelou características morfológicas tal como observada no CEC convencional no caso 01, tal como alteração na arquitetura celular, pleomorfismo celular, hipercromatismo nuclear, figuras de mitose e apoptose. O caso 02 foi diagnosticado como CEC in situ. Interessantemente, em ambos os casos, foi observada a presença de depósitos de melanina no estroma tumoral, bem como infiltração de melanócitos dendríticos pigmentados permeando células tumorais (**Figura 10**).

Nos 2 casos, a histoquímica revelou positividade para Fontana-Masson, e negatividade para Ziehl-Neelsen e PAS, indicando presença exclusiva de melanina. Por IQ, o componente epitelial tumoral foi intensamente positivo para pan-citoqueratina AE1/AE3. EMA, também destacou as células tumorais, enquanto a marcação para CD138 foi heterogênea. Vimentina e AML evidenciaram o estroma tumoral. Os marcadores p40 e p63 foram positivos, enquanto p53 foi negativo, nas células tumorais. Os marcadores S100 e HMB-45 ressaltaram a morfologia dendrítica dos melanócitos intratumorais. Em relação à infecção viral associada, os 2 casos foram negativos para p16, HPV (IQ e HIS) e EBER1/2 (HIS). O índice de proliferação celular medido pelo Ki-67 foi 15% e 20%. A caracterização dos vasos sanguíneos e linfáticos no estroma tumoral, através do CD34 e D2-40, respectivamente, ficou restrita à rede vascular (**Figura 10**).

Figura 10 - Fotomicrografias do carcinoma espinocelular pigmentado (CECpig)



Visão panorâmica do tumor, mostrando epitélio neoplásico, lóbulos tumorais e intenso infiltrado inflamatório no estroma tumoral (A, H&E, 10x). Em maior aumento, observa-se detalhes do tumor, depósitos de melanina e melanócitos intratumorais (seta vermelha) (B, H&E, 40x). Melanócitos dendríticos intratumorais evidenciados através da coloração de Fontana-Masson (C, 40x), enquanto PAS (não mostrado) e Ziehl-Neelsen são negativos (D, 40x). Intensa imunomarcação para pan-citoqueratina nas células tumorais AE1/AE3 (E, IQ, 20x). A expressão intensa de EMA mostrou preferência pelas camadas superficiais (F, IQ, 20x). S100 e HMB-45 destacaram melanócitos dendríticos intratumorais (G e H, IQ, 20x). O índice de proliferação celular, através do Ki-67, foi 15% (I, IQ, 20x).

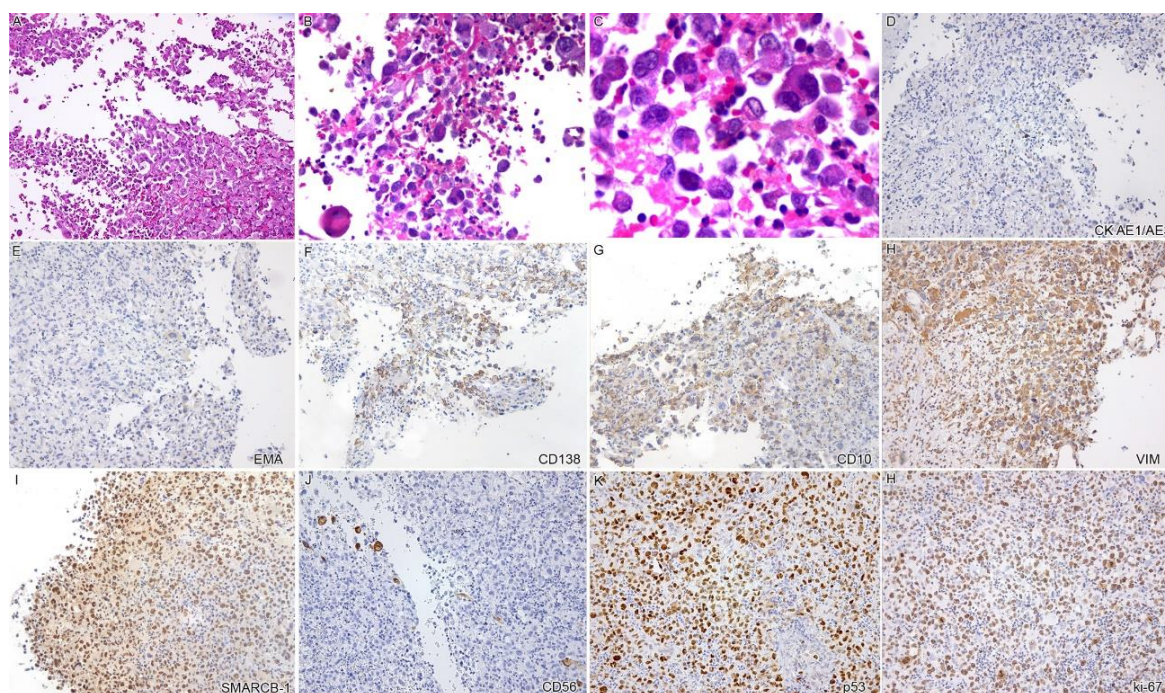
Fonte: Arquivo pessoal do autor.

5.11 Características clinicopatológicas do carcinoma com fenótipo rabdóide (CFR)

Um caso de CFR foi identificado em um paciente do sexo feminino, de 77 anos de idade, localizado no seio piriforme. A paciente relatou uso de álcool e tabaco. O diagnóstico clínico inicial foi de CEC convencional, porém a histopatologia revelou amplas áreas contendo células com morfologia rabdóide, predominantemente não coesivas, com núcleos grandes e excêntricos, nucléolos proeminentes e evidentes inclusões intracitoplasmáticas eosinofílicas, com algumas células apresentando aspectos plasmocitóides ou epitelióides (**Figura 11**).

Neste caso, o componente epitelial foi fracamente e focalmente positivo para pan-citoqueratina AE1/AE3, CK34βE12 e EMA; enquanto CD10 e CD138 evidenciaram um maior número de células tumorais. Vimentina foi homogeneamente expresso no tumor, destacando o conteúdo citoplasmático. A marcação para SMARCB1/INI1 mostrou expressão intacta, enquanto CD56 foi negativo. Outros marcadores neuroendócrinos (cromogranina e sinaptofisina) e mioepiteliais (AML, S100 e p40 foram negativos). Em relação à infecção viral associada, p16, HPV (IQ e HIS) e EBER1/2 (HIS) foram negativos. p53 foi intensamente positivo (80% das células tumorais). O índice de proliferação celular medido pelo Ki-67 foi 85%. CD34 e D2-40 apenas ficaram restritos no componente vascular do estroma tumoral (**Figura 11**).

Figura 11 - Fotomicrografias do carcinoma com fenótipo rabdóide (CFR)



Visão panorâmica do tumor mostrando células rabdóides discoesivas com núcleos grandes e excêntricos, nucléolos proeminentes e abundantes inclusões intracitoplasmáticas eosinofílicas (A, $\times 10$; B, $\times 40$; C, $\times 100$; H&E). Por IQ, a imunomarcação para pan-citoqueratina AE1/AE3 (D, IQ, 20x) e EMA (E, IQ, 20x) foi fraca e focal. Diferentemente, a expressão de CD138 (F, IQ, 20x) e CD10 (G, IQ, 20x) evidenciou positividade em um maior número de células tumorais. A expressão de vimentina foi homogênea, em intensidade moderada a forte (H, IQ, 20x). A expressão de SMARCB1/INI1 se mostrou intacta (I, IQ, 20x). CD56 foi negativo, ressaltando escassas células musculares esqueléticas (J, IQ, 20x). A expressão de p53 atingiu aproximadamente 80% das células neoplásicas (K, IQ, 20x). A avaliação do índice de proliferação celular, através do Ki-67, foi 85% (L, IQ, 20x).

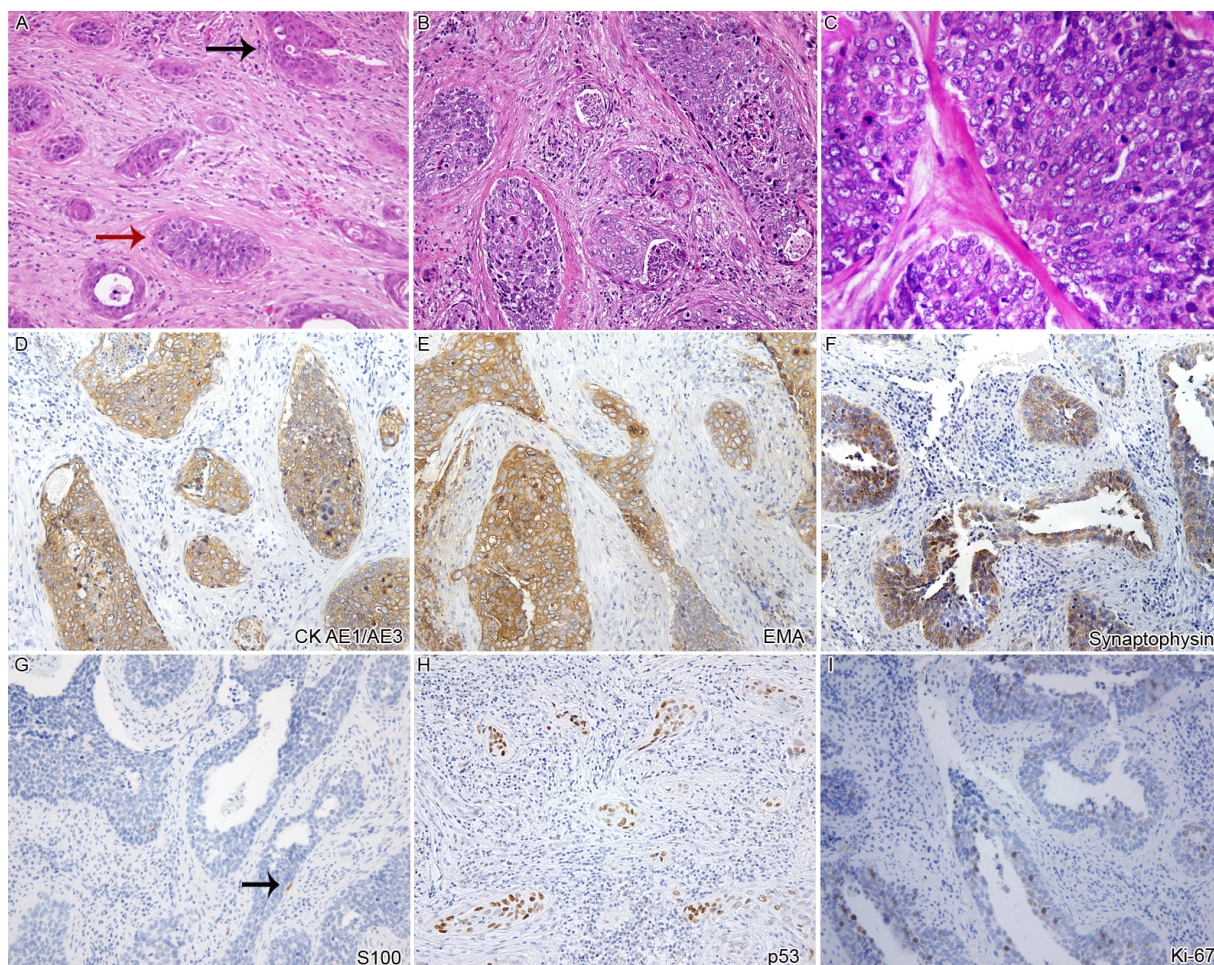
Fonte: Arquivo pessoal do autor.

5.12 Características clinicopatológicas do carcinoma com diferenciação neuroendócrina (CDN)

Um caso de CDN foi identificado em um paciente do sexo feminino, de 61 anos de idade, localizado no canal lacrimal. A paciente negou uso de álcool e tabaco. O diagnóstico clínico inicial foi de CEC convencional, porém a histopatologia evidenciou dois componentes distintos, embora estivessem em íntimo contato, o primeiro componente era um clássico epitélio escamoso neoplásico e o outro componente lembrava as células do CN, composto por células pequenas com citoplasma granular, núcleos em posição excêntrica, cromatina pontilhada (aspecto de “sal e pimenta”). Em algumas áreas focais era possível observar a formação de estruturas semelhantes com ductos ou pseudoductos. O estroma tumoral era composto por tecido conjuntivo denso e as células inflamatórias eram escassas (**Figura 12**).

Neste caso, as células tumorais foram positivas para pan-citoqueratina AE1/AE3, CK34 β E12 e EMA com padrão de marcação homogêneo, de intensidade moderada a intensa. Além disso, p40 e p63 também foram positivos. S100 e CD99 foram negativos; porém, sinaptofisina foi positiva, com cromogranina A e CD56 mostrando marcação fraca e focal. Relevantemente, S100 foi positiva em algumas ilhas tumorais, em padrão lembrando as células sustentaculares. Vimentina e AML destacaram o estroma tumoral, sugerindo diferenciação miofibroblástica. Em relação à infecção viral associada, HPV (IQ e HIS) e EBER1/2 (HIS) foram negativos, embora o p16 teve marcação positiva difusa (70%). p53 evidenciou positividade em aproximadamente 35% das células tumorais. O índice de proliferação celular medido pelo Ki-67 foi 30%. CD34 e D2-40 destacaram apenas a rede microvascular do estroma tumoral (**Figura 12**).

Figura 12 - Fotomicrografias do carcinoma com diferenciação neuroendócrina (CDN)



Visão panorâmica do tumor mostrando o componente escamoso (CEC convencional, seta preta) e o componente neuroendócrino (seta vermelha), além de estruturas semelhantes com ductos (A, H&E, 10x). Em maior aumento, ninhos tumorais formados por células pequenas com citoplasma escasso eosinofílico e cromatina com aspecto de “sal e pimenta” em franca transição com células escamosas neoplásicas (B, 20x; C, 40x; H&E). A expressão de pancitoqueratina AE1/AE3 (D, IQ, 20x) e EMA (E, IQ, 20x) no epitélio neoplásico foi homogênea, com intensidade moderada nesta área. Sinaptofisina foi positiva nos lóbulos tumorais (F, IQ, 20x). S100 positivo apenas em raras células, localizadas na basal dos ninhos tumorais, sugerindo células sustentaculares (G, IQ, 20x). p53 foi positivo nas células tumorais (H, IQ, 20x). A avaliação do índice de proliferação celular, através do Ki-67, foi 30% (I, IQ, 20x).

Fonte: Arquivo pessoal do autor.

6 DISCUSSÃO

O CEC representa aproximadamente 95% de todas as neoplasias malignas que afetam a região de cabeça e pescoço. Segundo a OMS (2022)⁹, atualmente são consideradas 8 variantes histopatológicas do CECCP, incluindo 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)^{6,22}. Estas variantes histopatológicas representam aproximadamente entre 4% e 15% de todos os casos de CECCP; porém, essa prevalência pode ser ainda maior devido aos critérios e desafios diagnósticos de certas variantes com lesões de outra origem, considerando natureza reativa, glandular, mesenquimal ou hematolinfóide^{14,15}. Muitas vezes estudos complementares como finalidade diagnóstica são essenciais, podendo lançar-se mão da histoquímica, IQ, HIS e qPCR para análise mais detalhada do material genético. No presente estudo, temos obtido uma prevalência de 4,7% (67/1.415 casos de CECCP).

Há estudos previamente publicados na literatura^{17,20,21}, os quais descrevem variantes histopatológicas de CECCP; porém, há falta de informação considerando o total de casos avaliados e a prevalência de variantes histopatológicas do CECCP em cada um deles. O estudo realizado por Thompson et al.¹⁷ (2003) descreve as características clinicopatológicas de 5 variantes, reconhecidas pela OMS (2005). Neste trabalho são abordadas as principais características clinicopatológicas como sexo, localização, frequência, agentes etiológicos associados, características macroscópicas, características microscópicas, principais diagnósticos clínicos, tratamento e prognóstico, bem como possíveis armadilhas diagnósticas. No presente estudo temos empregado uma metodologia semelhante, no entanto, relevantemente, temos ampliado a análise com marcadores IQs, a fim de caracterizar adequadamente os diversos componentes do tumor, proliferação celular, diferenciação celular e e possível associação com agentes virais como o HPV e VEB.

Estudos recentes avaliando a presença de HPV e VEB no CECCP na população brasileira tem mostrado resultados diferentes quando comparados com outras regiões geográficas. No Brasil, o CECorof mostra associação com HPV em 25% dos casos, enquanto o CECO tem uma associação de 11%,^{2,7} resultados

considerados baixos quando comparado com a prevalência do HPV no CECorof nos Estados Unidos (65%) e Suécia (85%). Outros países mostram resultados semelhantes ao observado no Brasil, como Cuba (15%) e Polônia (10%)². Nos países com baixa prevalência de associação do HPV com o desenvolvimento do CEC, citam como fatores de risco associados o uso do tabaco e consumo de bebida alcoólica^{2,4}. Do ponto de vista prognóstico, os CECs HPV positivos são mais radiosensíveis do que os CECs HPV negativos,⁴ tendo impacto prognóstico. No presente estudo, temos observado 67 casos de variantes histopatológicas de CECCP as quais mostraram associação com HPV em apenas dois casos (1 CECB e 1 CECF) e para VEB também tivemos dois casos positivos (1 CAd e 1 CL).

A associação do carcinoma verrucoso (CV) com o HPV ou VEB permanece incerta na literatura. Um trabalho avaliando 48 casos de CV, apenas 0,5% dos casos mostraram associação com HPV⁷¹; porém, a metodologia foi limitada à IQ, podendo ser necessária análises complementares como a imunexpressão de p16, HIS ou qPCR, tal como realizado em nosso laboratório. Em relação à transformação maligna da LVP em CV, estudos recentes demonstram que não há diferença significativa da associação do HPV com essa possível evolução, no entanto, concordam que as metodologias empregadas devem ser padronizadas³⁸. O CV em laringe parece ter forte associação com infecção pelo HPV, com recente estudo mostrando uma prevalência de 68%³⁶. No presente estudo, os CVs foram suficientemente distinguíveis da HV (atípica) e de CEC com morfologia exofítica. Em todos os casos de CV, a correlação clinicopatológica foi indispensável para estabelecer uma conclusão diagnóstica. Nenhum caso mostrou associação com CEC convencional. Além disso, todos os 21 casos de CV foram negativos para p16, HPV (IQ e HIS) e EBER1/2 (HIS).

Neste estudo, realizamos a imunomarcção para CD34 e AML a fim de auxiliar no diagnóstico diferencial entre HV e CV em alguns casos. Um estudo prévio⁷² avaliou 13 casos de HV, 15 de CV e 20 de CEC convencional. Os resultados mostraram que expressão de CD34 no estroma adjacente foi observada em 100% de HV, e apenas em 20% (3/15) de CV e 11% (2/18) de CEC convencional⁷². AML foi positivo em 100% (20/20) do CEC convencional, 93% (14/15) do CV e 0% do HV (0/13). Vale ressaltar que nossos casos de CV foram negativos para CD34 no estroma tumoral, demonstrando positividade apenas no componente vascular e positivos no estroma para AML. Assim, CD34 e AML podem auxiliar no diagnóstico diferencial entre HV, CV e CEC convencional. Em relação à frequência do CV, um estudo concluiu que o

CV representa até 3% dos CECCP,¹³ Nossos resultados evidenciam que o CV representa 31% (21/67) de todas as variantes de CECCP, com uma prevalência de 1,5% (21/1.415 casos de CECCP).

O carcinoma adenoescamoso (CAd) é uma variante histopatológica rara e agressiva do CECCP. Sabe-se que a localização mais comum é a laringe, seguido da cavidade oral²⁷. No presente estudo foram detectados 4 casos em cavidade oral e 2 casos em orofaringe. Estudos prévios de CAd na região de cabeça e pescoço tem relatado dificuldades de diagnóstico diferencial, especialmente com neoplasias glandulares. Assim, o CAd pode ser confundido com o CME, principalmente com tumores de alto grau, por compartilharem semelhanças na histopatologia²⁸. Estudos IQs demonstram que o CAd evidencia positividade para CK7, CK8/18 e CEA não somente no epitélio com características glandulares, como também no epitélio escamoso de superfície, o que torna esses marcadores fundamentais para auxiliar no diagnóstico²⁶. Além disso, no CAd, o achado microscópico de origem do epitélio de superfície ou a presença de displasia epitelial de alto grau, oferece dados diagnósticos significativos.²⁶ Nos nossos casos optamos pela análise por meio dos marcadores pan-citoqueratina AE1/AE3, EMA e CK8/18 para avaliar os componentes tumorais, bem como envolvimento do epitélio de superfície. Outro relato interessante na literatura, é a documentação de um caso de CAd se originando do epitélio de superfície, o mesmo que foi clinicamente diagnosticado como leucoplasia²⁶. Outra ferramenta que pode ser utilizada para o diagnóstico de CAd, especialmente aqueles casos localizados na região de cabeça e pescoço é a avaliação da translocação *CRTC1-MAML2*, a qual mostra-se negativa no CAd e positiva no CME²⁸. Estudos mostram que neste grupo de variantes as taxas de sobrevida em 5 anos são de 30% para sobrevida global e 50% para sobrevida específica da doença^{26,29}.

O carcinoma espinocelular basalóide (CECB) foi descrito pela primeira vez em 1986 por Wain et al.³³, sendo considerado uma variante incomum do CEC. Microscopicamente se apresenta com um padrão bifásico, possuindo um componente escamoso e outro basalóide. O epitélio escamoso pode se apresentar como displásico, carcinoma *"in situ"* ou invasivo estando em íntimo contato com o componente basalóide^{32, 33}. A localização é ampla, incluindo esôfago, pulmão, ânus, colo uterino, traqueia, entre outros. Exclusivamente em cabeça e pescoço este grupo, o CECB é considerado mais agressivo quando comparado com o CEC convencional^{30,32}. Os locais anatômicos mais comuns são tonsila palatina, base de

língua, supraglote e seio piriforme. Nossos resultados mostraram que o CECB foi mais comum em língua, seguido de rebordo alveolar e orofaringe (tonsila palatina e palato mole). O CECB na região da tonsila palatina pode ter associação com o HPV. De fato, tem estudos identificando carcinomas tonsilares com aspectos morfológicos basalóides em pacientes jovens, tendo associação com o HPV³². No entanto, um outro estudo avaliando 109 casos de CECB de laringe demonstrou que nenhum caso apresentou positividade para o HPV³³. Já outro estudo avaliando a presença do HPV em 10 casos de CECB localizados em faringe e laringe, através de PCR, demonstrou que 32,5% dos casos foram HPV positivos. Vale ressaltar que os CECorof quando são classificados como não queratinizantes, apresentam características basalóides, representando um importante diagnóstico diferencial. No presente estudo, detectamos um caso de CECB positivo para o HPV, e corroborando com estudos prévios, este caso estava localizado em tonsila palatina. Além disso, o p16 foi positivo em 7/13 casos (54%) de CECB. Diferentemente, outro estudo evidenciou negatividade para p16 em 2 casos de CECB²⁰. Embora alguns pesquisadores indiquem que o p16 é um marcador substituto confiável para identificação da infecção pelo HPV, nossos resultados e outros trabalhos publicados suportam que se faz necessário a complementação por técnicas moleculares, tais como HIS e/ou qPCR, para a confirmação da presença ou ausência do genoma viral. A taxa de metástase deste grupo pode chegar até 75%^{30,33}. A taxa de mortalidade CECB é alta, representando 60%^{18,30}.

O carcinoma espinocelular de células fusiformes (CECF) tem por características clínicas altas taxas de recidiva e metástase, o que torna esta variante um tumor muito agressivo. Os componentes neoplásicos envolvidos são o escamoso e fusiforme, e devido a este último, muitas vezes pode criar um desafio para o patologista durante o momento do diagnóstico histopatológico^{44,45}. A detecção da transição epitélio escamoso e componente fusiforme pode auxiliar no diagnóstico diferencial com outras lesões pseudotumorais, melanoma e sarcomas. Em amostras pequenas, pode não aparecer o epitélio ou componente escamoso, assim, sarcomas e até melanoma de células fusiformes precisam ser excluídos cuidadosamente. Diante da ausência do componente carcinomatoso, a técnica de IQ pode ser uma ferramenta diagnóstica essencial. A pan-citoqueratina AE1/AE3 é geralmente positiva no componente escamoso, com esta positividade variando de 40% a 80% no componente fusiforme⁴⁴. Todos os casos de CECF do presente estudo apresentaram

positividade para pan-citoqueratina AE1/AE3 no componente escamoso, enquanto a positividade no componente fusiforme foi variada (50% casos foram negativos). A vimentina foi positiva nas células do componente fusiforme em todos os casos, embora negativa para o componente carcinomatoso. Estudos prévios demonstram que a positividade para actina de músculo liso (AML) em alguns casos podem sugerir uma possível diferenciação miofibroblástica do componente fusiforme⁴³. Outros marcadores que podem ser avaliados, principalmente para os casos em que a pan-citoqueratina AE1/AE3 for negativa, são a CK6, CK14, EMA, p40 e p63^{44,45}. Em relação ao índice de proliferação celular medido pelo Ki-67, vários estudos relatam que aproximadamente 40% de células neoplásicas do CECB são positivas, similar ao observado no presente estudo^{44,45}.

O carcinoma linfoepitelial (CL), algumas vezes chamado de carcinoma indiferenciado do tipo nasofaríngeo, é um tumor incomum, morfológicamente indistinguível do carcinoma nasofaríngeo (indiferenciado). Dependendo da região anatômica, etnia e área geográfica, o CL, pode estar associado com agentes virais, notavelmente o VEB. Na região orofaríngea, alguns casos de CL podem estar associados com o HPV⁴⁸⁻⁵⁰. Em relação à demografia e à positividade com o VEB, os pacientes do sul asiático são os mais afetados, no entanto, em outras áreas geográficas a maioria dos casos de CL são negativos para o VEB⁴⁸⁻⁵⁰. Muitas vezes, o CL não apresenta características morfológicas evidentes na microscopia, o que pode levar a uma dificuldade no momento do diagnóstico. Nesses casos, a técnica de IQ é muito importante. O CL evidencia uma marcação forte para as células neoplásicas por meio de pan-citoqueratina AE1/AE3 e CD45 no componente linfoplasmocitário. Além desses dois marcadores, EMA e CD138 podem ser positivos em ambos os componentes, com p40, p63 e p53 exclusivamente nas células malignas. O CD138 parece estar associado com o grau de diferenciação celular no CL, quanto mais células indiferenciadas presentes no espécime mais fraca é a marcação⁴⁸⁻⁵⁰. No presente estudo, observamos um caso de CL positivo para VEB, afetando o seio maxilar, região pela qual este tumor parece ter mais associação com este agente viral. Além desses marcadores, aumentando o espectro imunofenotípico, realizamos a análise de SMARCB1/INI1, onde notamos expressão intacta. Os carcinomas deficientes de SMARCB1/INI1 tem um prognóstico desfavorável, sendo principalmente detectados dentro de um grupo de neoplasias agressivas do trato

nasossinusal¹⁶. A taxa de sobrevida específica da doença é de 50% em 5 anos^{7,17,48-51}.

O CC é considerado como uma neoplasia maligna de baixo grau, incomum, relatado previamente em parede abdominal, pele e região genital. Na cavidade oral, o CC tem predileção pela mucosa aderida, com núcleo de desenvolvimento no mucoperiósteo, especialmente na gengiva mandibular. O que difere essa lesão de um CEC convencional é o comportamento localmente agressivo, com padrão de crescimento endofítico (em escavação)⁵²⁻⁵⁶. O diagnóstico de CC é desafiador, devido a que seu comportamento localmente destrutivo não se correlaciona com a morfologia “aparentemente benigna” das células tumorais. O desafio ainda é maior diante de biópsias pequenas. Assim, o diagnóstico depende estritamente de cuidadosa correlação clinicopatológica. Em nosso estudo, a localização intraoral mais comum foi gengiva e rebordo alveolar, confirmando essa predileção por estruturas que envolvam o periodonto ou mucoperiósteo. Laringe e faringe, foram também outros locais afetados pelo CC. Não há estudos avaliando a associação do CC com o HPV. Allon et al.²⁰ (2019) avaliando 5 casos de CC, observaram que todos foram positivos para CK5/6 e p40, com 60% sendo positivos para p16. No presente estudo, todos os casos de CC foram negativos para HPV (IQ e HIS) e VEB (HIS).

Recentes estudos demonstram que o CECPa apresenta uma predileção pela região de laringe, com esses casos apresentando melhor prognóstico quando comparado com o CECPa do trato nasossinusal⁴³. Em relação à localização intraoral, a gengiva, seguida pela mucosa jugal, tem sido os locais de maior acometimento. Nossos dois casos de CECPa estavam localizados em mucosa jugal e língua. A relação com o HPV na patogênese do CECPa ainda é discutível, pois existem estudos que divergem por região geográfica e metodologia de análise da infecção pelo HPV. Um estudo prévio avaliando 31 casos CECPa afetando o trato aerodigestivo superior, revelou que 2/3 dos casos eram p16 positivos. A maioria dos casos HPV positivos estavam localizados em base de língua e tonsila palatina, locais anatômicos com alta prevalência de infecção pelo HPV⁷³. Outro estudo avaliando 22 casos de CECPa em relação à infecção pelo HPV, observou que 11 casos (50%) foram positivos para este agente viral, mas a maioria para o subtipo HPV 6, seguido pelo subtipo HPV16⁷³. No presente estudo, embora tenhamos visto áreas com “alterações coilocíticas” no epitélio neoplásico do CECPa, todos os casos foram todos negativos para o HPV (IQ e HIS).

O CECAC é uma neoplasia incomum, sendo a sua principal característica microscópica a perda de coesão entre as células epiteliais neoplásicas devido à quebra das pontes intercelulares⁶⁰. No CECAC, a acantólise no epitélio neoplásico pode sugerir um mecanismo diretamente associado com o processo de invasão tumoral.⁵⁸⁻⁶⁰ Um estudo recente avaliou marcadores específicos na tentativa que entender melhor o mecanismo de acantólise no CECAC. Os resultados demonstraram que tanto Claudina-1 (junção celular) e E-caderina (aderência celular) estão reduzidas em áreas acantolíticas do CECAC. Outro trabalho evidencia que esse mecanismo que reduz a expressão de Claudina-1 e E-caderina pode ocorrer devido à superexpressão de FSCN1, avaliados em linhagens celulares, ainda assim, essa superexpressão demandou o aumento de marcadores de transição epitélio-mesênquima, como a vimentina e N-caderina.^{60,74} O diagnóstico diferencial pode incluir tumores vasculares e glandulares, assim, a utilização de CD34, CD31, ERG, Fli-1 e citoqueratinas de alto e baixo peso molecular, podem auxiliar no processo diagnóstico. No presente estudo, todos os casos foram positivos para pan-citoqueratina AE1/AE3, CK8/18 e CK34βE12 e negativos para p40 e p53, bem como para HPV por HIS.

Quando o espécime de CECCP analisado apresenta um componente predominantemente de células claras, pode apresentar um desafio diagnóstico com implicações no tratamento e prognóstico. Inicialmente, precisa-se de uma análise cuidadosa da aparência de células claras no tumor, dentre elas podemos citar o acúmulo de água intracelular, a presença de mucina, glicogênio, mucopolissacarídeos, lipídios e alterações de tonofilamentos⁶²⁻⁶⁴. Além desses, fagocitose de materiais estranhos, degeneração hidrópica e escassez de organelas intracelulares são outros possíveis fatores para essa característica de citoplasma claro. Na cavidade oral, além do CEC, basicamente outros três grandes grupos de neoplasias podem vir a apresentar essa morfologia, como os tumores de glândula salivar, tumores odontogênicos e tumores metastáticos. Dentre os tumores de origem glandular podemos citar o carcinoma epitelial-mioepitelial, carcinoma mioepitelial, carcinoma de células acinares, carcinoma mucoepidermóide e carcinoma de células claras⁶²⁻⁶⁴. O carcinoma odontogênico de células claras, dentro do grupo de tumores odontogênicos, e os tumores metastáticos, principalmente de mama, próstata, tireoide e rim, estão na lista de diagnóstico diferencial. A aparência de células claras pode ser avaliada eficientemente por meio de PAS, azul de Alcian e mucicarmin. Alguns casos demonstram a presença de glicogênio intracelular, porém, não é um achado

constante, diferente de conteúdo de mucina, o qual se mostra uniformemente negativo, tal como evidenciado no presente estudo. Para exclusão de possível tumor metastático, a realização dos marcadores vimentina, CD10, RCC e PAX-8, expressos no carcinoma renal de células claras, são relevantes. Para diferenciar de um melanoma a expressão de S100, melan-A e HMB-45 é conclusivo. A expressão de pan-citoqueratina AE1/AE3, CK5/6, CK7/18, CK8/18, EMA, p40 e p63 auxiliam na distinção entre uma origem de epitélio de superfície e glandular⁶²⁻⁶⁴. Um pior prognóstico depende de alguns fatores para o CECCC, como tempo de recorrência menor que seis meses, profundidade tumoral maior que 10mm, envolvimento de linfonodos e envolvimento perineural⁶³.

Outra variante do CECCP, ainda não reconhecida pela OMS^{6,22} é o CEC Pig, devido a sua raridade e poucos estudos publicados a respeito. A presença de melanócitos não neoplásicos em neoplasias não melanocíticas tem sido descrita em carcinomas neuroendócrinos, carcinoma de mama, tumores odontogênicos e tumores de glândulas salivares. A associação de melanócitos não neoplásicos com o CEC já foi descrita em algumas regiões anatômicas, como pele, colo uterino, cavidade nasal e conjuntiva. Vale ressaltar que nesses estudos, não houve diferença no prognóstico quando o CEC Pig foi comparado com o CEC convencional^{69,70,75}. Até o momento, apenas 18 casos de CEC Pig na região de cabeça e pescoço foram relatados na literatura, o que dificulta traçar um perfil clinicopatológico para esse tumor. Estudos prévios têm mostrado que a língua é a localização mais comum para o CEC Pig em boca^{69,70,75}. No presente estudo, os casos de CEC Pig demonstraram envolvimento de língua e orofaringe. OS diagnósticos clínicos diferenciais não consideraram nevos melanocíticos, melanoacantoma ou melanoma. Houve um caso clinicamente diagnosticado como leucoplasia oral, corroborando com estudos prévios.⁷⁵ O surgimento de melanócitos associados ao CEC pode se dar devido a estímulos reativos do próprio microambiente tumoral. O aumento de fatores de crescimento e liberação de citocinas pelas células malignas pode resultar na proliferação de melanócitos e produção subsequente de melanina⁷⁵.

O CEC com fenótipo rabdoide é extremamente raro e complexo no momento do diagnóstico^{76,77}. É composto por células malignas não coesas com grande citoplasma ovóide, pleomórfico, eosinofílico e núcleos excêntricos. Até o momento não há muitos relatos desse grupo de lesões na região de cabeça e pescoço⁷⁶. Existe uma dificuldade em diferenciar esse tipo de CEC do CECAc, pois apresentam morfologia

e achados imunoistoquímicos, como acentuada acantólise da porção central do epitélio escamoso. Mas a formação de estruturas semelhantes a glândulas é um achado típico do CECaC e desconhecido no CEC com fenótipo rabdóide. Carcinomas epiteliais com características rabdóides foram descritos em vários locais, incluindo estômago, cólon, pulmão, bexiga, pâncreas e pele^{76,77}. Um estudo abordando a técnica de IQ em um CEC com fenótipo rabdóide afetando a gengiva evidenciou a positividade nas células não coesas para pan-citoqueratina, CK5/6, CK14, p63 e Vimentina. Enquanto os marcadores como ACE, CA125, CA19-9, S-100, HMB45, Melan-A, desmina e H-caldesmon foram negativos. Já o componente de CEC convencional foi positivo para pan-citoqueratina e p63⁷⁶. Nosso caso demonstrou positividade para pan-citoqueratina, Vimentina e p53. Embora a falta de informação sobre a sobrevida deste grupo de CEC, em nosso caso o paciente faleceu devido a doença, assim como um estudo relata que em geral as lesões malignas com fenótipo rabdóide tendem a ser mais agressivas^{76,77}.

A presença da diferenciação neuroendócrina já foi identificada em CEC e lesões precursoras no trato aerodigestivo superior^{65,66}. No entanto, ainda é pouco conhecido o potencial biológico da expressão de marcadores neuroendócrinos no CEC convencional com diferenciação neuroendócrina (CDN)^{65,66}. Atualmente há uma necessidade na utilização da técnica de IQ para diferenciar carcinomas de células pequenas do pulmão de CEC, adenocarcinomas e carcinomas neuroendócrinos. Após uma análise em 214 casos de CECorof e 82 não orofaríngeos, utilizando marcadores de IQ específicos para células neuroendócrinas, evidenciou negatividade em todos os casos para cromogranina-A, 0,9% de sinaptofisina e 2,3% de SCC CD56 positivo. Sendo o CD56 menos específicos do que os outros marcadores^{65,66}. Nosso caso evidenciou positividade para pan-citoqueratina, EMA, p40, S100, p53, CD99, cromogranina-A, CK18, citoqueratina de alto peso molecular, CD56 raras células positivas. Devido a escassez de detalhes deste grupo de lesões malignas, não se sabe o prognóstico em paciente com CDN em cabeça e pescoço.

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, Altiock 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):159-63.

APÊNDICE A – TABELA 02

Tabela 02. Dados clinicopatológicos, histoquímicos, imunoistoquímicos e de Hibridização <i>in situ</i> das variantes histopatológica do carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço.														
Carcinoma Verrucoso	Sexo	Idade	Localização	Tabagismo	Estilismo	Hipótese Diagnóstica	Estágio Clínico	Tamanho do tumor (T)	Linfonodos envolvidos (N)	Metástase	Tratamento	Recorrência	Resultados: imunoistoquímica e histoquímica	Status e Follow-up
Caso 01	M	69	Lábio inferior	sim	não	CEC	I	T1	N0	não	Cirur	não	CK AE1/AE3+, EMA+, p40+, 34bE12+, p16-, VIM-, p53-, s100-, AML-, CK 8/18-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	MPD, 11days
Caso 02	M	49	Soalho bucal	NR	NR	CEC	IVB	T4	N3	sim	Cirur+RTX	não	CK AE1/AE3+, EMA+, p40+, p53+, CK 8/18+, 34bE12+, p16-, VIM-, s100-, AML-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	MPD, 2mo
Caso 03	F	76	Mucosa jugal	não	não	CV	NR	NR	NR	NR	NR	NR	CK AE1/AE3+, EMA+, p40+, p53+, CK 8/18+, 34bE12+, p16-, VIM-, s100-, AML-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	NR
Caso 04	F	96	Rebordo alveolar	não	não	CV	NR	NR	NR	NR	NR	NR	CK AE1/AE3+, EMA+, p40+, 34bE12+, p16-, VIM-, p53-, s100-, AML-, CK 8/18-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	NR
Caso 05	F	73	Lábio inferior	sim	não	CV	NR	T1	NR	NR	NR	NR	CK AE1/AE3+, EMA+, p40+, 34bE12+, p16-, VIM-, p53-, s100-, AML-, CK 8/18-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	NR
Caso 06	M	59	Maxilla (intraósseo)	sim	não	CV	NR	NR	NR	NR	NR	NR	CK AE1/AE3+, EMA+, p40+, 34bE12+, p16-, VIM-, p53-, s100-, AML-, CK 8/18-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	NR
Caso 07	M	63	Rebordo alveolar (maxila)	NR	NR	CEC	NR	NR	NR	NR	NR	NR	CK AE1/AE3+, EMA+, p40+, 34bE12+, p16-, VIM-, p53-, s100-, AML-, CK 8/18-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	NR
Caso 08	F	71	Gengiva e Mucosa jugal	NR	NR	CEC	NR	NR	NR	NR	NR	NR	CK AE1/AE3+, EMA+, p40+, 34bE12+, p16-, VIM-, p53-, s100-, AML-, CK 8/18-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	NR
Caso 09	M	56	Região retromolar	NR	NR	Blastomicose	NR	T1	NR	NR	NR	NR	CK AE1/AE3+, EMA+, p40+, 34bE12+, p16-, VIM-, p53-, s100-, AML-, CK 8/18-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	NR
Caso 10	M	62	Rebordo alveolar	NR	NR	CV	NR	NR	NR	NR	NR	NR	CK AE1/AE3+, EMA+, p40+, p53+, CK 8/18+, 34bE12+, p16-, VIM-, s100-, AML-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	NR
Caso 11	F	71	Língua	NR	NR	Leucoplasia oral	NR	NR	NR	NR	NR	NR	CK AE1/AE3+, EMA+, p40+, 34bE12+, p16-, VIM-, p53-, s100-, AML-, CK 8/18-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	NR
Caso 12	M	89	Língua	NR	NR	CV	NR	T1	NR	NR	NR	NR	CK AE1/AE3+, EMA+, p40+, 34bE12+, p16-, VIM-, p53-, s100-,	NR

														AML-, CK 8/18-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	
Caso 13	F	80	Rebordo alveolar	NR	NR	CV	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	CK AE1/AE3+, EMA+, p40+, 34bE12+, p16-, VIM-, p53-, s100-, AML-, CK 8/18-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	NR
Caso 14	F	78	Palato mole	NR	NR	Leucoplasia verrucosa prolif.	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	CK AE1/AE3+, EMA+, p40+, 34bE12+, p16-, VIM-, p53-, s100-, AML-, CK 8/18-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	NR
Caso 15	M	56	Língua	NR	NR	Candidíase hiperplásica	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	CK AE1/AE3+, EMA+, p40+, p53+, CK 8/18+, 34bE12+, p16-, VIM-, s100-, AML-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	NR
Caso 16	F	60	Mucosa jugal	NR	NR	CV	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	CK AE1/AE3+, EMA+, p40+, p53+, CK 8/18+, 34bE12+, p16-, VIM-, s100-, AML-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	NR
Caso 17	M	70	Mucosa jugal	NR	NR	CV	NR	T1	NR	NR	NR	NR	NR	CK AE1/AE3+, EMA+, p40+, 34bE12+, p16-, VIM-, p53-, s100-, AML-, CK 8/18-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	NR
Caso 18	M	46	Língua	NR	NR	Hiperceratose	NR	T1	NR	NR	NR	NR	NR	CK AE1/AE3+, EMA+, p40+, 34bE12+, p16-, VIM-, p53-, s100-, AML-, CK 8/18-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	NR
Caso 19	M	65	Comissura labial	NR	NR	CV	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	CK AE1/AE3+, EMA+, p40+, p53+, CK 8/18+, 34bE12+, p16-, VIM-, s100-, AML-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	NR
Caso 20	M	61	Língua	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	CK AE1/AE3+, EMA+, p40+, p53+, CK 8/18+, 34bE12+, p16-, VIM-, s100-, AML-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	NR
Caso 21	F	83	Soalho bucal	NR	NR	CV	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	CK AE1/AE3+, EMA+, p40+, p53+, CK 8/18+, 34bE12+, p16-, VIM-, s100-, AML-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	NR
CEC basalóide	Sexo	Idade	Localização	Tabagismo	Estilismo	Hipótese Diagnóstica	Estágio Clínico	Tamanho do tumor (T)	Linfonodos envolvidos (N)	Metástase	Tratamento	Recorrência		Resultados: imunoistoquímica e histoquímica	Status e Follow-up
Caso 01	F	90	Palato duro	sim	não	CEC	NR	NR	NR	NR	Cirur+RTX	sim		CK AE1/AE3+, EMA+, p16+, p40+, CK 8/18+, 34bE12+, VIM-, p53-, S100-, AML-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV (LR)-, EBER -	MPD, 1mo
Caso 02	M	63	Epiglote	não	não	CEC	IVA	T4	N2	não	Cirur+RTX	sim		CK AE1/AE3+, EMA+, p40+, CK 8/18+, 34bE12+, VIM-, p16-, p53-, S100-, AML-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV (LR)-, EBER -	MPD, 15mo
Caso 03	M	41	Tonsila Palatina	sim	não	CEC	II	T2	N0	não	Cirur+RTX+Q T	não		CK AE1/AE3+, p16+, p40+, CK 8/18+, p53+, S100+, 34bE12+, VIM-, EMA-, AML-, HPV(ws)+, HPV(HR)+, HPV (LR)-, EBER -	vivo, 58mo

Caso 04	M	51	Língua	sim	sim	CEC	II	T2	N0	sim	Cirur+RTX+Q T	sim	CK AE1/AE3+, EMA+, p40+, CK 8/18+, 34bE12+, VIM-, p16-, p53-, S100-, AML-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV (LR)-, EBER -	MPD, NR
Caso 05	M	76	Região retromolar	não	não	CEC	IVA	T4	N1	não	Cirur+RTX	não	CK AE1/AE3+, EMA+, p16+, p40+, CK 8/18+, AML+, p53+, 34bE12+, VIM-, S100-**, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV (LR)-, EBER -	MPD, 8mo
Caso 06	M	52	Língua	NR	NR	CEC	NR	NR	NR	NR	NR	NR	CK AE1/AE3+, EMA+, VIM+, p53+, AML+, p40+, CK 8/18+, 34bE12+, S100-, p16-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV (LR)-, EBER -	NR
Caso 07	F	62	Palato mole	sim	NR	CEC	NR	NR	NR	NR	NR	NR	CK AE1/AE3+, EMA+, p16+, p40+, CK 8/18+, AML+, p53+, 34bE12+, VIM-, S100-**, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV (LR)-, EBER -	NR
Caso 08	M	58	Rebordo alveolar	NR	NR	CEC	IV	T4	N3	M0	NR	NR	CK AE1/AE3+, EMA+, p16+, p40+, CK 8/18+, 34bE12+, VIM-, p53-, S100-, AML-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV (LR)-, EBER -	NR
Caso 09	F	83	Rebordo alveolar (maxila)	NR	NR	CEC	NR	NR	NR	NR	NR	NR	CK AE1/AE3+, EMA+, p40+, CK 8/18+, 34bE12+, VIM-, p16-, p53-, S100-, AML-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV (LR)-, EBER -	NR
Caso 10	M	43	Maxila	NR	NR	CEC	NR	NR	NR	NR	NR	NR	CK AE1/AE3+, EMA+, p40+, CK 8/18+, 34bE12+, VIM-, p16-, p53-, S100-, AML-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV (LR)-, EBER -	NR
Caso 11	M	38	Rebordo alveolar (mandíbula)	NR	NR	CEC	NR	NR	NR	NR	NR	NR	CK AE1/AE3+, EMA+, p16+, p40+, CK 8/18+, AML+, p53+, 34bE12+, VIM-, S100-**, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV (LR)-, EBER -	NR
Caso 12	M	71	Língua	NR	NR	CEC	NR	NR	NR	NR	NR	NR	CK AE1/AE3+, EMA+, p40+, CK 8/18+, 34bE12+, VIM-, p16-, p53-, S100-, AML-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV (LR)-, EBER -	NR
Caso 13	M	58	Língua	sim	sim	CEC	NR	T1	NR	NR	NR	NR	CK AE1/AE3+, EMA+, p16+, p40+, CK 8/18+, AML+, p53+, 34bE12+, VIM-, S100-**, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV (LR)-, EBER -	NR
CEC de células fusiformes	Sexo	Idade	Localização	Tabagismo	Estilismo	Hipótese Diagnóstica	Estágio Clínico	Tamanho do tumor (T)	Linfonodos envolvidos (N)	Metástase	Tratamento	Recorrência	Resultados: imunoistoquímica e histoquímica	Status e Follow-up
Caso 01	M	60	Região retromolar	sim	sim	CEC	IVA	T4	N1	não	Cirur+RTX+Q T	sim	CK AE1/AE3+, VIM+, EMA+, p40+, p53+, CK 8/18+, 34bE12+, p16-, S100-, AML-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	MPD, 19mo
Caso 02	M	72	Língua	não	não	CEC	NR	NR	NR	não	Cirur	NR	CK AE1/AE3+, VIM+, p53+, AML+*, CK 8/18+, 34bE12+, p16-, p40-, EMA-, S100-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	vivo, 30mo
Caso 03	M	83	Pregas vocais	não	não	CEC	NR	NR	NR	não	Cirur	não	CK AE1/AE3+, VIM+, p40+, p53+, EMA+, 34bE12+, p16-, AML-, S100-, CK8/18-, HPV(ws)+, HPV(HR)+, HPV(LR)-, EBER-	vivo, 48mo

Caso 04	M	58	Palato mole	NR	NR	CEC	NR	T1	NR	NR	NR	NR	CK AE1/AE3- (spindle cells), VIM+, p53+, aSMA+, EMA+ (focal), p63+ (focal), CK7-, CD138-, CD34-, CD56-, S100-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	NR
Caso 05	M	64	Língua	sim	NR	CEC	NR	NR	NR	NR	NR	NR	CK AE1/AE3- (spindle cells), VIM+, p53+, aSMA+, EMA+ (focal), p63+ (focal), CK7-, CD138-, CD34-, CD56-, S100-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	NR
Caso 06	M	39	Soalho bucal	NR	NR	CEC	NR	T3	N1	NR	NR	NR	CK AE1/AE3+, VIM+, EMA+, p40+, p53+, CK 8/18+, 34bE12+, p16-, S100-, AML-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	NR
Caso 07	M	58	Língua	sim	sim	Leyomiosarcoma/metastasis renal	NR	NR	NR	NR	NR	NR	CK AE1/AE3+, VIM+, EMA+, p40+, p53+, CK 8/18+, 34bE12+, p16-, S100-, AML-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	NR
Caso 08	M	62	Região retromolar	NR	NR	CEC	NR	NR	NR	NR	NR	NR	CK AE1/AE3- (spindle cells), VIM+, p53+, aSMA+, EMA+ (focal), p63+ (focal), CK7-, CD138-, CD34-, CD56-, S100-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	
Carcinoma Adenoescamoso	Sexo	Idade	Localização	Tabagismo	Estilismo	Hipótese Diagnóstica	Estágio Clínico	Tamanho do tumor (T)	Linfonodos envolvidos (N)	Metástase	Tratamento	Recorrência	Resultados: imunoistoquímica e histoquímica	Status e Follow-up
Caso 01	M	76	Rebordo alveolar	sim	não	CEC	II	T2	N0	sim	Cirur	NR	CK AE1/AE3+, EMA+, p53+,CK8/18+, 34bE12+, p16-, p40-, VIM-, S100-, AML-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	vivo, 8mo
Caso 02	M	55	Soalho bucal	sim	sim	CEC	IVA	T1	N2	não	Cirur+ RTX+ QT	sim	CK AE1/AE3+, EMA+, p40+, 34bE12+, p16-, p53-, CK8/18-, VIM-, S100-, AML-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	MPD, 36mo
Caso 03	M	47	Palato duro	sim	sim	CEC	NR	NR	NR	não	Cirur+ RTX+ QT	sim	CK AE1/AE3+, EMA+, p40+, CK8/18+, 34bE12+, p16-, p53-, VIM-, S100-, AML-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	MPD, 1mo
Caso 04	F	61	Palato mole	sim	sim	CEC	NR	NR	NR	não	Cirur+ RTX+ QT	sim	CK AE1/AE3+, EMA+, p40+, CK8/18+, 34bE12+, p16-, p53-, VIM-, S100-, AML-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	MPD, 16mo
Caso 05	M	59	Palato mole	sim	não	CEC	IVB	T4	N1	não	Cirur+ RTX+ QT	sim	CK AE1/AE3+, p53+, 34bE12+, p16-, p40-, CK8/18-, EMA -, VIM-, S100-, AML-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	MPD, 22mo
Caso 06	M	45	Palato duro	NR	NR	CEC	NR	T2	NR	não	NR	não	CK AE1/AE3+, CK 5/6+, CK7+, CK8/18, p40+, AML-, p53-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER+	vivo, 24 mo
CEC de células claras	Sexo	Idade	Localização	Tabagismo	Estilismo	Hipótese Diagnóstica	Estágio Clínico	Tamanho do tumor (T)	Linfonodos envolvidos (N)	Metástase	Tratamento	Recorrência	Resultados: imunoistoquímica e histoquímica	Status e Follow-up

Caso 01	M	74	Lábio inferior	sim	sim	CEC	NR	NR	NR	sim	Cirur	sim	CK AE1/AE3+, EMA+, p40+, 34bE12+, p16-, p53-, VIM-, S100-, AML-, CK8/18-, PAS-, PAS-D-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	vivo, 8mo
Caso 02	M	60	Lábio inferior	sim	não	CEC	NR	NR	NR	não	Cirur	não	CK AE1/AE3+, EMA+, p40+, 34bE12+, p16-, p53-, VIM-, S100-, AML-, CK8/18-, PAS-, PAS-D-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	NR
Caso 03	M	63	Tonsila Palatina	não	não	SCC-CC	IVA	T1	N2	sim	Cirur+RTX	NR	CK AE1/AE3+, EMA+, p40+, p53+, CK8/18+, 34bE12+, PAS+, p16-, VIM-, S100-, AML-, PAS-D-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	NR
Caso 04	M	55	Faringe	NR	NR	CEC	III	T3	N1	sim	Cirur	não	CK AE1/AE3+, EMA+, p40+, p53+, CK8/18+, 34bE12+, PAS+, p16-, VIM-, S100-, AML-, PAS-D-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	MPD, 26mo
Carcinoma Cuniculado	Sexo	Idade	Localização	Tabagismo	Estilismo	Hipótese Diagnóstica	Estágio Clínico	Tamanho do tumor (T)	Linfonodos envolvidos (N)	Metástase	Tratamento	Recorrência	Resultados: imunoistoquímica e histoquímica	Status e Follow-up
Caso 01	M	42	Gengiva	sim	sim	CEC	I	T1	N0	não	Cirur	não	CK AE1/AE3+, EMA+, 34bE12+, p40-, p53-,VIM-, S100-, AML-, CK 8/18-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	vivo, 14mo
Caso 02	M	66	Pregas vocais	sim	sim	CEC	IVA	T4	N2	não	Cirur+RTX	sim	CK AE1/AE3+, EMA+, p40+, 34bE12+, p53-,VIM-, S100-, AML-, CK 8/18-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	MPD, 20days
Caso 03	F	67	Rebordo alveolar (mandíbula)	não	não	CEC	NR	NR	NR	não	Cirur	não	CK AE1/AE3+, EMA+, p40+, 34bE12+, p53-,VIM-, S100-, AML-, CK 8/18-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	vivo, 12mo
Caso 04	M	41	Palato duro	sim	sim	Actinãomicose	NR	T1	NR	NR	NR	NR	CK AE1/AE3+, EMA+, 34bE12+, p40-, p53-,VIM-, S100-, AML-, CK 8/18-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	NR
Carcinoma Linfoepitelial	Sexo	Idade	Localização	Tabagismo	Estilismo	Hipótese Diagnóstica	Estágio Clínico	Tamanho do tumor (T)	Linfonodos envolvidos (N)	Metástase	Tratamento	Recorrência	Resultados: imunoistoquímica e histoquímica	Status e Follow-up
Caso 01	F	82	Lábio inferior	não	não	CEC	NR	NR	NR	não	Cirur	não	CK AE1/AE3+, EMA+, p63+, CD138+, p53+, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	vivo, 24mo
Caso 02	M	50	Seio maxilar	não	não	CEC	NR	NR	NR	não	Cirur+RTX	não	CK AE1/AE3+, CK 5/6+, EMA+, CK7+, p40+, AML-, p53-, s100-, VIM-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER+	vivo, 25mo
Caso 03	F	51	Região retromolar (mandible)	não	não	CEC	NR	NR	NR	NR	Cirur+RTX	NR	CK AE1/AE3+, EMA+, VIM+, p63+, AML-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	
CEC papilar	Sexo	Idade	Localização	Tabagismo	Estilismo	Hipótese Diagnóstica	Estágio Clínico	Tamanho do tumor (T)	Linfonodos envolvidos (N)	Metástase	Tratamento	Recorrência	Resultados: imunoistoquímica e histoquímica	Status e Follow-up

Caso 01	F	70	Mucosa jugal	não	não	CEC	NR	T1	NR	NR	NR	NR	CK AE1/AE3+, EMA+, p40+, p53+, p16-, EMA-, S100-, VIM-, AML-, CK 8/18-, 34bE12-**, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	NR
Caso 02	M	58	Língua	não	não	CEC	NR	T1	NR	NR	NR	NR	CK AE1/AE3+, EMA+, p40+, p53+, p16-, EMA-, S100-, VIM-, AML-, CK 8/18-, 34bE12-**, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	NR
CEC acantolítico	Sexo	Idade	Localização	Tabagismo	Estilismo	Hipótese Diagnóstica	Estágio Clínico	Tamanho do tumor (T)	Linfonodos envolvidos (N)	Metástase	Tratamento	Recorrência	Resultados: imunoistoquímica e histoquímica	Status e Follow-up
Case 01	M	56	Laringe	não	sim	CEC	IVA	T4	N1	não	Cirur+RTX	sim	CK AE1/AE3+, EMA+, CK 8/18+, 34bE12+, p16-, VIM-, p40-, p53-, S100-, AML-, PAS-, PAS-D-, Mucicarmin-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	MPD, 11mo
Case 02	M	61	Lábio inferior	NR	NR	NR	NR	T1	NR	NR	NR	NR	CK AE1/AE3+, EMA+, CK 8/18+, 34bE12+, p16-, VIM-, p40-, p53-, S100-, AML-, PAS-, PAS-D-, Mucicarmin-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	NR
CEC pigmentado	Sexo	Idade	Localização	Tabagismo	Estilismo	Hipótese Diagnóstica	Estágio Clínico	Tamanho do tumor (T)	Linfonodos envolvidos (N)	Metástase	Tratamento	Recorrência	Resultados: imunoistoquímica e histoquímica	Status e Follow-up
Caso 01	M	65	Língua	sim	não	Hiperplasia fibrosa	NR	T1	NR	NR	NR	NR	CKAE1/AE3+, EMA+, p53+, S100+, HMB45+, VIM-, AML-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	NR
Caso 02	M	50	Palato mole	sim	sim	Leucoplasia oral	NR	T2	NR	NR	NR	NR	CKAE1/AE3+, EMA+, p53+, S100+, HMB45+, VIM-, AML-, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	NR
CEC com diferenciação rabdóide	Sexo	Idade	Localização	Tabagismo	Estilismo	Hipótese Diagnóstica	Estágio Clínico	Tamanho do tumor (T)	Linfonodos envolvidos (N)	Metástase	Tratamento	Recorrência	Resultados: imunoistoquímica e histoquímica	Status e Follow-up
Caso 01	F	77	Seio piriforme	sim	sim	CEC	NR	NR	NR	sim	Cirur+RTX+Q T	não	CK AE1/AE3+, p53+, VIM+, p16-, EMA-, p40-, CD56-*, S100-, AML-, CK 8/18-, 34bE12-**, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	MPD, 22days
CEC com diferenciação neuroendócrina	Sexo	Idade	Localização	Tabagismo	Estilismo	Hipótese Diagnóstica	Estágio Clínico	Tamanho do tumor (T)	Linfonodos envolvidos (N)	Metástase	Tratamento	Recorrência	Resultados: imunoistoquímica e histoquímica	Status e Follow-up
Case 01	F	61	Canal lacrimal	não	não	CEC	NR	NR	NR	NR	Cirur	NR	CK AE1/AE3+, EMA+, p40+, p53+, S100+, p16+, CD99+, Cromo+, CK 8/18+, 34bE12+, VIM-, AML-, CD56-**, Sinapto-**, HPV(ws)-, HPV(HR)-, HPV(LR)-, EBER-	NR

CEC, carcinoma espinocelular; F, feminino; M, masculino; NR, não relatado; Cirur, ressecção cirúrgica; QT, quimioterapia; HPV, Papilomavírus humano; EBER, Vírus Epstein-Barr; VIM, vimentina; AML, actina de músculo liso; Cromo, Cromogranina; Sinapto, Sinaptofisina; MPD, Morte pela doença; HR, alto risco; LR, baixo risco; WS, amplo espectro.

Fonte: Elaborado pelo autor



**USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DE RIBEIRÃO
PRETO DA USP -**



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Perfil molecular, imunoistoquímico e hibridização in situ das desordens potencialmente malignas orais e carcinomas espinocelulares de cabeça e pescoço

Pesquisador: Jorge Esquiche León

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 40393820.7.0000.5440

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE DE SAO PAULO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.443.409

Apresentação do Projeto:

O carcinoma espinocelular (CEC) de cabeça e pescoço (CECCP) é o quinto tipo de câncer mais comum. Interessantemente, dependendo do local anatômico envolvido, o CEC pode apresentar distintos perfis no comportamento biológico e prognóstico. A etiologia do CECCP é multifatorial, porém o CEC oral (CECO) está intimamente relacionado com consumo do tabaco e álcool, enquanto o CEC orofaríngeo (CECorof) está frequentemente associado com infecção pelo papilomavírus humano (HPV). O microambiente imune tumoral do CECCP parece mostrar um perfil imunossupressor; assim, o entendimento dos mecanismos que regulam às populações de linfócitos infiltrantes de tumor (LIT) e células dendríticas (CDs), especialmente as moléculas integrantes de superfamília B7/CD28, com implicações imunoterapêuticas, é essencial. Atualmente pouco se sabe sobre o balance de linfócitos T regulatórios (LTregs) e linfócitos T citotóxicos (LTCs) em distribuição tissular em amplas séries de CECO e CECorof, especialmente avaliando se a presença do HPV pode modular o perfil destas populações imunes, notavelmente os LIT. Diante do exposto, o objetivo do nosso estudo será analisar, por imunoistoquímica (IQ), moléculas da família B7 (CD80, CD86, PD-L1, PD-L2), CD28 (CD28, CTLA-4, PD-1), LTregs (CD4, CD25, FoxP3), LTCs (CD8, granzima B, perforina) no CECO (n=109) e CECorof (n=126). Uma vez que todos esses casos já foram avaliados por hibridização in situ (HIS) para HPV, neste estudo todos os casos serão avaliados por HIS para identificar carcinomas HPV+transcrionalmente

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO

Bairro: MONTE ALEGRE

CEP: 14.048-900

UF: SP

Município: RIBEIRAO PRETO

Telefone: (16)3602-2228

Fax: (16)3633-1144

E-mail: cep@hcrp.usp.br



**USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DE RIBEIRÃO
PRETO DA USP -**



Continuação do Parecer: 4.443.409

ativos, por reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR), bem como pela expressão da proteína retinoblastoma (RB). Nossos resultados visam contribuir com a elucidação da patogênese do CECO e CECorof, e determinar se diferenças na infiltração de subpopulações de LIT e CDs, em correlação com a oncogênese viral (HPV), focando fatores prognósticos e terapêuticos, podem explicar o comportamento biológico destes tumores.

Objetivo da Pesquisa:

Os objetivos do presente projeto serão a imunocaracterização do balance de LTregs e LTCs, das moléculas de ponto de verificação ("checkpoints") imunes da superfamília B7/CD28, em correlação com o perfil do HPV transcricionalmente ativo em uma ampla série de CECCP e desordens potencialmente malignas orais (DPMOs), estabelecendo associações clinicopatológicas, com implicações prognósticas e visando o desenvolvimento de estratégias imunoterapêuticas.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: O estudo será realizado em blocos parafinados de amostras que já foram excisadas como parte do tratamento realizado no paciente. Os espécimes serão devidamente armazenados em local adequado identificados por códigos, garantindo a preservação do material e seu anonimato visando diminuir minimizar os riscos. O material ficará sob a guarda do Prof. Dr. Jorge Esquiche León e do Prof. Dr. Alfredo Ribeiro da Silva, os quais ficarão responsáveis pela autorização do uso do material.

Benefícios:

Estudos desta natureza são importantes porque as associações clinico-patológicas que serão realizadas podem esclarecer o papel e participação do sistema imune na patogênese destes tumores, focando fatores terapêuticos e prognósticos para o paciente.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Será realizado um estudo o qual o número total de blocos parafinados de carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço e desordens potencialmente malignas orais será levantado no período de Junho de 2020 à Dezembro de 2023, as amostras do nosso estudo são pertencentes ao departamento de Patologia do HCFMUSP-RP. Serão feitos cortes histológicos (3m de espessura) obtidos de tecidos fixados em formol e emblocados em parafina, oriundos de biópsias excisionais realizadas previamente e independentemente da pesquisa. Sendo um estudo retrospectivo e baseado na análise de espécimes de arquivo, não haverá contato direto com os pacientes. Devido ao período relativamente longo coberto pelo critério de seleção das amostras e pelo tipo de material, não será possível localizar os voluntários e abordá-los para aplicar o termo de

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO

Bairro: MONTE ALEGRE

CEP: 14.048-900

UF: SP

Município: RIBEIRAO PRETO

Telefone: (16)3602-2228

Fax: (16)3633-1144

E-mail: cep@hcrp.usp.br



**USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DE RIBEIRÃO
PRETO DA USP -**



Continuação do Parecer: 4.443.409

consentimento livre e esclarecido (TCLE). Todos os blocos serão devidamente identificados e a identidade dos pacientes será preservada. Os blocos passarão novamente por revisão histológica e após isso será realizado a técnica da construção dos microarranjos (TMAs) para realização da técnica de imunoistoquímica com os devidos anticorpos. Em um segundo momento para identificação do envolvimento viral nessas amostras será realizada a técnica de Hibridização in situ para Papilomavírus Humano. A análise estatística será feita utilizando um pacote estatístico previamente definido, assim como testes estatísticos devidamente selecionados, adotando um nível de significância de $p < 0,05$.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Documentos devidamente apresentados. Solicita a dispensa de aplicação do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Sendo um estudo retrospectivo e baseado na análise de espécimes de arquivo, não haverá contato direto com os pacientes. Devido ao período relativamente longo coberto pelo critério de seleção das amostras e pelo tipo de material, não será possível localizar os voluntários e abordá-los para aplicar o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

Recomendações:

não se aplica

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Diante do exposto e à luz da Resolução CNS 466/2012, o projeto de pesquisa, assim como a solicitação de dispensa de aplicação do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, podem ser enquadrados na categoria APROVADO.

Considerações Finais a critério do CEP:

Projeto Aprovado: Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados ao CEP, relatórios parciais anuais referentes ao andamento da pesquisa e relatório final ao término do trabalho. Qualquer modificação do projeto original deve ser apresentada a este CEP em nova versão, de forma objetiva e com justificativas, para nova apreciação.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1644271.pdf	25/11/2020 11:08:44		Aceito

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO

Bairro: MONTE ALEGRE

CEP: 14.048-900

UF: SP

Município: RIBEIRÃO PRETO

Telefone: (16)3602-2228

Fax: (16)3633-1144

E-mail: cep@hcrp.usp.br



**USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DE RIBEIRÃO
PRETO DA USP -**



Continuação do Parecer: 4.443.409

Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_FINAL.pdf	25/11/2020 11:07:17	Jorge Esquiche León	Aceito
Cronograma	Cronograma_de_atividades.pdf	25/11/2020 11:05:51	Jorge Esquiche León	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	25/11/2020 11:03:55	Jorge Esquiche León	Aceito
Orçamento	Ocamento_detalhado.pdf	23/11/2020 10:54:48	Jorge Esquiche León	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Autorizacao_DESCOL.pdf	23/11/2020 10:07:35	Jorge Esquiche León	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	dispensa_TCLE.pdf	23/11/2020 09:49:09	Jorge Esquiche León	Aceito
Outros	DOCUMENTO_UPC.pdf	23/11/2020 09:38:17	Jorge Esquiche León	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RIBEIRAO PRETO, 07 de Dezembro de 2020

**Assinado por:
MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA
(Coordenador(a))**

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO

Bairro: MONTE ALEGRE

CEP: 14.048-900

UF: SP

Município: RIBEIRAO PRETO

Telefone: (16)3602-2228

Fax: (16)3633-1144

E-mail: cep@hcrp.usp.br

Não autorizo a publicação deste trabalho pelo prazo de até 2 anos após a data de defesa

(Direitos de publicação reservado ao autor)

Araraquara, 27 de fevereiro de 2023.

Heitor Albergoni da Silveira