

**FATORES PREDITIVOS DE RUPTURA  
CAPSULAR DE METASTASES CERVICAIS  
EM CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS DE  
BOCA E SUA IMPORTÂNCIA PROGNÓSTICA**

**IVETE FABELO PEREIRA DA SILVA RODRIGUES**

**Tese apresentada à Fundação Antônio  
Prudente para a obtenção do título de Doutor  
em Ciências**

**Área de Concentração: Oncologia**

**Orientador: Prof. Dr. Luiz Paulo Kowalski**

**Co-Orientador: Prof. Dr. Fernando Augusto  
Soares**

**São Paulo**

**2018**

## FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca da Fundação Antônio Prudente

Rodrigues, Ivete Fabelo Pereira da Silva

**Fatores preditivos de ruptura capsular de metástases cervicais em carcinoma de células escamosas de boca e sua importância prognóstica** / Ivete Fabelo Pereira da Silva Rodrigues - São Paulo, 2018.

185p.

Tese (Doutorado)-Fundação Antônio Prudente.

Curso de Pós-Graduação em Ciências - Área de concentração: Oncologia.

Orientador: Luiz Paulo Kowalski

Descritores: 1. Carcinoma de Células Escamosas/Carcinoma, Squamous Cell. 2. Neoplasias Bucais/Mouth Neoplasms. 3. Metástase Linfática/Lymphatic Metastasis. 4. Prognósticos/Prognosis. 5. Imuno-Histoquímica/Immunohistochemistry. 6. Esvaziamento Cervical/Neck Dissection.

## DEDICATÓRIA

A Clovis, companheiro e amigo de todos os momentos, minha eterna gratidão.

A meus pais Mario e Odette (*in memoriam*), pelo amor, carinho, educação, orientação, e apoio recebidos.

A meus avós Joaquim e Rosa (*in memoriam*), pela melhor lembrança.

## **AGRADECIMENTOS**

A Clovis Rodrigues, companheiro e amigo de todos os momentos, pelo amor, amizade, carinho, determinação, dedicação e estímulo em todos os meus empreendimentos.

Ao Prof. Dr. Luiz Paulo Kowalski, orientador, pela oportunidade de realizar este projeto e pelo suporte, paciência e por todos os ensinamentos.

Ao Prof. Dr. Fernando Augusto Soares, co-orientador, pelo estímulo, suporte, generosidade, conhecimento e estímulo para que este projeto tornasse viável.

Ao Dr. Clóvis Antônio Lopes Pinto, pela atenção, ensino, colaboração e compartilhamento de conhecimento no mundo da Anatomia Patológica.

Ao Dr. Hugo Kohler por sua colaboração, generosidade e ensinamento, em especial na área de estatística, que muito contribuiu para a realização deste projeto.

Ao Dr. Mauro Kasuo Ikeda, Dra. Maria do Socorro Soares, Dra. Maria Auxiliadora Bernardi, Dr. Paulo Issamu Sanematsu Jr, Dr. Alexandre Balieiro, Dra. Maria Nirvana da Cruz Formiga, Dr. Marcelo Cavicchioli e Dra. Joilma Rodrigues de Lima pela atenção, dedicação e presteza ao longo dos anos passados no A C Camargo Cancer Center,

A Dr. Paulo Mauricio Soares Pereira, Dr. Mauro Cezar Gaspar Ribeiro, Dra. Fabiana Resende Rodrigues e Dr. Sergio Paulo Pinheiro Der Torossian, pela presteza, amizade e intervenção quando necessária possibilitando um novo rumo a esta caminhada.

À Banca de Acompanhamento, Dr. Marcos Brasilino de Carvalho, Dr. Clovis Antônio Lopes Pinto e Dr. João Gonçalves Filho pelas análises e sugestões apresentadas ao longo deste projeto.

A equipe do Departamento de Anatomia Patológica em especial, Dr. Clovis Pinto e Dra. Maria Dirlei Ferreira de Souza Begnami, pelo estímulo e pela atenção recebida.

A equipe técnica do Departamento de Anatomia Patológica José Ivanildo Neves, Severino, Carlos Ferreira Nascimento e Marina de França Resende, pela colaboração indispensável à realização deste estudo.

As secretarias dos Departamentos de Cirurgia de Cabeça e Pescoço e Anatomia Patológica, Maria Rita Rodrigues e Liliane Cilento, pela atenção e presteza sempre presentes.

À equipe da Pós-Graduação, em especial, Ana Maria Kuninari, Luciana Pitombeira e Vanuza Rodrigues pelo suporte e carinho durante todo este período.

A equipe da Biblioteca, em especial Suely Francisco, Renato Benhossi, Débora Silva e Denis Maimoni, pela presteza, orientação e auxílio sempre disponível.

A equipe do Equipe do SAME, em especial, Dr. Humberto Torloni (*in memoriam*) e Sra. Hirde Contesini, pela disponibilidade e presteza, com que sempre me atenderam.

A Dra. Ana Lucia Francisco, Dr. Juscelino de Freitas Jardim, Agatha Nagli e Raphael Prudente pelo estímulo, apoio e colaboração no decorrer deste projeto.

## RESUMO

Rodrigues IFPS. **Fatores preditivos de ruptura capsular de metástases cervicais em carcinoma de células escamosas de boca e sua importância prognóstica.** São Paulo; 2018. [Tese de Doutorado-Fundação Antônio Prudente].

**OBJETIVO:** O objetivo do presente estudo foi avaliar os fatores preditivos de ruptura capsular (RC) em pacientes com carcinoma oral de células escamosas da cavidade bucal submetidas à ressecção tumoral e ao esvaziamento cervical. O estudo também objetivou o significado prognóstico da ruptura capsular (RC) na sobrevida global e livre de doença e recorrência tumoral. **MÉTODOS:** 212 pacientes submetidos à ressecção tumoral e ao esvaziamento cervical de janeiro de 1990 a dezembro de 2010 foram revisados retrospectivamente. Dados demográficos e clinicopatológicos foram coletados e TMA's foram construídos para realizar estudos imunoistoquímicos com oito biomarcadores (E-caderina,  $\beta$ -catenina, Claudina-7, Vimentina, MMP-2, MMP-9, Ki-67 e VEGF) relacionados à adesão celular, invasão tumoral, proliferação celular e angiogênese. A análise estatística incluiu teste do qui-quadrado ou teste exato de Fisher, método de Kaplan Meier, teste de log-rank e análise multivariada de sobrevida (modelo de riscos proporcionais de Cox). **RESULTADOS:** Dos 212 casos estudados, 119 casos (56,13%) tiveram metástase em linfonodos cervicais e 56 casos (26,42%) apresentaram ruptura capsular no linfonodo metastático. No grupo dos linfonodos metastáticos, a ruptura capsular esteve presente em 47,06%. Das variáveis estudadas, consumo de tabaco, EC, pN, desmoplasia e necrose foram associadas estatisticamente com o risco de metástase dos linfonodos e a ruptura capsular. Houve associação entre a sobrevida global e a sobrevida livre de doença com a presença de ruptura capsular na metástase dos linfonodos cervicais. **CONCLUSÕES:** Os nossos resultados foram semelhantes aos encontrados na literatura. Houve significativa associação

entre EC, cT, cN, pN, invasão vascular sanguínea e linfática, infiltração perineural e desmoplasia e os grupos pN0, pN+RC- e pN+RC+. Houve significativa associação entre consumo de tabaco, EC, pN, desmoplasia e necrose e os grupos pN+RC- e pN+RC+. Apenas a invasão vascular sanguínea mostrou ser um fator de risco independente. A análise das curvas de sobrevida câncer-específica mostrou diferença entre expressão de  $\beta$ -catenina e claudina-7. A extensão extra capsular foi determinante para a sobrevida dos pacientes e sua positividade é um fator de pior prognóstico.

## SUMMARY

Rodrigues IFPS. **[Predictive factors of capsular rupture of cervical metastasis in oral squamous cell carcinoma and its prognostic significance]**. São Paulo; 2018. [Tese de Doutorado-Fundação Antonio Prudente].

**OBJECTIVE:** The aim of the present was to evaluate the predictive factors of capsular rupture (CR) in patients with squamous cell carcinoma of the oral cavity that underwent tumor resection and neck dissection. The study also aimed at the prognostic significance of capsular rupture (CR) on overall, disease-free survival and tumor recurrence. **METHODS:** 212 patients undergoing tumor resection and neck dissection from January 1990 to December 2010 were retrospectively reviewed. Demographic and clinic pathologic data were collected and TMAs were built to perform immunohistochemical studies with eight selected biomarkers (E-cadherin,  $\beta$ -catenin, Claudin-7, Vimentin, MMP-2, MMP-9, Ki-67, and VEGF) related to cell adhesion, tumor invasion, cell proliferation and angiogenesis. Statistical analysis included chi-square and Fisher exact test, Kaplan Meier method, log-rank test and multivariate survival analysis (proportional hazards model of Cox). **RESULTS:** From a total of 212 cases 119 cases (56,13%) had lymph node metastasis and 56 cases (26,42%) had capsular rupture. In the metastatic lymph node (pN+) group, capsular rupture was present in 47,06%. Tobacco consumption, CS, pN-stage, desmoplasia and necrosis were statistically associated with the risk of lymph node metastasis and capsular rupture. Presence of capsular rupture and cervical lymph node metastases showed association with overall survival and disease-free survival. **CONCLUSIONS:** The findings were similar to those found in the literature. CS, cT, cN and pN-stage, angiolymphatic invasion, perineural infiltration and desmoplasia showed significant association with pN0, pN+CR- and pN+CR+

groups. tobacco consumption, CS, pN-stage, desmoplasia and necrosis showed significant association with pN+CR- and pN+CR+ groups. Only angiovascular invasion was considered an independent risk factor. The analysis of cancer-specific survival curves showed a difference between expression of  $\beta$ -catenin and claudin-7. Extra capsular extension was determinant for the survival of patients and its positivity is a worse prognostic factor.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	Tipos de extensão extracapsular.....	6
<b>Figura 2</b>	Modelos histológicos categorizados de ruptura capsular.....	8
<b>Figura 3</b>	Sistema de gradação da extensão extracapsular.....	9
<b>Figura 4</b>	Interações tumor-estroma em carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço.....	25
<b>Figura 5</b>	Status de E-caderina, MMP-2 e MMP-9 na invasão e na metástase. Status de VEGF e MMPs na angiogênese.....	28
<b>Figura 6</b>	Casos de CCE de cavidade oral em TMA (HE e imunoistoquímica.....	54
<b>Figura 7</b>	Imunoexpressão de E-caderina em CCE de cavidade oral.....	67
<b>Figura 8</b>	Imunoexpressão de $\beta$ -catenina em CCE de cavidade oral.....	68
<b>Figura 9</b>	Imunoexpressão de claudina-7 em CCE de cavidade oral.....	69
<b>Figura 10</b>	Imunoexpressão de vimentina em CCE de cavidade oral.....	70
<b>Figura 11</b>	Imunoexpressão de Ki-67 em CCE de cavidade oral.....	71
<b>Figura 12</b>	Imunoexpressão de MMP-9 em CCE de cavidade oral.....	72
<b>Figura 13</b>	Imunoexpressão de VEGF em CCE de cavidade oral.....	73

<b>Figura 14</b>	Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme o estadiamento clínico (EC), na amostra total.....	111
<b>Figura 15</b>	Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme o estadiamento clínico (EC) no grupo pN+RC+.....	112
<b>Figura 16</b>	Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme o estágio cT (T clínico), na amostra total do estudo..	113
<b>Figura 17</b>	Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme o estágio cT (T clínico), no grupo pN+RC+.....	113
<b>Figura 18</b>	Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme o estágio cN (N clínico), na amostra total do estudo.	114
<b>Figura 19</b>	Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme o estágio cN (N clínico), no grupo PN+RC+.....	115
<b>Figura 20</b>	Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme o estágio pT (T patológico), na amostra total do estudo.....	116
<b>Figura 21</b>	Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme o estágio pT (T patológico), no grupo pN+RC-.....	116
<b>Figura 22</b>	Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme o estágio pN (N patológico), na amostra total do estudo.....	117
<b>Figura 23</b>	Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme o estágio pN (N patológico), no grupo pN+RC+.....	118

<b>Figura 24</b>	Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme o tamanho do tumor, na amostra total do estudo....	120
<b>Figura 25</b>	Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme o tamanho do tumor, no grupo pN+RC-.....	120
<b>Figura 26</b>	Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme a espessura tumoral, no grupo pN+RC-.....	121
<b>Figura 27</b>	Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme o grau de diferenciação histológica, na amostra total do estudo.....	122
<b>Figura 28</b>	Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme o status das margens de ressecção, na amostra total do estudo.....	123
<b>Figura 29</b>	Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme o status das margens de ressecção, no grupo pN+RC-.....	123
<b>Figura 30</b>	Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme o status das margens de ressecção, no grupo pN+RC+.....	124
<b>Figura 31</b>	Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) para lateralidade em linfonodos positivos em cadeia contralateral, na amostra total do estudo.....	125
<b>Figura 32</b>	Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) para lateralidade em linfonodos positivos em cadeia contralateral, no grupo pN+RC+.....	125

<b>Figura 33</b>	Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) para lateralidade em linfonodos positivos, recategorizados, na amostra total do estudo.....	126
<b>Figura 34</b>	Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) para lateralidade em linfonodos positivos, recategorizados, no grupo pN+RC+.....	127
<b>Figura 35</b>	Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) para padrão de invasão tumoral, na amostra total do estudo.....	128
<b>Figura 36</b>	Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) para padrão de invasão tumoral, no grupo pN+RC-.....	129
<b>Figura 37</b>	Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme a invasão vascular sanguínea, na amostra total do estudo.....	130
<b>Figura 38</b>	Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme a invasão vascular sanguínea, no grupo pN+RC+....	130
<b>Figura 39</b>	Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme a invasão vascular linfática, na amostra total do estudo.....	131
<b>Figura 40</b>	Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme a invasão perineural, na amostra total do estudo.....	132
<b>Figura 41</b>	Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme a invasão perineural, no grupo pN+RC+.....	132

<b>Figura 42</b>	Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) para expressão de $\beta$ -catenina, na amostra total do estudo.....	135
<b>Figura 43</b>	Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) para expressão de $\beta$ -catenina, no grupo pN+RC-.....	135
<b>Figura 44</b>	Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) para expressão de claudina-7, na amostra total do estudo.....	137
<b>Figura 45</b>	Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) para expressão de claudina-7, no grupo pN+RC-.....	137
<b>Figura 46</b>	Curva ROC aplicada ao modelo preditivo .....	142

## LISTA DE QUADROS E TABELAS

<b>Quadro 1</b>	Definições de termos de depósitos metastáticos em laudos anatomopatológicos.....	9
<b>Quadro 2</b>	Painel de biomaradores.....	53
<b>Tabela 1</b>	Características sociodemográficas da amostra do estudo.....	59
<b>Tabela 2</b>	Características clinicopatológicas da amostra do estudo.....	61
<b>Tabela 3</b>	Características imunoistoquímicas da amostra do estudo.....	66
<b>Tabela 4</b>	Comparação de variáveis sociodemográficas entre categorias quanto aos grupos pN0, pN+RC- e pN+RC+.....	74
<b>Tabela 5</b>	Comparação de variáveis clinicopatológicas entre categorias quanto aos grupos pN0, pN+RC- e pN+RC+.....	76
<b>Tabela 6</b>	Comparação de variáveis imunoistoquímicas entre categorias quanto aos grupos pN0, pN+RC- e pN+RC+.....	85
<b>Tabela 7</b>	Comparação de variáveis sociodemográficas entre categorias quanto aos grupos pN+RC- e pN+RC+.....	88
<b>Tabela 8</b>	Comparação de variáveis clinicopatológicas entre categorias quanto aos grupos pN+RC- e pN+RC+.....	90
<b>Tabela 9</b>	Comparação de variáveis imunoistoquímicas entre categorias quanto aos grupos pN+RC- e pN+RC+.....	99

<b>Tabela 10</b>	Tabela de Mínimo, Média, Mediana, Máxima e Desvio Padrão nos 212 casos do estudo.....	103
<b>Tabela 11</b>	Comparação entre categorias quanto aos grupos pN0, pN+RC- e pN+RC+ e valor de $p < 0.05$ .....	104
<b>Tabela 12</b>	Comparação entre categorias quanto aos grupos pN+RC- e pN+RC+ e valor de $p < 0.05$ .....	107
<b>Tabela 13</b>	Sobrevida global, sobrevida câncer-específica e recidiva em pacientes com carcinoma de células escamosas.....	108
<b>Tabela 14</b>	Valores de $p$ em Curvas de Sobrevida Câncer Específica segundo as variáveis analisadas.....	139
<b>Tabela 15</b>	Modelo multivariado inicial.....	141
<b>Tabela 16</b>	Análise univariada da ruptura capsular (extensão extra capsular) como fator prognóstico.....	143
<b>Tabela 17</b>	Análise univariada de sobrevida doença-específica conforme o status do linfonodo e a ausência ou presença de ruptura capsular (extensão extra capsular) .....	143
<b>Tabela 18</b>	Análise univariada de sobrevida global conforme o status do linfonodo e a ausência ou presença de ruptura capsular (extensão extra capsular) .....	143
<b>Tabela 19</b>	Análise univariada de taxa de recidiva cervical conforme a ruptura capsular (extensão extra capsular) ausente ou presente em pacientes pN+.....	144

<b>Tabela 20</b>	Análise univariada de sobrevida doença-específica conforme a ruptura capsular (extensão extra capsular) ausente ou presente em pacientes pN+.....	144
<b>Tabela 21</b>	Análise univariada de sobrevida global conforme a ruptura capsular (extensão extra capsular) ausente ou presente em pacientes pN+.....	145
<b>Tabela 22</b>	Análise multivariada de sobrevida.....	145
<b>Tabela 23</b>	Métodos preditivos de imagem: comparação entre técnicas....	147

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>AJCC</b>	do inglês, American Joint Committee on Cancer
<b>CCE</b>	Carcinoma de células escamosas
<b>CEP</b>	Comitê de Ética em Pesquisa
<b>cN</b>	N clínico
<b>CR</b>	Ruptura capsular, do inglês, capsular rupture
<b>cT</b>	T clínico
<b>CT</b>	Tomografia computadorizada, do inglês, computed tomography
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>DP</b>	Desvio padrão
<b>EC</b>	Estadiamento clínico
<b>ECS</b>	Disseminação extra capsular, do inglês, extra capsular spread
<b>ENE</b>	Extensão extranodal, do inglês, extranodal extension
<b>HE</b>	Hematoxilina eosina
<b>HPV</b>	Papiloma vírus humano, do inglês, human papillomavirus
<b>i+</b>	Presença de células tumorais isoladas, do inglês, presence of ITC
<b>IHC</b>	Imunoistoquímica, do inglês, immunohistochemistry
<b>IIQ</b>	Imunoistoquímica
<b>INCA</b>	Instituto Nacional do Câncer
<b>IPN</b>	Infiltração perineural
<b>ITC</b>	Células tumorais isoladas, do inglês, ITC, isolated tumor cells
<b>IVL</b>	Invasão vascular linfática
<b>IVS</b>	Invasão vascular sanguínea
<b>JO</b>	Junções ocludentes
<b>Ki-67</b>	Nome da cidade de origem (Kiel, Alemanha) e o número do clone original na placa de 96 poços
<b>MAC</b>	Molécula (s) de adesão celular
<b>MB</b>	Membrana basal
<b>MEC</b>	Matriz extracelular

<b>mi+</b>	Presença de micrometástase, do inglês, presence of micrometastasis
<b>MMP-2</b>	Metaloproteinase da matriz-2
<b>MMP-9</b>	Metaloproteinase da matriz-9
<b>mol+</b>	Presença de achados moleculares (não morfológicos) para ITC, do inglês, mol+, presence of molecular (non-morphological) findings for ITC
<b>MR</b>	do inglês, Magnetic Resonance
<b>N</b>	Linfonodo
<b>ND</b>	Esvaziamento cervical, do inglês, neck dissection
<b>NS</b>	Não significativa
<b>OBS</b>	Observação
<b>OMS</b>	Organização Mundial de Saúde
<b>PET-CT</b>	Tomografia Computadorizada por emissão de pósitron
<b>pN</b>	N patológico
<b>pN0</b>	Ausência de metástase linfonodal
<b>pN+</b>	Presença de metástase linfonodal
<b>pT</b>	T patológico
<b>QT</b>	Quimioterapia
<b>RC</b>	Ruptura capsular
<b>RC-</b>	Ausência de ruptura capsular
<b>RC+</b>	Presença de ruptura capsular
<b>RM</b>	Ressonância Magnética
<b>RT</b>	Radioterapia
<b>T</b>	Tumor
<b>TC</b>	Tomografia Computadorizada
<b>TMA</b>	Microarranjo de tecidos, do inglês, tissue microarray
<b>TNM</b>	Tumor, Linfonodo, Metástase
<b>UICC</b>	do inglês, Union for International Cancer Control
<b>US</b>	Ultrassonografia
<b>VEGF</b>	do inglês, Vascular Endothelial Growth Factor
<b>WHO</b>	do inglês, World Health Organization

# ÍNDICE

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>3</b>
2.1	Ruptura capsular .....	3
2.2	Fatores prognósticos e preditivos .....	10
2.2.1	Fatores relacionados ao paciente.....	10
2.2.2	Fatores relacionados ao tumor .....	11
2.2.3	Fatores relacionados ao tratamento .....	15
2.3	Biomarcadores .....	15
2.4	Métodos Preditivos por Imagem .....	30
2.5	Modelo preditivo .....	35
2.6	Recidiva.....	37
<b>3</b>	<b>JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>38</b>
<b>4</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>39</b>
<b>5</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>40</b>
5.1	População e período do estudo.....	40
5.2	Aspectos éticos .....	40
5.3	Tipo de estudo.....	41
5.4	Pacientes e critérios de elegibilidade .....	41
5.4.1	Critérios de inclusão .....	42
5.4.2	Critérios de exclusão .....	42
5.4.3	Grupos.....	42
5.5	Metodologia .....	43
5.6	Ruptura capsular .....	44
5.7	Dados sociodemográficos e clínicos .....	44
5.8	Dados patológicos .....	46

5.9	Dados imunoistoquímicos.....	50
5.9.1	Construção do microarranjo de tecidos - Tissue microarray (TMA)..	50
5.9.2	Imunoistoquímica .....	51
5.9.3	Proteínas .....	52
5.9.4	Interpretação das reações imunoistoquímicas .....	53
5.10	Análise Estatística .....	57
<b>6</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>58</b>
6.1	Variáveis sociodemográficas da amostra do estudo .....	58
6.2	Variáveis clínicas e patológicas da amostra do estudo .....	61
6.3	Variáveis imunoistoquímicas da amostra do estudo.....	65
6.4	Variáveis sociodemográficas entre grupos de pacientes pN0, pN+ RC-e pN+RC+.....	74
6.5	Variáveis clínicas e patológicas entre grupos de pacientes pN0, pN+RC- e pN+RC+.....	76
6.6	Variáveis imunoistoquímicas entre grupos de pacientes pN0, pN+ RC-e pN+RC+ .....	84
6.7	Variáveis sociodemográficas entre grupos de pacientes pN+RC- e pN+RC+.....	88
6.8	Variáveis clínicas e patológicas entre grupos de pacientes pN+RC- e pN+RC+.....	90
6.9	Variáveis imunoistoquímicas entre grupos de pacientes pN+RC- e pN+RC+.....	98
6.10	Variáveis quantitativas e categóricas entre grupos de pacientes pN0, pN+RC- e entre grupos de pacientes pN+RC- e pN+RC+ .....	103
6.11	Curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier .....	109
6.11.1	Análise das variáveis sociodemográficas .....	109
6.11.2	Análise das variáveis clinicopatológicas.....	111
6.11.3	Análise das variáveis imunoistoquímicas s.....	120
6.12	Modelo Preditivo .....	141
6.12.1	Modelo multivariado inicial.....	141
6.12.2	Análise univariada da extensão extra capsular como fator	

prognóstico .....	143
6.12.3 Análise multivariável de sobrevida .....	145
<b>7     DISCUSSÃO .....</b>	<b>146</b>
<b>8     CONCLUSÃO .....</b>	<b>154</b>
<b>9     REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>155</b>

## **ANEXOS**

**Anexo 1** Carta de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa-CEP

## **APÊNDICE**

**Apêndice 1** Ficha de Registro de dados sociodemográficos, clinicopatológicos, histopatológicos e imunoistoquímicos dos pacientes com carcinoma oral de células escamosas

## 1 INTRODUÇÃO

O carcinoma de células escamosas de boca é a neoplasia maligna mais frequente da região de cavidade oral, perfazendo 90 a 95% do total de casos (MASSANO et al. 2006; YADAV et al. 2012), e representa acima de 35% dos casos de neoplasia maligna de cabeça e pescoço (RIDGE et al. 2008).

Em termos globais, o carcinoma oral é a sexta neoplasia maligna mais frequente e em países em desenvolvimento constitui um grave problema de Saúde Pública como, por exemplo, na Índia onde representa 40% das neoplasias malignas (YADAV et al. 2012). No Brasil, representa 9,5% de todas as neoplasias malignas, situando-se como a quinta mais frequente, com acentuado predomínio no sexo masculino, sendo muito raro em adolescentes e crianças (DE CARVALHO et al. 1998; Ministério da Saúde 2017).

Cerca de 50% dos pacientes portadores de carcinoma de células escamosas de boca apresentam metástase linfonodal no momento do diagnóstico e dos 50% sem metástases clinicamente detectáveis, 20% apresentam metástases detectadas em peças de esvaziamentos cervicais eletivos, durante o seguimento clínico (CARVALHO et al. 2002; AMAR et al. 2005).

O prognóstico dos pacientes de carcinoma oral de células escamosas permanece baixo com sobrevida média em cinco anos variável entre 45 a 58%, conforme diversos autores (Ministério da Saúde 2001; OLIVEIRA et al.

2006; PICCIRILLO et al. 2007), não obstante avanços recentes em meios diagnósticos e terapêuticos (cirurgia, quimioterapia e radioterapia).

A metástase linfonodal é um dos principais fatores prognósticos e em estudos contemplando carcinoma de células escamosas de laringe e hipofaringe, a ruptura capsular, quando presente, é o melhor preditor da sobrevida (BRASILINO DE CARVALHO 1998).

Neste estudo, propusemos a análise de fatores de risco clínico e patológico e de marcadores que pudessem identificar a presença de ruptura capsular e sua implicação prognóstica.

O objetivo deste estudo retrospectivo foi avaliar os possíveis fatores preditivos para ruptura capsular em metástase de linfonodos cervicais a partir de 212 casos de pacientes portadores de carcinoma de células escamosas de boca (língua e soalho bucal) não tratados previamente e submetidos a tratamento cirúrgico, incluindo esvaziamento cervical, no Departamento de Cirurgia de Cabeça e Pescoço e Otorrinolaringologia do A.C.Camargo Cancer Center, no período de 1990 a 2010, assim como analisar a presença, frequência e características histomorfológicas da ruptura capsular de metástases de linfonodos cervicais e sua importância como preditor de sobrevida.

## **2 REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1 RUPTURA CAPSULAR**

A fisiopatologia de metástases linfonodais é o fator prognóstico isolado mais importante relacionado à sobrevida do paciente, e a presença de metástase reduz à metade a taxa de sobrevida média de pacientes portadores de carcinoma oral (PURI et al. 2003; RINALDO et al. 2004, CONTE et al. 2010).

A associação entre ruptura capsular, extravasamento extra capsular e pior prognóstico em carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço foi reconhecida inicialmente em relatos de BENNETT et al. (1971) e ZOLLER et al. (1978) sendo confirmada em relatos posteriores por vários pesquisadores (JOHNSON et al. 1981 e 1985; SNOW et al. 1982; SNYDERMAN et al. 1985; HIRABAYASHI et al. 1991; VAIDYA et al. 2001). Estudos posteriores analisaram esta associação em carcinomas de cavidade oral (MYERS et al. 2001; GREENBERG et al. 2003b; WOOLGAR et al. 2003; SHAW et al. 2010).

A ruptura capsular e a extensão extra capsular para carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço constituem-se em preditores confiáveis de resultado terapêutico desfavorável e pior prognóstico (PURI et al. 2003) estando presentes em pacientes com metástases linfonodais avançadas como também em pacientes clinicamente N0, sem evidência de

comprometimento neoplásico loco-regional. A ruptura capsular do linfonodo cervical é sugestiva de alto risco de recorrência tumoral regional e/ou metástases à distância.

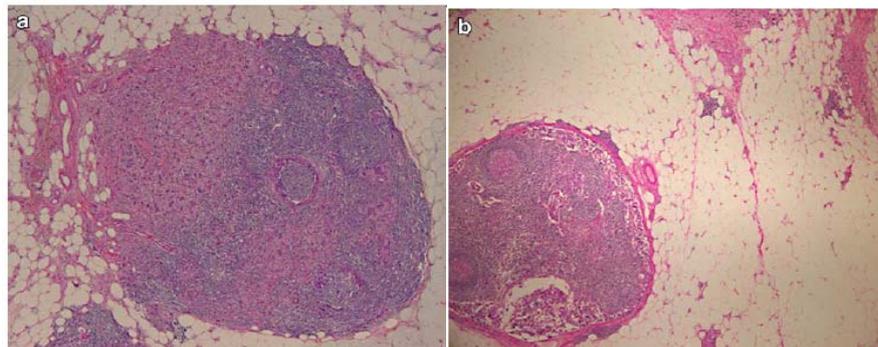
A presença de metástases ocultas nodais tem sido observada num vasto intervalo (13 a 60%) em pacientes N0 na dependência de relatos de casuística de diferentes autores. A partir de 109 pacientes N0, ALVI e JOHNSON (1996) relataram que 49% dos mesmos submetidos a esvaziamento cervical, apresentaram extravasamento extra capsular. Destes, 31% não apresentaram a doença após dois anos enquanto 47% dos pacientes com metástase restrita ao linfonodo (N1) não apresentaram a doença nesse mesmo período. Achados semelhantes foram relatados por COATESWORTH e MAC LENNAN (2002) a partir de 96 esvaziamentos cervicais sendo observada disseminação extracapsular em 19% de pescoços clinicamente N0 e 69% dos pescoços N+. No estudo de SUOGLU et al. (2002) a disseminação extra capsular estava relacionada aos seguintes fatores: maior estadiamento N, número de linfonodos positivos e metástases contralaterais.

Apesar do reconhecimento da extensão extra capsular como fator prognóstico, há poucos relatos e com dados ou critérios morfológicos conflitantes para sua avaliação e a maioria dos artigos menciona tão somente a presença ou a ausência de ruptura capsular / extensão extra capsular, sem analisar sua extensão para o tecido adiposo circunjacente. Na literatura consultada, não há igualmente relatos consolidados quanto a possíveis fatores preditivos de ruptura capsular em metástases em linfonodos cervicais em carcinoma de cavidade oral de soalho bucal e língua.

Na literatura, vários artigos fazem menção quanto a possíveis critérios para ruptura / extravasamento capsular em metástases linfonodais de neoplasias de diferentes órgãos, como em neoplasias de cólon e reto (WIND et al. 2007; BRABENDER et al. 2012), estômago (NAKAMURA et al. 2010), esôfago (METZER et al. 2009), próstata (CHENG et al. 2000; FLEISCHMANN et al. 2008), bexiga (FLEISCHMANN et al. 2005), vulva (van der VELDEN et al. 1995), colo uterino (HORN et al.2008) e mama (PALAMBA et al 2001). Alguns autores recentemente sugeriram possíveis parâmetros para avaliação da ruptura capsular em diferentes tipos de neoplasia primária e seu componente metastático linfonodal (HORN et al. 2008; NAKAMURA et al. 2010).

Em estudo de disseminação extra capsular como fator prognóstico em neoplasia gástrica, NAKAMURA et al. (2010) ressaltaram a ampla diversidade da definição de disseminação extra nodal na dependência do investigador que realiza o estudo e a ausência de padronização do assunto. Concomitantemente eles propuseram a classificação dos extravasamentos extracapsulares em dois grupos (Figura 1), a saber:

- a. com ruptura capsular
- b. sem ruptura capsular



**Fonte:** NAKAMURA et al. (2010)

**Figura 1** - Tipos de extensão extracapsular. a – A ruptura da cápsula é definida como adenocarcinoma metastático se estendendo através da cápsula nodal para o tecido adiposo perinodal. b – A ausência de ruptura capsular é definida como ninhos de células neoplásicas infiltrando ao redor do linfonodo metastático sem ruptura da cápsula.

No primeiro grupo NAKAMURA et al. (2010) consideraram as células tumorais infiltrando o tecido adiposo além da cápsula do linfonodo envolvido. No segundo grupo consideraram ninhos de células tumorais detectadas em tecidos adjacentes ao linfonodo metastático sem ruptura da cápsula (Figura 3).

ALTINYOLLAR et al. (2007) consideraram o conceito de extravasamento capsular como caracterizado pela presença de células neoplásicas no tecido adiposo após a ruptura da cápsula. Outros autores (BUCCI et al. 2001; KOIKE et al. 2004), consideraram o extravasamento como a presença de células neoplásicas no tecido adiposo que circunda os linfonodos. Existem ainda outros autores que consideraram ambas as definições para a ruptura capsular e a extensão extracapsular (NATSUGOE et al. 1997; TANAKA et al. 2000; LAGARDE et al. 2006; WIND et al. 2008).

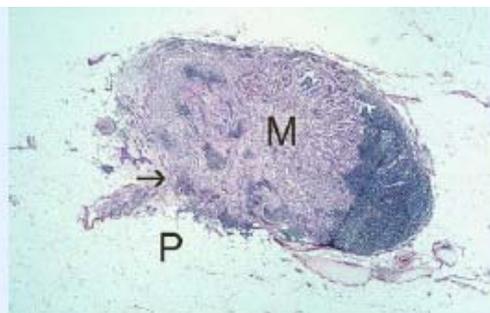
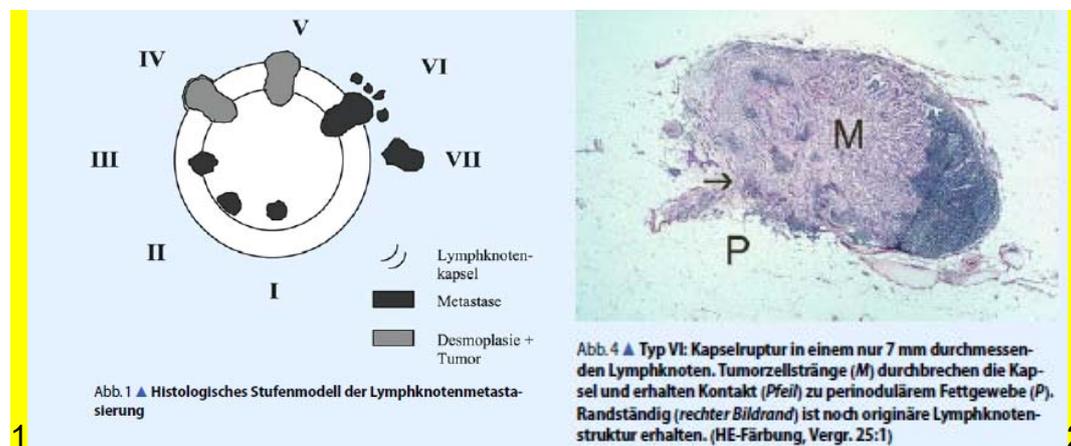
A literatura apresenta ainda outras terminologias, com o mesmo significado, para a condição de ruptura capsular em linfonodo: invasão ou extensão extranodal, pericapsular, perinodal, extracapsular e transcapsular.

Há poucos relatos referentes à ruptura capsular em carcinoma de cabeça e pescoço, que analisam preferentemente neoplasias de laringe, orofaringe / trato aerodigestivo superior; não obstante há poucos artigos analisando critérios para metástase de linfonodo cervical de carcinoma de cavidade oral (WENZEL et al. 1998; WOOLGAR e TRIANTAFYLLOU 2007 e 2010; LEWIS et al. 2011).

Todavia, não há consenso entre os autores e os dados apresentados resultam divergentes na maioria dos relatos: não há menção para os possíveis tipos de extravasamento ou extensão extracapsular, microscópica e macroscópica, e com isso, tais resultados não são igualmente comparáveis. Desta maneira, a falta de consenso, com casuística, por vezes pouco representativas, e os critérios divergentes, escassos, ou ausentes nas análises histopatológicas, impedem avaliar a real importância da ruptura capsular para o prognóstico e para a possibilidade de abordagem terapêutica precoce.

WENZEL et al. (1998, 2003, 2004a e b) desenvolveram um sistema contemplando sete tipos graduais de comprometimento metastático nodal que permitiria disponibilizar um critério prognóstico reproduzível e confiável na identificação de pacientes de alto risco com carcinoma de células escamosas de cavidade oral e orofaringe (Figura 2). A formulação do sistema partiu de análises histopatológicas para avaliar a graduação sugerida bem como avaliar

o desenvolvimento neoplásico intranodal e extranodal e seu impacto prognóstico.



Fonte: WENZEL et al. (2004b)

**Figura 2** - Modelo histológico categorizado de ruptura capsular. 1. Modelo histológico das etapas da metástase no linfonodo; 2. Ruptura capsular tipo VI em linfonodo de 7mm. As células tumorais rompem a cápsula e obtêm contato com o tecido adiposo perinodal.

Mais recentemente, o estudo realizado por LEWIS et al. (2011) identificou a falta de critérios macroscópicos e histológicos elaborando então um sistema de gradação das metástases, do relato de ruptura capsular e extensão extracapsular visando o consenso quanto ao grau crítico para prognóstico e para a preconização de terapia adjuvante, neoadjuvante e personalizada visando os pacientes selecionados.

A Figura 3 ilustra o sistema de gradação da extensão extracapsular mencionada (LEWIS et al. 2011):

ECE grade	0	1	2	3	4
Illustration					
Description	Tumor confined to the substance of the lymph node (surrounded by lymphoid tissue)	Tumor reaching the capsule of the lymph node (no intervening lymphoid tissue) and with thickening of overlying capsule.	Tumor in perinodal tissue but extending ≤1mm beyond the lymph node capsule.	Tumor in perinodal tissue and extending >1mm beyond the lymph node capsule.	Soft tissue metastasis. Tumor mass without residual nodal tissue or architecture (no germinal centers or subcapsular sinus).

Fonte: LEWIS et al. (2011)

**Figura 3** - Sistema de gradação da extensão extracapsular.

Outros autores WOOLGAR e TRIANTAFYLLOU (2007, 2010) consideraram definições mais precisas visando analisar o estágio e o tamanho dos depósitos metastáticos em relatos anatomopatológicos (Quadro 1).

**Quadro 1** - Definições de termos de depósitos metastáticos em laudos anatomopatológicos

Termo	Definição	Detecção	Cat. TNM
Células isoladas tumorais	Grupos de células com menos de 0,2mm no maior eixo nodal.	Cortes em HE ou IHQ. Técnicas de citometria de fluxo ou análise de DNA	pN0(i+)
Micrometástase	Depósitos tumorais únicos ou múltiplos extracapsulares, entre 0,2mm e 2,0mm; pode haver atividade mitótica, mas em geral desmoplasia ausente.	Cortes corados pelo HE ou IHQ	pN0(mol+)
Metástase convencional	Depósito (s) neoplásico (s) acima de 2,0 mm, podendo acompanhar desmoplasia.	Cortes corados pelo HE; pode-se necessitar IHQ quando há reduzida coesão celular/ausência de desmoplasia.	pN1(mi), pN2b(mi), pN2c(mi)
Metástase oculta	Qualquer depósito metastático não suspeito clinicamente (grupos de células isoladas, micrometástase, metástase convencional).		pN1, pN2a, pN2b, pN2c, pN3.
Salteada	Metástases em níveis não contíguos.		
“Em pimenta”	Grupos de células/ micrometástases em níveis múltiplos. Ausência de metástase convencional.		
Disseminação rápida	Metástase através rotas múltiplas de drenagem, em geral diretamente para grupos nodais distantes.		

Fonte: Adaptado de WOOLGAR e TRIANTAFYLLOU (2010)

## **2.2 FATORES PROGNÓSTICOS E PREDITIVOS**

Numerosos fatores prognósticos e preditivos para carcinoma de células escamosas de cavidade oral e para metástase linfonodal cervical tem sido descritos e avaliados (BETTENDORF et al. 2004; MASSANO et al. 2006).

Há fatores relacionados ao paciente, ao tumor e ao tratamento.

### **2.2.1 Fatores Relacionados ao Paciente**

- **Gênero e idade**

Não há diferenças prognósticas entre homens e mulheres. Alguns autores relatam menor sobrevida em mulheres possivelmente devido ao retardo no diagnóstico e a menor aceitação do tratamento a ser realizado. (NGUYEN et al. 2002; LO et al. 2003; O-CHAROENRAT et al. 2003).

Não se observa relação entre prognóstico e idade enquanto outros autores inferem pior prognóstico com maior idade. (LEITE e KOIFMAN 1998; RIBEIRO et al. 2003)

- **Fumo e álcool**

Um grande número de autores descreveu menor sobrevida e uma maior mortalidade entre fumantes e consumidores de bebidas alcoólicas (LEITE e KOIFMAN 1998; RIBEIRO et al. 2000). O estudo de LO et al. (2003) observou que o uso de Betel estava correlacionado com pior prognóstico.

- **Condições socioeconômicas**

Alguns autores como LEITE e KOIFMAN (1998) observaram pior prognóstico com menor renda e educação (pior higiene oral e dificuldade de acesso à saúde).

- **Retardo no diagnóstico**

DE CARVALHO et al. (2001) relataram maior número de pacientes com doença avançada na primeira consulta, em relação a lesão primária (70% em homens e 65% em mulheres) ou a disseminação regional (52% dos homens e 38% em mulheres).

- **Diversos**

Entre outros fatores relacionados ao paciente, as comorbidades (RIBEIRO et al. 2000), como doenças cardiovasculares, pulmonares, renais, outras neoplasias malignas, assim como doenças autoimunes, depressão imunológica, e até mesmo emagrecimento poderiam contribuir para um resultado menos satisfatório em pacientes portadores de carcinoma de células escamosas de cavidade oral.

## **2.2.2 Fatores Relacionados ao Tumor**

- **Sítio anatômico**

As redes vasculares sanguíneas e linfáticas são mais desenvolvidas em sítios como base de língua, língua e sulco gengivolabial superior, influenciando

na evolução do tumor e no desfecho (LEITE e KOIFMAN 1998; TIWARI 2000; GENDEN et al. 2003).

- **Estadiamento clinico**

O estadiamento clinico é imperfeito, per se, para fins prognósticos (RIBEIRO et al. 2000; DE VICENTE et al. 2002; GONZALEZ-MOLES et al. 2002; O-CHAROENRAT et al. 2003; TAKES 2004; BETTENDORF et al. 2004) e as séries apresentam dados variados. Em vários casos não há como distinguir clinicamente metástases em linfonodos cervicais: as metástases podem ser clinicas ou ocultas, e ainda assim a metástase pode ser macroscópica ou microscópica e não ser detectada, somente sendo identificada em estágio mais avançado. Estudos mostram que as metástases ocultas são somente detectadas em 20%-40% dos casos.

- **Espessura tumoral**

A espessura tumoral se correlaciona com risco de metástase linfonodal e maiores taxas de mortalidade (AL-RAJHI et al. 2000; O-CHAROENRAT et al. 2003; GENDEN et al. 2003). O-CHAROENRAT et al. (2003) observaram que tumores com mais de 5mm de espessura seriam preditivos de metástases linfonodais e indicativos de esvaziamento cervical eletivo. GENDEN et al. (2003) descreveram que a espessura tumoral influía na taxa de sobrevida.

- **Extensão extra capsular**

A extensão extra capsular consiste na extensão de células tumorais para fora da cápsula do linfonodo e está associada com maiores taxas de recidiva loco regional, metástase a distância e menor sobrevida segundo trabalhos de GREENBERG et al. (2003a e b), WOOLGAR et al. (2003), sendo verificadas redução entre 29% e 60% na sobrevida e aumento nas taxas de metástase em linfonodos regionais. SHINGAKI et al. (2003) avaliaram que havia menor sobrevida em 5 anos com 21% para os pacientes pN+RC+ comparada com 64% para os pacientes pN+RC-. Os relatos de GREENBERG et al. (2003a e b) e WOOLGAR et al. (2003) mostraram que a sobrevida em 3 anos era igual para ruptura capsular microscópica e macroscópica (33% e 36%). MICHIKAWA et al. (2018) verificaram que a ruptura capsular em linfonodos de pequeno tamanho era fator independente e significativo para predizer recidiva e pior prognóstico.

- **Diferenciação histológica**

O carcinoma oral de células escamosas menos diferenciado apresenta pior prognóstico segundo alguns autores (LO et al. 2003; TAKES 2004; BETTENDORF et al. 2004) enquanto outros autores como LEITE e KOIFMAN (1998), AI-RAJHI et al. (2000) e O-CHAROENRAT et al. (2003), não observam estes resultados.

- **Infiltração perineural**

O achado de infiltração perineural apresentou correlação com maior risco de metástase regional e a distância segundo RAHIMA et al. (2004). RODOLICO et al. (2004) relataram que a infiltração perineural estava associada com maior risco de metástase linfonodal, enquanto JARDIM et al. (2015) observaram que a presença de infiltração perineural em pacientes com carcinoma oral de células escamosas, em estádios avançados e submetidos a cirurgia radical e radioterapia ou rádio e quimioterapia adjuvantes, teve impacto significativo no desfecho da sobrevida. De acordo com JERJES et al. (2010), vários relatos ressaltaram o valor prognóstico e a associação da infiltração perineural com recidiva regional e metástase (FAGAN et al. 1998; RAHIMA et al. 2004) enquanto outros estudos não observaram esta associação como WEIJERS et al. (2004). No relato de BRANDWEINGENSLER et al. (2005), a infiltração neural estava associada a recidiva local.

- **Invasão vascular sanguínea e linfática**

JERJES et al. (2010) relataram que a invasão linfovascular é um dos fatores determinantes para o prognóstico. De acordo com JONES et al. (2009), a presença de comprovação histológica de invasão linfovascular na peça cirúrgica do carcinoma oral teve impacto significativo no desfecho da sobrevida nos pacientes com carcinoma oral.

### 2.2.3 Fatores Relacionados ao Tratamento

- **Esvaziamento cervical**

O esvaziamento cervical é fonte de significativa morbidade pós-operatória segundo numerosos relatos da literatura (MASSANO et al. 2006; KOWALSKI e SANABRIA 2007; PUGAZHENDI et al. 2012).

- **Margens cirúrgicas de ressecção**

As margens livres se correlacionam com maior sobrevida global e maior tempo de sobrevida livre de recidiva (AL-RAJHI et al. 2000; MUÑOZ-GUERRA et al. 2003; WOOLGAR et al. 2003) enquanto não houve associação das margens de ressecção com sobrevida global e recidiva local no estudo de BRANDWEIN-GENSLER et al. (2005).

## 2.3 BIOMARCADORES

Diversos biomarcadores tem sido estudados, envolvidos na identificação de eventos moleculares no carcinoma de células escamosas de boca com participação no tumor primário e nas metástases de linfonodos cervicais. Diferentes biomarcadores atuam na tumorigênese e é importante verificar seu papel e sua relevância como fator prognóstico.

- **E-caderina e  $\beta$ -catenina**

A adesividade célula-célula é geralmente reduzida em vários cânceres humanos. As células tumorais são dissociadas das massas tumorais, perdem

sua polaridade celular e infiltram-se no estroma, levando a eventos metastáticos subsequentes. Este processo é um passo crucial para a progressão do tumor e a supressão da adesividade célula-célula pode desencadear a liberação de células tumorais dos “ninhos” do tumor primário conferindo propriedades invasivas a esse tumor (HIROHASHI 1998).

As moléculas de adesão intercelular são importantes no desenvolvimento do tumor, na capacidade para invadir e no surgimento de metástases no carcinoma oral de células escamosas (MASSANO et al. 2006). Estas moléculas pertencem a quatro famílias de proteínas importantes: caderinas, integrinas, selectinas e imunoglobulinas. Essas proteínas são expressas em todos os epitélios e interagem com as moléculas da membrana basal e regulam as interações célula-célula e célula-matriz extracelular (CORTESINA e MARTONE 2006).

A adesão célula-célula e a adesão célula-matriz extracelular regulam importantes funções celulares como crescimento, diferenciação, migração, proliferação e morte celular. Estudos mostram que a função da E-caderina está alterada em vários tumores epiteliais e que esta disfunção da E-caderina promove a progressão do câncer para a invasão e metástase (JEANES et al. 2008). A  $\beta$ -catenina é uma proteína de adesão que está envolvida em pelo menos dois processos: adesão célula-célula e comunicação celular, principalmente àquela relacionada com as proteínas Wnt. A perda da adesão intercelular é um dos fatores para o desenvolvimento da carcinogênese (MELO et al. 2010).

Numerosos autores (TANAKA et al. 2003; ZHONG et al. 2007; PYO et al. 2007; KAUR et al. 2009), analisaram as moléculas de adesão celular e sua importante atuação no desenvolvimento e invasão tumoral e de surgimento de metástases. A expressão reduzida ou ausente de E-caderina, P-caderina, cateninas, claudinas e CD44 está relacionada a pior prognóstico e a maior risco de metástases linfonodais.

A expressão reduzida de E- e P-caderinas e de cateninas estava associada com pior prognóstico nos estudos de CHOW et al. (2001), BÁNKFALVI et al. (2002a e b) e MUÑOZ-GUERRA et al. (2005).

Há evidências de tumores avançados apresentarem expressão anormal de E-caderina, assim como modelos celulares e animais demonstrarem que a disfunção da E-caderina promove a progressão tumoral para invasão e metástase. De forma contrária, a maior expressão de E-caderina retardaria a progressão tumoral (JEANES et al. 2008). O estudo de CHOW et al. (2001) demonstrou redução na expressão de E-caderina e cateninas em carcinoma de células escamosas de língua. Neste mesmo estudo, a E-caderina foi considerada fator prognóstico significativo de recorrência e sobrevida, o que indica que a baixa regulação de E-caderina foi um marcador genético importante para disseminação de células tumorais para invasão e metástase nos casos analisados (CHOW et al. 2001).

O sistema E-caderina e  $\beta$ -catenina está intimamente relacionado à invasão tumoral e metástase. Os resultados da análise multivariada do estudo de LIM et al. (2004) mostrou que a perda da expressão da E-caderina foi o único marcador associado à metástase cervical tardia. UEDA et al. (2006)

mostraram que a redução na expressão de  $\beta$ - e de  $\gamma$ - catenina em carcinomas orais pode ser usada como marcador potencial de risco para metástase linfonodal e mau prognóstico, sugerindo que estes pacientes com tumores apresentando nenhuma ou redução na expressão de  $\beta$ - e  $\gamma$ -catenina deveriam ser selecionados para tratamentos mais agressivos. De forma semelhante, MELCHERS et al. (2013) demonstraram que a E-caderina é preditiva de metástase linfonodal.

Ao contrário, BALASUNDARAM et al. (2014) consideram que a E-caderina e a  $\beta$ -catenina não são fatores determinantes para metástase regional de carcinoma de células escamosas de cavidade oral.

Outro estudo evidenciou que a análise individual da expressão de  $\beta$ -catenina não representou um bom critério para predizer o risco de metástase em carcinoma de células escamosas de língua, uma vez que, não houve diferença significativa na expressão entre os grupos com e sem metástases (FREITAS et al. 2010).

- **Claudinas**

As claudinas, descobertas em 1998, são as principais proteínas de vedação das junções ocludentes e parecem ser importantes na formação e funcionamento das junções ocludentes, participando em sua montagem e estabilização. Elas estão ligadas à actina do citoesqueleto e participam na sinalização intracelular (FURUSE et al. 1999; TSUKITA e FURUSE 1999). Alterações na expressão de claudinas têm sido detectadas em diversos tumores humanos como adenocarcinoma colorretal, prostático, mamário,

pancreático e ovariano e parecem estar correlacionadas com a sua progressão.

Em outras pesquisas, os autores descreveram que a redução da expressão de claudina-7 em carcinoma esofágico leva a perda de e-caderina (LIONI et al. 2007), invasão e metástase (USAMI et al. 2006). No estudo de LOURENÇO et al. (2010b) os padrões de expressão de claudinas mostraram uma forte correlação com o grau histológico de carcinomas orais. A expressão foi reduzida em áreas de invasão e negativa em tumores pouco diferenciados. Este padrão pode estar relacionado com a evolução e o prognóstico destes tumores, especialmente o da claudina-7 que parece estar associada a um prognóstico reservado. Segundo BELLO et al. (2008) a análise da expressão de claudina-7 em carcinoma de língua pode ser útil para prever o comportamento do tumor e o prognóstico do paciente. Outro estudo mostrou que a perda de claudina-7 poderia ainda ser utilizada para identificar pacientes com aumentado risco para recidiva regional e sobrevida livre de doença (MELCHERS et al. 2013).

- **Vimentina**

A vimentina, um importante componente da família de proteínas do filamento intermediário, é universalmente expressa em células mesenquimais normais. A vimentina se liga ao núcleo, retículo endoplasmático e mitocôndria, lateralmente ou terminalmente. A vimentina tem um importante papel na sustentação e no ancoramento da posição de organelas no citosol, sendo

responsável por manter a integridade celular e reduzir o dano causado pelo stress.

Pesquisas recentes observaram que a superexpressão da vimentina está associada com várias neoplasias malignas epiteliais como câncer de próstata, tumores gastrointestinais, tumores do sistema nervoso central, câncer de mama, melanoma maligno, e câncer pulmonar (SATELLI e LI 2011). A superexpressão de vimentina no câncer se correlaciona com crescimento tumoral acelerado, invasão, e pior prognóstico (LIU et al. 2016); entretanto, seu papel na progressão do câncer permanece obscura. Recentemente, reconheceu-se a vimentina e um marcador da transição epitélio- mesenquima (TEM = EMT) e tem importante papel a este nível e na invasão celular, estando super-regulada na progressão tumoral (SATELLI e LI 2011; LEHTINEN et al. 2013).

No carcinoma oral de células escamosas há relato de hipoexpressão de E-caderina e  $\beta$ -catenina enquanto se observava hiperexpressão de vimentina (ZHENG et al. 2015) enquanto ZHOU et al. (2015) relataram que a expressão positiva de E-caderina e vimentina se correlacionava com metástase tumoral. De forma diferente, o estudo de BALASUNDARAM e al. (2014) considera que a vimentina, apesar de exibir expressão aberrante, tem papel controverso.

- **Ki-67**

O Ki-67 é um marcador de proliferação celular, altamente expresso na maioria dos tumores, que identifica um antígeno expresso nas fases G1, S e G2 do ciclo celular.

Ki-67 tem sido amplamente estudado em diversos tipos de câncer, inclusive câncer de cabeça e pescoço e tem sido associado com grau histológico, padrão de invasão infiltrativo e metástase, porém não se associou com desfecho clínico (DE VICENTE et al. 2002). Alguns autores não reconhecem o valor prognóstico de Ki-67 para prever sobrevida, porém FRANCHI et al. (1996) relataram o potencial de Ki-67 para prever metástase linfonodal oculta em câncer de laringe.

Diversos autores têm estudado o valor prognóstico da proliferação celular nos carcinomas de células escamosas da cavidade oral segundo PICH et al. (2004); uma alta atividade proliferativa geralmente está associada com pior prognóstico. De acordo com XIE et al. (2016), uma alta expressão de Ki-67 poderia ser um marcador prognóstico negativo para pacientes com carcinoma de células escamosas da cavidade oral e comprometer a resposta terapêutica.

MOTTA et al. (2009) demonstraram a relação de moléculas marcadoras de proliferação celular como o Ki-67 com maior agressividade, invasão e disseminação da neoplasia oral.

No estudo de LOPES et al. (2017), Ki-67 não apresentou associação significativa com linfonodos metastáticos mas poderia ser preditor de sobrevida.

O aumento da expressão de Ki-67 foi associado à presença de metástase linfonodal (COUTINHO-CAMILLO et al. 2010) e seu índice tem sido correlacionado com alto risco de recorrência e pior prognóstico em pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço (SILVA et al. 2004), língua (XIE et al. 1999; SILVA et al. 2008) e boca (MYOUNG et al. 2006; COUTINHO-CAMILLO et al. 2010).

- **MMP-2 e MMP-9**

As metaloproteinases da matriz (MMPs) compõem uma família multigenica de endopeptidases Zn-dependentes que compartilham estrutura semelhante e que coletivamente tem a capacidade de degradar qualquer componente da matriz extracelular (MEC).

As moléculas relacionadas ao processo de degradação dos componentes da matriz extracelular e da membrana basal tem sido extensivamente estudadas, estando relacionadas à diferenciação e invasão tumoral (ZENG et al. 1999; JORDAN et al. 2004). As metaloproteinases da matriz são um agrupado de proteases com significativa atuação na degradação da matriz e apresentadas por quatro grandes grupos:

- gelatinases
- colagenases
- stromelisinases
- metaloproteinases ligadas a membrana

Os principais componentes da matriz extracelular são colágenos e outras proteínas, incluindo a laminina, a fibronectina, a entactina, e os proteoglicans que constituem a membrana basal.

Os níveis das MMPs nos tecidos saudáveis são baixos ou praticamente indetectáveis, entretanto, sua expressão é substancialmente aumentada na maioria das neoplasias malignas, apresentando importante ação proteolítica nos processos de invasão e metástase.

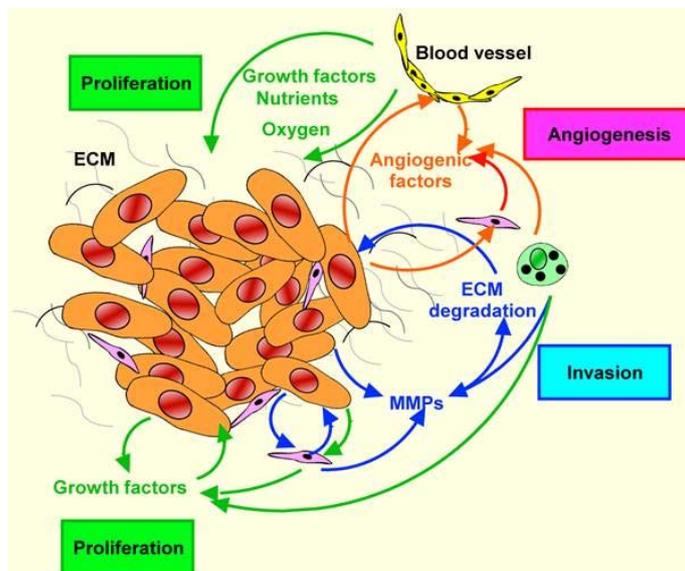
A invasão tumoral é um processo complexo e dinâmico de múltiplas etapas, envolvendo o deslocamento das células tumorais de seu sítio primário. Um acontecimento fundamental para o processo de invasão é a migração das células epiteliais neoplásicas rompendo o limite com o tecido conjuntivo. Para que esse fenômeno ocorra são necessárias alterações nas interações entre as células neoplásicas e a matriz extracelular e o aumento na secreção das enzimas degradadoras da matriz extracelular, entre as quais destacam-se as metaloproteinases da matriz (MMPs).

As células tumorais hiperexpressam proteases e/ou induzem a expressão destas enzimas em células estromais vizinhas para degradar a membrana basal e a matriz extracelular para favorecer a progressão tumoral e invadir o tecido. Várias MMPs tem sido responsabilizada na degradação da matriz extracelular associada com crescimento tumoral e angiogênese. Esta atividade proteolítica é necessária para a invasão de vasos sanguíneos e linfáticos pelas células tumorais (intravasamento) e então para extravasar em um sítio distante e invadir o tecido para estabelecer um novo local de metástase (ROY et al. 2009; MONTEIRO-AMADO et al. 2013).

As MMP-2 e MMP-9 têm um papel crucial na progressão tumoral, atuando diretamente sobre os componentes da membrana basal que é essencialmente constituído por colágeno do tipo IV (FAN et al. 2012). A MMP-2 e a MMP-9 são proteínas do grupo das gelatinases, cuja função é degradar o colágeno desnaturado. A MMP-9 é geralmente expressa por células inflamatórias, como linfócitos, macrófagos, neutrófilos, eosinófilos e células dendríticas, e em células mesenquimais, como células endoteliais, fibroblastos e osteoblastos. Atualmente, sabe-se que a membrana basal, a qual separa o epitélio do tecido conjuntivo, representa a primeira estrutura a ser degradada durante o processo de invasão das células epiteliais neoplásicas e progressão metastática (DE VICENTE et al. 2005).

A MMP-2 influencia na angiogênese promovendo liberação de moléculas pró-angiogênicas como o VEGF e também é indicativa de metástase linfonodal enquanto a MMP-9 se associa com menor probabilidade de sobrevida (MONTEIRO-AMADO et al. 2013).

A Figura 4 apresenta as interações tumor-estroma em carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço (KOONTONGKAEW 2013).



Fonte: KOONTONGKAEW (2013)

**Figura 4** - Interações tumor-estroma em carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço.

A expressão de MMP-2 e MMP-9 está elevada em diversos tipos de câncer humano e sua expressão aumentada tem sido associada com pior prognóstico. Vários tipos de câncer têm sido associados com as metaloproteinases da matriz 2 e 9 (MMP-2 e MMP-9), como o câncer de mama (LI et al. 2004), sendo MMP-2 e MMP-9 fatores prognósticos negativos. As MMP-2 e MMP-9 apresentaram hiperexpressão e desfecho desfavorável em câncer de pâncreas (GIANNOPOULOS et al. 2008), câncer colorretal (ZUCKER et al. 2004; SAID et al. 2014), câncer de estômago (WANG et al. 2013), câncer de esôfago (MUKHERJEE et al. 2010; ZHANG et al. 2015), câncer de ovário (LENGYEL 2010), câncer de próstata (OZDEN et al. 2013; GONG et al. 2014; OGUIĆ et al. 2014), câncer de pênis (CAMPOS et al. 2006; SPIESS et al. 2013; PROTZEL e SPIESS 2013) e pulmão (SHOU et al. 2001) no carcinoma pulmonar de células não pequenas.

PATEL et al. (2007) relataram que as metaloproteínases 2 e 9 eram fatores potenciais para invasão e metástase, sendo que a MMP-2 se achava mais expressa que a MMP-9 em tecido tumoral. PATEL et al. (2005) ressaltaram o papel importante das metaloproteínases na invasão e metástase do carcinoma oral de células escamosas e concluíram que a ativação de MMP-2 e MMP-9 era especificamente maior em tecidos neoplásicos comparados com tecidos normais vizinhos e que a MMP-2 era significativamente elevada em pacientes com metástases em linfonodos se comparados com pacientes sem metástase linfonodal, o que poderia predizer um risco de desenvolver metástase linfonodal em pacientes com linfonodos negativos.

IKEBE et al. (1999) concordaram com o potencial de invasão das MMP-2 e 9, porém não fizeram referência ao potencial para metástase. Outros estudos em cancer de pele (FUNDYLER et al. 2004), de cabeça e pescoço (PEREIRA et al. 2005) e de cavidade oral (KURAHARA et al. 1999; MONTEIRO et al. 2016) demonstraram o potencial de invasão e metástase, entretanto a MMP-9 era mais expressa que a MMP-2, podendo ser útil para predizer metástase (HONG et al. 2000).

As expressões de membros da família das MMPs em carcinomas orais tem sido relatadas amplamente; no entanto, a correlação dessas expressões com as características clínico-patológicas ainda é controversa. Alguns estudos demonstraram que as expressões de MMP-9 estavam correlacionadas com grau histológico, estadiamento clínico, metástase linfonodal e à distância e pior prognóstico (KATAYAMA et al. 2004; APARNA

et al. 2015). O estudo de VASCONCELOS et al. (2013) concluiu que a expressão de MMP-9 poderia ser considerada como fator preditivo de comportamento biológico agressivo no carcinoma de células escamosas orais.

HENRIQUES et al. (2012) descreveram a importância de MMP-9 para o desenvolvimento de câncer de língua, porém não foi observada significância estatística entre a hiperexpressão de MMP-9 e a presença de metástase. GONTARZ et al. (2013) relataram que a forte expressão de MMP-2 se associava com um maior risco de recidiva linfonodal em carcinoma oral de células escamosas de língua e soalho bucal.

- **VEGF**

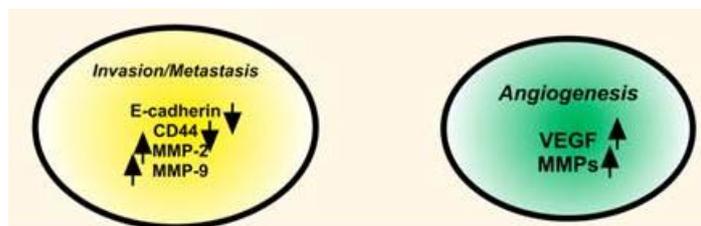
A angiogênese, representada pelo crescimento de vasos neoformados, é um importante processo para crescimento, progressão e agressividade tumoral, invasão e a capacidade para metastatizar (NISHIDA et al. 2006) e está presente em muitas neoplasias malignas, incluindo o carcinoma de células escamosas da língua (MINETA et al. 2002).

Os membros da família do VEGF promovem a angiogênese e a linfangiogênese, O VEGF é um fator relevante no câncer, atuando na regulação da angiogênese, sendo descrito em diversas neoplasias malignas.

A carcinogênese está diretamente relacionada com neoformação vascular decorrente do desequilíbrio entre fatores pró-angiogênicos e anti-angiogênicos. No processo de neovascularização participam fatores de crescimento fibroblástico (FGF), de crescimento vascular endotelial (VEGF) e

de crescimento celular endotelial derivado de plaquetas (PD-ECGF), os quais são liberados pelas células tumorais e tidos como estimuladores da proliferação, invasão e atividade quimiotática endotelial em carcinomas de células escamosas, inclusive da cavidade oral. Não obstante ocorre redução do crescimento tumoral quando há bloqueio da neovascularização e de seus fatores.

A Figura 5 mostra o status de biomarcadores na invasão e na metástase (KOONTONGKAEW 2013).



Fonte: KOONTONGKAEW (2013)

**Figura 5** - Status de E-caderina, MMP-2 e MMP-9 na invasão e na metástase. Status de VEGF e MMPs na angiogênese.

A angiogênese promove a indução de crescimento de novos vasos sanguíneos: para progressão do tumor, agressividade, e a habilidade para metastatizar (BETTENDORF et al. 2004; HANNEN et al. 2004). SHINTANI et al. (2004) estudaram serie de carcinoma oral e observaram que o VEGF A e B estavam associados com o tumor enquanto a angiogênese e o VEGF C e D se associavam com metástase linfonodal. UEHARA et al. (2004) descreveram a associação entre alta expressão de VEGF e pior prognóstico em carcinoma oral.

No estudo de KIM et al. (2015), houve relato de expressão muito pequena de VEGF em células escamosas orais. Este dado foi consistente com outros estudos sendo observado que quando VEGF era normal, sua expressão se limitava às células endoteliais. Em tumores mais diferenciados, houve reduzida expressão de VEGF enquanto forte expressão era observada em tumores menos diferenciados (FERRARA e DAVIS-SMYTH 1997; FERRARA 2005).

O VEGF tem papel estatisticamente significativo na sobrevida global e sobrevida livre de doença não somente em câncer da cavidade oral como também em câncer de cabeça e pescoço (MINETA et al. 2000), pulmão (CHEN et al. 2014), ovário (DUNCAN et al. 2008) cólon (GEORGE et al. 2001), fígado (MOON et al. 2003) e mama (ADAMS et al 2000). Sua imunoexpressão positiva tem sido associada com pior prognóstico e redução da sobrevida global e sobrevida livre de doença (ZHAO et al. 2013; KIM et al. 2015). HENRIQUES et al. (2012) descreveram a importância do VEGF para o desenvolvimento de câncer de língua, porém não foi observada significância estatística entre a hiperexpressão de VEGF e a presença de metástase.

SHINTANI et al. (2004) descreveram a expressão de VEGF (fator de crescimento do endotélio vascular) no carcinoma oral de células escamosas, correlacionando os subtipos A e B com angiogênese tumoral e os subtipos C e D com risco de metástases linfonodais.

UEHARA et al. (2004) encontraram uma correlação entre a hiperexpressão do VEGF e pior prognóstico no carcinoma da cavidade oral. Outros autores (SMITH et al. 2000; KYZAS et al. 2005) verificaram a

associação do VEGF ao maior risco de morte e metástases em linfonodos cervicais.

## **2.4 MÉTODOS PREDITIVOS POR IMAGEM**

A avaliação da presença de metástase e de ruptura capsular em linfonodos cervicais (regionais) tem sido realizada através de exames de imagem, que incluem a tomografia computadorizada, a ressonância magnética, o PET-FGD e a ultrassonografia com resultados variáveis, sensibilidade baixa e especificidade alta.

Entretanto, existem vantagens e desvantagens nos referidos métodos realizados no período pré-operatório, quando os cirurgiões de cabeça e pescoço realizam o planejamento terapêutico para cada paciente e necessitam identificar qual o comportamento biológico que o tumor apresenta visando planejar qual a melhor estratégia de tratamento.

A tomografia computadorizada (TC) e a imagem por ressonância magnética (RM) são os principais métodos de imagem para avaliar o câncer de cabeça e pescoço. Critérios de tamanho, necrose central e realce do anel, são geralmente utilizados como indicadores de metástase cervical.

Linfonodos medindo entre 10 mm e 15 mm são geralmente suspeitos e a acurácia de detectar metástase cervical pode atingir 90% (JOHN et al. 1993). Todavia há numerosas causas de linfadenomegalia e focos metastáticos podem ocorrer em linfonodos com tamanho normal. A TC e a

RM são exames sem morbidade, fornecem detalhes anatômicos, mas não fornecem dados da biologia do linfonodo.

Vários estudos avaliaram a tomografia por emissão de pósitrons (PET) com fluorodeoxyglucose (FDG) para identificar os pacientes que necessitem de esvaziamento cervical. Em três estudos, nos quais a biopsia do linfonodo sentinela com imunoistoquímica era o padrão ouro, a taxa de detecção do PET foi entre 0% e 30%, sendo um exame de baixa confiança (STOECKLI et al. 2002; CIVANTOS et al. 2003). Cerca de 40% das metástases cervicais são inferiores a 10 mm e a taxa de detecção do PET para linfonodos menores que 10mm é de 71% (MENDA e GRAHAM 2005). Até 16% dos pacientes necessitam estudo imunoistoquímico complementar para detectar metástase (CIVANTOS et al. 2003).

Outra questão é a detecção de micrometástase. O uso da TC tem taxa de erro entre 7.5 e 19% (VANDEN BREKEL et al. 1990). No final dos anos 1990s, o PET com uso de F-18 FDG, uma metodologia funcional de imagem fornece dado sobre o metabolismo de glicose no tecido, foi utilizada. Um alto acúmulo de FDG pode estar presente em metástase como também em inflamação e pode resultar em resultados falso positivos. Por outro lado, baixa atividade metabólica tumoral, presença de pequenas lesões e hipoglicemia podem resultar em resultados falso negativos (MURAKAMI et al. 2007).

Em relação aos linfonodos cervicais, NG et al. (2005) relataram que a sensibilidade e a especificidade das imagens do PET foram de 75% e 93%, respectivamente. SIGG et al. (2003) relataram uma sensibilidade de 93% e uma especificidade de 100%. PET em conjunto com imagens de TC mostrou

um aumento de 15% na acurácia para estadiar N se comparado com as imagens de PET isoladamente. PET/CT parece ter uma maior sensibilidade e especificidade para detectar metástase linfonodal (LEONG et al. 2006; WILD et al. 2006).

Por não ser invasiva e ser de menor custo, a ultrassonografia (US) tem sido considerada como uma potencial ferramenta para o estudo do pescoço patológico. Fatores como tamanho, margens irregulares e eco mostraram ter valor preditivo na avaliação dos linfonodos analisados. A sensibilidade, todavia, é limitada por ser dependente do operador do ultrassom (JOHN et al. 1993).

Alguns autores propuseram associar a ultrassonografia com aspiração por agulha fina guiada por ultrassom. TAKES et al. (1998) examinaram, por ultrassonografia, 64 pescoços clinicamente N0 baseados no exame físico. Aqueles com linfonodos maiores que 5 mm foram submetidos a biopsia por agulha fina guiada por ultrassom. Os resultados foram correlacionados com o exame histopatológico e os achados comparados com TC cervical para detectar linfonodos comprometidos. Encontraram 48% de sensibilidade 100% de especificidade, e 79% de acurácia para o ultrassom versus 54%, 92%, e 77% respectivamente para TC. Estes resultados mostraram que em mãos experientes o ultrassom poderia ser uma ferramenta útil. Sua ampla aplicação, todavia, era limitada pela experiência técnica necessária para a interpretação correta.

O estudo de KATAYAMA et al. (2012) incluiu 50 pacientes visando identificar linfonodos cervicais com ruptura capsular através de

ultrassonografia e ressonância magnética. Verificaram que a ultrassonografia discriminou entre linfonodos positivos para ruptura capsular e linfonodos negativos para ruptura capsular com acurácia comparável e maior especificidade do que a ressonância. A ultrassonografia revelou sensibilidade de 82%, especificidade de 89% e acurácia de 85% enquanto a ressonância magnética apresentou sensibilidade de 89%, especificidade de 81% e acurácia de 85%.

O estudo retrospectivo de CHAI et al. (2013) teve como objetivo determinar a acurácia de tomografia computadorizada moderna, multidetectora, com contraste no diagnóstico de ruptura capsular em metástases linfonodais cervicais de carcinoma de cabeça e pescoço. Os resultados da literatura, com sensibilidade para detectar ruptura capsular desde 60% até quase 100%, e deste estudo de CHAI et al. (2013), com valores preditivos positivos de 84% e 71% e valores preditivos negativos de 49% e 48%, mostraram que os achados de ruptura capsular nestes linfonodos eram conflitantes e, portanto, não eram confiáveis para planejamento de tratamento nestes pacientes.

HONG et al. (2015) estudaram um modelo para prever metástases cervicais, utilizando a ultrassonografia tri dimensional com doppler colorido ressonância magnética e tomografia computadorizada com emissão de pósitron para detectar metástases cervicais. A melhor taxa de acerto do estágio N, 84,6%, foi observada por ultrassonografia tridimensional com doppler colorido em comparação com 55,8% observada com ressonância magnética e 71,2% com tomografia computadorizada com emissão de

pósitron. A ultrassonografia apresentou os melhores valores de sensibilidade (78,9%), especificidade (99,0%), valor preditivo positivo (93,8%), valor preditivo negativo (95,0%) e acurácia (95,7%) e a melhor concordância com os achados histopatológicos.

AIKEN et al. (2015) realizaram estudo de imagem pré-operatória para detectar ruptura capsular em linfonodos cervicais em carcinoma de células escamosas de cavidade oral. Embora a especificidade da imagem em cortes para pesquisa de ruptura capsular fosse alta (88%), a sensibilidade foi baixa (68%). A análise de regressão logística combinada mostrou que a presença de necrose foi o melhor preditor radiológico para ruptura capsular comprovada patologicamente enquanto a invasão grosseira e bordos irregulares estavam próximos de serem fatores independentes significativos.

SU et al. (2016) analisaram a capacidade das técnicas de tomografia computadorizada, ressonância magnética, tomografia por emissão de pósitron e ultrassonografia para diagnosticar a ruptura capsular em linfonodos através de revisão sistemática e meta-análise. A sensibilidade média da TC foi de 0.77 e especificidade de 0.85, A sensibilidade média da RMI foi de 0.85, e a especificidade, 0.84. A sensibilidade e a especificidade do PET/CT foram de 0.86. A sensibilidade média da US foi de 0.87 e a especificidade de 0.75. Essa evidencia indica que a TC pode ter uma sensibilidade relativamente menor para diagnosticar a ruptura capsular, e que a TC e RMI podem ter eficácia semelhante para diagnosticar a ruptura capsular. Falta evidência para diagnóstico com PET/CT. Mais estudos relacionados são necessários para confirmar estes resultados inconclusivos.

A metodologia através de estudos com diferentes técnicas de imagem tem mostrado possibilidade para identificar a ruptura capsular do linfonodo cervical antes da cirurgia com eficácia e promissor papel no planejamento da escolha terapêutica.

## **2.5 MODELO PREDITIVO**

Vários estudos pretendem identificar modelos preditivos para identificar metástases em linfonodos cervicais e ruptura capsular de linfonodos metastáticos, fazendo uso de dados clinicopatológicos, imunoistoquímicos e de dados de imagem obtidos por diferentes técnicas.

SPARANO et al. (2004) analisaram 45 pacientes portadores de câncer inicial de língua com linfonodos clinicamente negativos e verificaram que a maior espessura da invasão, o tamanho do tumor (T2), o baixo grau de diferenciação tumoral, o padrão infiltrativo e a presença de invasão se correlacionavam e eram modelo para maior probabilidade de metástases ocultas em linfonodos cervicais.

A partir da necessidade para identificar biomarcadores que se associassem ao processo metastático, ZHOU et al. (2006) desenvolveram um modelo de análise de expressão gênica para prever linfonodos metastáticos e ruptura capsular em carcinoma de língua, como a cortalina e a MMP 9.

LIAO et al. (2012) estudaram as variáveis clinicopatológicas de 115 pacientes com carcinoma de língua em estádios T1 e T2 e clinicamente N0, nos quais não houve variável confiável para prever se o esvaziamento de

linfonodos cervicais é necessário ou não. A partir destes dados, construíram um modelo para prever o risco de metástase em linfonodos cervicais, utilizando análise multivariada de regressão logística baseada em profundidade do tumor, invasão linfovascular e infiltração perineural e mensurado em escores. Neste modelo os autores verificaram uma sensibilidade de 91.2% e especificidade de 65.4%.

LAI et al. (2013) analisaram 108 pacientes com linfadenopatia cervical, com exames de ultrassonografia e punção aspirativa guiada por ultrassonografia 3D com doppler, com objetivo de construir um modelo preditivo para metástases em linfonodos cervicais. A construção de escala preditiva de escore por análise multivariada por regressão logística mostrou que um escore igual ou maior que 7 se correlacionava com linfonodo maligno, com sensibilidade excelente (100%), especificidade de 88,0% e acurácia total de 90.1%.

Segundo ARORA et al. (2017), o risco de metástases linfonodais no carcinoma oral de células escamosas é influenciado por fatores histopatológicos que não são rotineiramente analisados nos laudos patológicos. Estes autores desenharam um sistema de aferição baseado nestes parâmetros que poderiam permitir mudanças nas decisões de tratamento. Desta forma, os fatores independentes significantes foram graduados para desenhar um sistema de escores que permitiu eficiência na avaliação do risco de metástase. De acordo com os autores, este sistema poderia prever a necessidade de realizar o esvaziamento cervical na dependência dos escores encontrados.

## 2.6 RECIDIVA

As taxas de recidiva variam por sitio primário e aumentam com o maior estágio primário do tumor (WANG et al. 2013).

As taxas de sobrevida câncer específica em 5 anos para carcinoma oral de células escamosas em função do status do linfonodo são as seguintes aproximadamente: 25-40% para pacientes com metástase linfonodal cervical (regional) e até 90% para pacientes sem metástase linfonodal (GREENBERG et al. 2003a e b; NOGUTI et al 2012; GANLY et al. 2013).

### 3 JUSTIFICATIVA

Aproximadamente 50% dos pacientes portadores de carcinoma de células escamosas de boca apresentam metástases cervicais no momento do diagnóstico. Entre os casos sem metástases clinicamente detectáveis, cerca de 20% apresentarão metástases cervicais durante o seguimento. A literatura mostra dados escassos ou ausentes quanto a fatores preditivos para ruptura capsular bem como critérios para sua análise.

A metástase linfonodal é um dos principais fatores prognósticos nesses casos e a ruptura capsular, quando presente, é o melhor preditor de sobrevida.

Diversos fatores estão relacionados ao risco de metástases cervicais, destacando-se a topografia do tumor, estágio T, espessura tumoral, embolização vascular, perda da expressão de E-caderina,  $\beta$  catenina e de claudina 7 e hiperexpressão de metaloproteinases, particularmente MMP-2 e MMP-9, porém não há estudos quanto aos fatores preditivos para risco de ruptura capsular e conseqüente pior prognóstico para o paciente.

Portanto, neste estudo propôs compreender o papel de fatores clínicos, patológicos e de marcadores na gênese da ruptura capsular em metástases linfonodais de carcinoma de células escamosas de boca, podendo levar a mudança no planejamento terapêutico e identificar possíveis biomarcadores como fatores preditivos de ruptura capsular.

## 4 OBJETIVOS

Os objetivos deste projeto foram:

- Avaliar a ruptura capsular de metástases de linfonodos cervicais e correlacionar com dados demográficos, clínicos e anatomopatológicos visando identificar possíveis fatores preditivos para a ruptura capsular.
- Avaliar a presença, frequência e características histomorfológicas de ruptura capsular de metástases de linfonodos cervicais e sua importância como preditor de sobrevida.
- Avaliar a relevância da ruptura capsular de metástase de linfonodo cervical como fator prognóstico
- Avaliar o papel de biomarcadores (E-caderina,  $\beta$ -catenina, claudina-7, vimentina, MMP-2, MMP-9, Ki-67 e VEGF) no risco de metástases cervicais na presença de ruptura capsular, como possíveis fatores preditivos em carcinoma bucal.
- Avaliar a construção de modelo preditivo de ruptura capsular, baseado em variantes histopatológicas e Imunoistoquímica e sua relevância.

## **5 MATERIAL E MÉTODOS**

### **5.1 POPULAÇÃO E PERÍODO DO ESTUDO**

Este estudo foi projetado para 500 pacientes com carcinoma de células escamosas de língua e soalho bucal, provenientes do registro de pacientes protocolados no Departamento de Cirurgia de Cabeça e Pescoço e Otorrinolaringologia do A.C.Camargo Cancer Center entre os anos de 1990 e 2010. Foram selecionados 212 pacientes portadores de carcinoma epidermóide de língua e assoalho bucal, que foram submetidos ao tratamento cirúrgico, contemplando tratamento para o tumor primário concomitantemente e esvaziamento ganglionar cervical simultâneo de qualquer tipo, como terapia inicial, no período de 1990 a 2010.

### **5.2 ASPECTOS ÉTICOS**

Este projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do A.C.Camargo Cancer Center sob o protocolo de nº 1704/12 (Anexo 1) em 02/01/2013. Todas as informações coletadas dos prontuários médicos e os dados anatomopatológicos foram coletados, analisados, preservando-se o anonimato dos pacientes incluídos no estudo.

### **5.3 TIPO DE ESTUDO**

Tratou-se de estudo de coorte retrospectivo, no qual foram avaliados a incidência de ruptura capsular em linfonodo cervical metastático, os fatores demográficos, clínicos, patológicos e imunoistoquímicos relacionados ao risco de ruptura capsular e ao prognóstico dos pacientes; assim como, avaliou a construção de modelo preditivo de ruptura capsular, constituído por dados histopatológicos e imunoistoquímicos, que pudessem ser utilizado no planejamento terapêutico para os pacientes com maior risco de desenvolverem a ruptura capsular em linfonodo cervical metastático.

### **5.4 PACIENTES E CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE**

Durante a elaboração do projeto, 720 pacientes foram elegíveis para o estudo. A partir da avaliação de disponibilidade de blocos de parafina para análise imunoistoquímica, foram identificados 228 casos. Estes casos foram estudados a partir dos prontuários disponibilizados através de sistemas eletrônicos MV2000, Docware e h2TC e por microfilmes do Serviço de Arquivo Médico Estatístico (SAME) do A.C.Camargo Cancer Center. Após a análise dos dados demográficos, cirúrgicos e clinicopatológicos dos pacientes, 16 pacientes foram excluídos do estudo, e a amostra final do estudo ficou constituída por 212 pacientes portadores de carcinoma de células escamosas de língua e soalho bucal que atenderam aos critérios de elegibilidade.

#### **5.4.1 Critérios de Inclusão**

Foram incluídos: os pacientes portadores de carcinoma de células escamosas primário, localizado em língua e/ou soalho bucal, que foram submetidos a tratamento cirúrgico, incluindo esvaziamento cervical, no Departamento de Cirurgia de Cabeça e Pescoço e Otorrinolaringologia do A.C.Camargo Cancer Center como tratamento inicial, no período de 1990 a 2010, com seguimento clínico até o último evento clínico ou até o seu óbito; os pacientes com qualquer tamanho tumoral; os pacientes com qualquer modalidade de esvaziamento cervical.

#### **5.4.2 Critérios de Exclusão**

Foram excluídos: os pacientes cujas amostras patológicas não apresentaram representação adequada da neoplasia no bloco de parafina; os pacientes sem informações necessárias nos prontuários; os pacientes que foram submetidos à qualquer tipo de tratamento cirúrgico, radioterápico ou quimioterápico prévios; os pacientes que apresentaram metástase não linfonodal cervical, metástase loco regional e/ou à distância no momento da admissão para o tratamento e os pacientes com tumores localizados em base de língua ou em outros locais ou com neoplasia prévia.

#### **5.4.3 Grupos**

Os pacientes do estudo foram analisados como um todo e posteriormente separados em três grupos de acordo com o status dos linfonodos cervicais analisados.

- Grupo de pacientes sem metástase linfonodal cervical (pN0)
- Grupo de pacientes com metástase linfonodal cervical e sem ruptura capsular (pN+RC-)
- Grupo de pacientes com metástase linfonodal cervical e com ruptura capsular (pN+RC+)

## **5.5 METODOLOGIA**

No que tange à metodologia que foi empregada para este projeto, a mesma contemplou a elaboração de uma ficha padronizada destinada ao registro dos dados demográficos e clínicos dos pacientes cadastrados no Departamento de Cirurgia de Cabeça e Pescoço e Otorrinolaringologia do A.C.Camargo Cancer Center. O preenchimento da referida ficha foi realizado a partir da análise dos prontuários do Departamento mencionado.

Do universo previamente selecionado de pacientes que se enquadraram nos critérios de inclusão mencionados, foi realizada uma análise prévia das laminais histopatológicas, correspondentes ao exame anatomopatológico das peças operatórias do tumor primário e de linfonodos cervicais ressecados. A avaliação foi realizada pela pesquisadora do projeto e por um patologista experiente, especializado em Patologia de Cabeça e Pescoço. O material para estudo imunoistoquímico foi proveniente dos blocos parafinados correspondentes às laminais selecionadas.

## **5.6 RUPTURA CAPSULAR**

A ruptura capsular foi considerada quando o envolvimento do linfonodo cervical pelo tumor, confirmado através do exame anatomopatológico, apresentava descontinuidade de sua cápsula e extravasamento para o tecido adiposo vizinho. Por tratar-se de um estudo retrospectivo e ter ocorrido elevado número de extravio de lâminas e blocos referentes a estes casos. Os dados anatomopatológicos foram coletados a partir das informações constantes dos laudos anatomopatológicos dos pacientes.

## **5.7 DADOS SOCIODEMOGRAFICOS E CLINICOS**

- a) Idade: Para a análise desta variável, foram considerados o valor numérico e a categorização em pacientes com menos de 40 anos e pacientes com 40 anos ou mais.
- b) Gênero: Para a análise desta variável foram considerados grupo masculino e grupo feminino.
- c) Etnia: Para a análise desta variável, foram considerados grupo caucasiano e grupo não caucasiano.
- d) Consumo de tabaco: Para avaliar o consumo de tabaco, os pacientes foram categorizados como fumantes e não fumantes.
- e) Consumo de álcool: Para avaliar o consumo de álcool, os pacientes foram categorizados como não consumidores e consumidores de substancia alcoólica.

- f) Topografia do tumor: Para a avaliação da topografia tumoral, foram classificados em tumores de língua oral e tumores de soalho bucal.
- g) Estadiamento clínico: Para esta variável, foram construídas quatro categorias EC I, EC II, EC III e EC IV, baseadas na classificação TNM, 7a. Edição (EDGE et al. 2010).
- h) Tumor, clínico: Esta variável apresentou quatro categorias constituídas por T1, T2, T3 e T4, baseadas na Classificação TNM, 7a. Edição (EDGE et al. 2010).
- i) Linfonodo, clínico: Esta variável contemplou seis categorias constituídas por N0, N1, N2a, N2b, N2c e N3, baseadas na Classificação TNM, 7a. Edição (EDGE et al. 2010).
- j) Tumor, patológico: Esta variável apresentou quatro categorias constituídas por pT1, pT2, pT3 e pT4, baseado na Classificação TNM, 7a. Edição (EDGE et al. 2010).
- k) Linfonodo, patológico: Esta variável contemplou cinco categorias constituídas por N0, N1, N2a, N2b, e N2c, baseado na Classificação TNM, 7a. Edição (EDGE et al. 2010).
- l) Tratamento: A variável tratamento foi representada por três categorias cirurgia, cirurgia e radioterapia (RT) e cirurgia, radioterapia (RT) e quimioterapia (QT).
- m) Recidiva: A recidiva foi classificada em ausente ou presente.
- n) Segundo tumor primário: O segundo tumor primario foi classificado em ausente ou presente.

- o) Situação no último evento ou retorno: A variante situação no último evento ou retorno contemplou cinco categorias Vivo, SOE (sem câncer), Vivo, com câncer, Obto, SOE (outras causas, independentes do câncer), Óbito por câncer e Perda de seguimento.

## 5.8 DADOS PATOLÓGICOS

Os critérios usados para definir as variáveis anatomopatológicas foram:

- a) Tamanho do tumor: Para a análise de tamanho tumoral foi considerado o dado existente no laudo anatomopatológico devido à escassez de material e à incidência dos cortes que não permitiram adequada aferição do maior diâmetro,
- b) Espessura do tumor: Para a análise de espessura tumoral foi considerado o dado existente no laudo anatomopatológico devido à escassez de material e à incidência dos cortes que não permitiram adequada aferição da espessura. Para as análises estatísticas foram utilizados o ponto de corte de 4.0mm.
- c) Grau de diferenciação histológica: Para o grau histológico foram utilizados os critérios de classificação dos tumores da Organização Mundial de Saúde (OMS 2005):
- Grau 1 (bem diferenciados): tumores constituídos por células poligonais estratificadas, numerosas e visíveis pontes intercelulares, baixo índice mitótico, pequeno grau de anaplasia e queratinização, com numerosas pérolas córneas.

- Grau 2 (moderadamente diferenciados): tumores constituídos por células poligonais estratificadas, poucas pontes intercelulares, maior índice mitótico, pleomorfismo nuclear com pérolas córneas escassas ou ausentes.
- Grau 3 (pouco diferenciados): tumores constituídos por esparsas células poligonais, com raras pontes intercelulares. Predomínio de células pequenas alongadas e indiferenciadas, acentuado pleomorfismo e hipercromasia nuclear com mitoses numerosas e atípicas.

A classificação do grau de diferenciação histológica foi classificada segundo o padrão predominante.

- d) Margens de ressecção cirúrgicas: As margens de ressecção cirúrgicas foram consideradas livres quando distavam 5,0 mm ou mais da extremidade tumoral enquanto as margens comprometidas distavam menos que 5,0 mm da extremidade tumoral.
- e) Invasão vascular sanguínea: A invasão vascular sanguínea foi classificada em ausente ou presente.
- f) Invasão vascular linfática: A invasão vascular linfática foi classificada em ausente ou presente.
- g) Infiltração perineural; A infiltração perineural foi classificada em ausente ou presente.
- h) Reação desmoplásica; A reação desmoplásica foi dividida em ausente ou presente;

- i) Inflamação; A presença do infiltrado inflamatório peri e intratumoral foi dividida em ausente ou presente.
- j) Necrose; A necrose foi dividida em ausente ou presente.
- k) Tipo de invasão tumoral: Para a avaliação do padrão de invasão foram utilizados critérios modificados de ANNEROTH et al. (1987) e BRYNE et al. (1989).
- Padrão de infiltração tipo Deslocamento (“pushing”): Caracterizado quando as células tumorais invadem em grandes blocos celulares, com interface tumor-hospedeiro bem delimitada.
  - Padrão de infiltração tipo Infiltrante (“infiltrating”): Caracterizado por invasão em blocos e/ou faixas de cordões sólidos de células tumorais que infiltram amplamente o estroma do órgão.
  - Padrão de infiltração dissociativo (“dissociation”): Dissociação celular espraçada e pronunciada, pequeno grupo de células tumorais e/ou em células individuais infiltrando difusamente o estroma.
- l) Modo de invasão de Yamamoto-Kohama: Foi também utilizado o modo de invasão de Yamamoto-Kohama, conforme descrito no artigo de YAMAMOTO et al. (1983 e 1984):
- Grau 1: composto por bordos bem definidos
  - Grau 2: composto por bordos menos definidos e cordões
  - Grau 3: composto por grupos de células e bordos indistintos e grupos de células

- Grau 4: composto por crescimento ou invasão difusa e profunda, subgrupado como:
  - Grau 4C: invasão difusa de microninhos tumorais de padrão cordonado
  - Grau 4D: invasão difusa de padrão difuso
- m) Avaliação de metástase linfonodal: A metástase linfonodal foi dividida em ausente ou presente.
- n) Avaliação de ruptura capsular em linfonodo metastático: A avaliação de ruptura capsular em linfonodo metastático foi categorizada em ausente ou presente.
- o) Total de linfonodos isolados no exame patológico do esvaziamento cervical

Foi observada a contagem de todos os linfonodos identificados em cada esvaziamento cervical, constante do laudo histopatológico.
- p) Numero de linfonodos positivos: Foi observada a contagem de todos os linfonodos metastáticos (positivos) em cada esvaziamento cervical, constante do laudo histopatológico.
- q) Tamanho do maior linfonodo examinado: A medida do maior linfonodo constante do laudo histopatológico foi registrada.
- r) Cadeias linfonodais comprometidas por metástase: Esta variante foi dividida em três grupos: ipsilateral, bilateral e contralateral.
- s) Densidade do linfonodo = razão do número: Esta variante numérica foi obtida a partir da razão entre o número de linfonodos positivos e o

número total de linfonodos provenientes do esvaziamento cervical e constantes do laudo histopatológico.

## **5.9 DADOS IMUNOISTOQUÍMICOS**

### **5.9.1 Construção do Microarranjo de Tecidos - Tissue Microarray (TMA)**

Os TMAs foram construídos utilizando-se somente carcinomas de cavidade oral (língua e soalho bucal). Os casos foram resgatados do arquivo de Anatomia Patológica e blocos representativos de cada tumor foram separados.

Foram realizados dois cortes (5  $\mu$ m) de cada caso para coloração por hematoxilina e eosina (HE) (5  $\mu$ m); as laminae de HE foram analisadas para a identificação de áreas mais representativas do tumor de interesse para a construção do TMA através de marcações circulares nestas regiões, evitando-se áreas de necrose e áreas extensas de laminae de queratina (MONTEIRO et al. 2010, MONTEIRO et al. 2014). Usando o *tissue microarrayer* (Beecher Instruments, Silver Spring, MD), um instrumento manual de precisão para confecção de micro arranjo de tecidos (Figura 20), as áreas de interesse previamente marcadas nas lâminas foram selecionadas para a amostra das áreas a serem colocadas nos TMAs e identificadas nos blocos doadores. De cada caso, foram retirados dois cilindros de 10 mm (cores) de duas áreas distintas do tumor de cada bloco doador e transferidas para os blocos receptores.

O TMA final foi representado por quatro blocos contendo respectivamente 64, 60, 47 e 64 áreas duplicadas de tumor, em um total de 235 áreas duplicadas, constituindo 235 amostras de carcinoma de cavidade oral. Cortes (5 µm) foram realizados e corados por HE para confirmar a presença de tecido tumoral e avaliar a histologia tumoral. Um caso adequado deve conter o tumor em mais de 10% da área representada. Oito cortes adicionais (5 µm) foram feitos para análise Imunoistoquímica. A posterior avaliação dos cortes de TMA corados por HE revelou que 23 casos, duplicados, apresentaram tumor ínfimo ou ausente e foram excluídos do estudo; a amostra final ficou constituída por 212 casos.

Os cortes histopatológicos por HE foram posteriormente avaliados, juntamente com os cortes corados por Imunoistoquímica (oito biomarcadores) por dois patologistas de forma independente de acordo com métodos de escore previamente considerados.

### **5.9.2 Imunoistoquímica**

Todas as amostras em blocos de parafina foram cortadas em 3µm de espessura utilizando técnicas histológicas convencionais e foram transferidas para lâminas (StarFrost®, Waldemar Knittel, Germany). As reações de Imunoistoquímica foram realizadas de forma automatizada, utilizando o equipamento Ventana BenchMark XT (ROCHE® Diagnostics, Mannheim, Alemanha).

As reações foram sempre acompanhadas de um controle positivo conforme recomendação do fabricante. As reações de Imunoistoquímica

automatizadas seguem um protocolo estabelecido de acordo com os resultados obtidos por padronização prévia. A recuperação antigênica é realizada utilizando-se a solução Cell Conditioner (ROCHE®) por 30 minutos ou 60 minutos, em temperaturas pré-definidas. Após o bloqueio e séries de lavagens com Reaction Buffer, o anticorpo primário específico é incubado por um determinado tempo, que neste estudo variou de 32 ou 60 minutos. A contra coloração é feita com HEMATOXYLIN II (ROCHE®) e BLUING REAGENT (ROCHE®). As lâminas foram retiradas do equipamento e submetidas a processos de desidratação e montagem também de forma automatizada, no equipamento Tissue-Tek® Prisma®/Film® (SAKURA).

### **5.9.3 Análise das proteínas**

As reações de Imunoistoquímica para E-caderina,  $\beta$ -catenina, claudina-7, vimentina, metaloproteinase da matriz-2 (MMP-2), metaloproteinase da matriz-9 (MMP-9), Ki-67 e VEGF foram realizadas seguindo o protocolo da automação, mencionado acima, utilizando as proteínas descritas no Quadro 2.

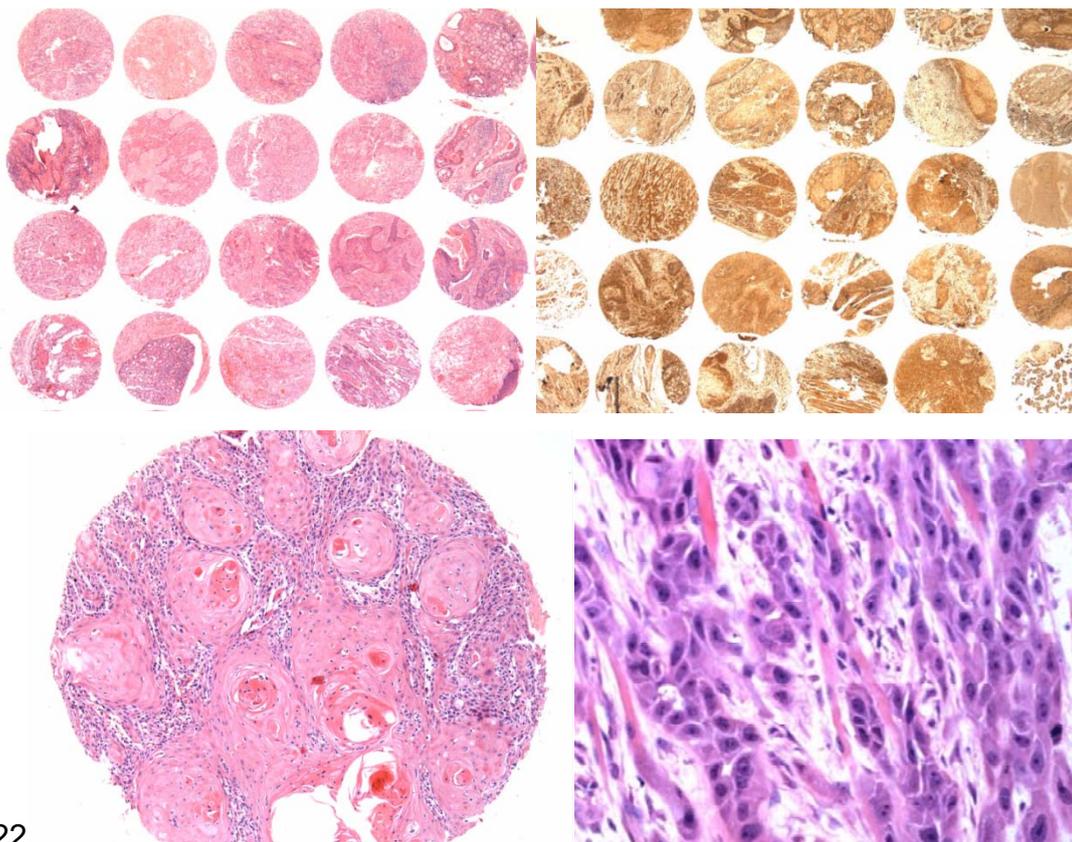
**Quadro 2** - Painel de biomarcadores.

<b>Anticorpo</b>	<b>Fabricante</b>	<b>Clone</b>	<b>N° Catalogo</b>	<b>Diluição</b>	<b>Tempo de incubação / Recuperação antigênica</b>	<b>Padrão de marcação</b>
<b>E caderina</b>	Ventana	36	790-4497	Ventana	30CC1/32AB	Membrana
<b>β- catenina</b>	Ventana	14	760-4242	Ventana	36CC1/32AB	Membrana e Citoplasma
<b>Claudina 7</b>	Invitrogen	Policlonal	187378	1/500	60CC1/60AB	Membrana
<b>Vimentina</b>	Ventana	V9	790-2988	Ventana	30CC1 /32AB	Citoplasma
<b>MMP2</b>	Neomarkers	Policlonal	RB9233-P	1/100	30CC1/32AB	Citoplasma
<b>MMP9</b>	Abcam	EP1254	790-2917	1/400	30CC1/32AB	Citoplasma
<b>Ki67</b>	Ventana	30.9	790-4286	Ventana	60CC1/32AB	Núcleo
<b>VEGF</b>	Thermo Scientific	SP28	MA5- 14573	Pronto V	30CC1/32AB	Citoplasma
* Tempo utilizado para o CC1 e para a incubação do anticorpo primário, por exemplo 30CC1 32AB - 30 minutos em CC1 (solução condicionante de células) e 32 minutos de incubação do anticorpo primário.						

#### **5.9.4 Interpretação das Reações Imunoistoquímicas**

As lâminas de TMAs coradas por Hematoxilina-Eosina e por imunoistoquímica podem ser observadas na Figura 7, assim como detalhes do carcinoma de células escamosas de cavidade oral.

A avaliação dos resultados do estudo imunoistoquímico das proteínas E-caderina, β-catenina, claudina-7, vimentina, metaloproteinase de matriz-2(MMP-2), metaloproteinase de matriz-9 (MMP-9), Ki-67 e VEGF foi realizada, quantitativamente, através do microscópio óptico, de forma não automatizada, pela pesquisadora em conjunto com o patologista colaborador do estudo, sem o conhecimento da evolução clínica ou dos dados anatomopatológicos no momento da análise.



22

**Figura 6** - Casos de carcinoma de células escamosas de cavidade oral em TMA (HE e Imunoistoquímica). 1. Fotomicrografia (HE 20x) mostrando uma visão geral de alguns casos do TMA, por HE; 2. Fotomicrografia (Imunoistoquímica 20x) mostrando uma visão geral de alguns casos do TMA. 3. Fotomicrografia (HE 100x) mostrando um caso do TMA representado por CCE bem diferenciado; 4. Fotomicrografia (HE 400x) mostrando detalhe de um caso do TMA representado por CCE pouco diferenciado.

**E-caderina e  $\beta$ -catenina:** Para avaliação da E-caderina e da  $\beta$ -catenina, ambos os cores do TMA foram avaliados para cada paciente. Para validação do resultado, foi considerada a área com maior representatividade de tumor face a dimensão de cada core.

Os critérios utilizados para a avaliação foram baseados nos critérios de FAN et al. (2012):

A distribuição/intensidade de coloração:

Marcação negativa nas células epiteliais neoplásicas (= 0),

Marcação indefinida com irregularidade na marcação do anticorpo em membrana das células epiteliais neoplásicas (= 1),

Marcação definida, porém, descontínua na marcação (= 2)

Marcação positiva e definida na membrana (nenhuma perda) (= 3)

Porcentagem de células positivas:

Amostras com “hot spot” negativo foram consideradas 0,

Amostras com <50 % de células neoplásicas positivas (= 1),

Amostras com >50 % de células neoplásicas positivas (= 2),

Após essa análise semi-quantitativa, um score foi gerado no qual os casos com distribuição de perda 0 e 1 foram considerados negativos e os casos com marcação definida e nenhuma perda (2 e 3), com porcentagem de células >10%, foram consideradas positivas.

Score 0- expressão negativa para E-caderina em algum ninho tumoral

Score 1- marcação indefinida e irregular de E-caderina

Score 2- marcação definida e descontínua de E-caderina

Score 3- não houve perda na expressão de E-caderina

**Claudina-7:** As seguintes pontuações foram atribuídas para avaliação da claudina- 7:

Score 0- para ausência de positividade,

Score 1-para a positividade detectada na membrana em menos de 50% das células tumorais,

Score 2-para a positividade detectada na membrana em mais de 50% das células tumorais.

Para a análise estatística, os casos foram reagrupados como negativo (até 10% de células positivas) e positivo (mais do que 10% de células positivas). As glândulas salivares foram consideradas como controle interno da amostra (LOURENÇO et al. 2010a).

**Vimentina:** A imunomarcação foi analisada à microscopia de luz, e o padrão de imunexpressão da vimentina foi classificado quanto à presença (+) ou ausência (-)

**MMP-2 e MMP-9:** A imunomarcação foi analisada à microscopia de luz, e o padrão de imunexpressão das MMP-2 e MMP-9 foi classificado quanto à presença (+) ou ausência (-) de acordo com VASCONCELOS et al. (2013);

**Ki-67:** Para análise estatística do Ki-67, foi utilizado ponto de corte de 50%, para definir alta e baixa expressão de Ki-67 baseado no estudo de DE VICENTE et al. (2002).

**VEGF:** A medida da expressão de VEGF é realizada no tumor primário através de imunoistoquímica (IIQ). Quando os patologistas determinavam que a marcação, fraca ou negativa, era classificada como baixo nível de marcação e que a expressão, homogênea e forte, era classificada como alto nível de marcação (KIM et al. 2015).

## 5.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram avaliados usando o Software STATA/SE 13.0 e o Excel 2007 para realizar a análise estatística.

Para caracterizar a correlação entre as variáveis clinicodemográficas, anatomopatológicas e imunoistoquímicas (comparação entre grupos) estudadas e a presença de ruptura capsular foram aplicados os testes de qui-quadrado e/ou exato de Fisher.

As variáveis contínuas foram descritas como média e desvio padrão. A comparação de médias foi realizada pelo teste t de Student.

A sobrevida global foi calculada usando os dados a partir da data da cirurgia até a data da última informação objetiva de seguimento ou óbito.

A sobrevida câncer específica foi calculada a partir da data da cirurgia até a data do óbito pelo câncer de língua e/ou assoalho de boca.

A sobrevida atuarial foi calculada por meio da técnica de Kaplan-Meier e a comparação univariada entre as curvas pelo teste de log-rank. A análise multivariada de sobrevida foi realizada por meio de modelo de riscos proporcionais de Cox, visando à identificação de grupos de variáveis com valor prognóstico independente para predição dos riscos de recorrência e de óbito.

Para todos os testes, verificou-se a associação entre as variáveis categóricas, sendo aplicado com 95% de confiança, isto é, os testes foram considerados estatisticamente significativos quando o valor de p foi  $<0,05$  (indicativo de significância estatística).

## **6 RESULTADOS**

A amostra total dos casos foi constituída por 212 pacientes portadores de carcinoma de células escamosas de boca (língua e soalho da boca) e submetidos a tratamento cirúrgico do tumor e esvaziamento ganglionar cervical simultâneo, no Departamento de Cirurgia de Cabeça e Pescoço e Otorrinolaringologia do A.C.Camargo Cancer Center no período de 1990 a 2010.

### **6.1 VARIÁVEIS SOCIODEMOGRÁFICAS DA AMOSTRA DO ESTUDO**

Os resultados dos dados sociodemográficos dos 212 casos de carcinoma de células escamosas de cavidade oral da amostra são apresentados a seguir.

**Tabela 1 - Características sociodemográficas da amostra do estudo**

Variável	Categoria	N	%
<b>Gênero</b>			
	Masculino	157	74.06
	Feminino	55	25.94
<b>Idade</b>			
	≥ 40 anos	187	88.20
	<40 anos	25	11.80
<b>Etnia</b>			
	Caucasiana	191	90.00
	Não caucasiana	21	10.00
<b>Tabagismo</b>			
	Não	62	34.49
	Sim	142	65.51
<b>Consumo de álcool</b>			
	Não	94	46.31
	Sim	110	53.69

- **Idade**

A idade média ao diagnóstico foi de 55,15 anos (desvio padrão 13,13 anos). Em pacientes com tumores primários de soalho bucal, a idade média foi de 55,58 anos (desvio padrão, 9,51 anos e naqueles com tumores de língua, 55,02 anos (desvio padrão 14,08 anos).

- **Gênero**

Neste conjunto de dados, havia 157 pacientes masculinos (74,06%) e 55 femininos (25,94 %), com razão de 2,9:1. Nos pacientes com tumores de soalho bucal, havia 41 pacientes masculinos (82,00 %) e 9 femininos (18,00%) com razão de 4.6:1, enquanto naqueles com tumores de língua, havia 116 pacientes (71,60%) e 46 femininos (28,40%) com razão de 2.5:1.

- **Etnia**

A etnia do paciente estava discriminada em 210 pacientes. Entre os identificados, havia 189 caucasianos (90,00%) e 21 não-caucasianos (10,00%).

- **Tabagismo**

O consumo de tabaco estava informado no prontuário de 203 pacientes. Entre os informados, havia 141 tabagistas (65,51%) e 62 não tabagistas (34,49%).

- **Consumo de Álcool**

O consumo de álcool foi registrado em 203 pacientes. Havia 94 pacientes (46,31%) que negavam o consumo de álcool enquanto 109 (53,69%) faziam isto regularmente.

## **6.2 VARIÁVEIS CLÍNICAS E PATOLÓGICAS DA AMOSTRA DO ESTUDO**

Os resultados dos dados clínicos e patológicos dos 212 casos de carcinoma de células escamosas de cavidade oral da amostra são apresentados a seguir.

**Tabela 2** -Características clinicopatológicas da amostra do estudo

Variável	Categoria	N	%
<b>Topografia do tumor</b>			
	Língua	162	76.42
	Soalho da boca	50	23.58
<b>Estadiamento clínico</b>			
	I	24	11.33
	II	61	28.77
	III	67	31.60
	IV	60	28.30
<b>T clínico</b>			
	1	26	13.21
	2	93	43.87
	3	54	25.47
	4	37	17.45
<b>N clínico</b>			
	0	120	56.60
	1	54	25.47
	2a	16	7.55
	2b	12	5.67
	2c	8	3.77
	3	2	0.94
<b>pT</b>			
	1	49	23.11
	2	86	40.57
	3	42	19.81
	4	35	16.51
<b>pN</b>			
	0	93	43.87
	1	43	20.28
	2a	1	0.47
	2b	49	23.11
	2c	26	12.27
<b>Tratamento</b>			
	Cirurgia	104	49.06
	Cirurgia + RT	95	44.81
	Cirurgia + RT + QT	13	6.13
<b>Progressão</b>			
	Não	118	56.19
	Sim	92	43.81
<b>Recidiva</b>			
	Não	122	58.38
	Sim	87	41.62
<b>Segundo tumor primário</b>			
	Não	182	88.35
	Sim	24	11.65

Cont/ Tabela 3

Variável	Categoria	N	%
<b>Situação no último evento</b>			
	Vivo, SOE	81	38.21
	Vivo com câncer	24	4.72
	Óbito, SOE	20	9.43
	Óbito por câncer	88	41.51
	Perda de seguimento / Não informado	13	6.13
<b>Tamanho do tumor</b>			
	≤ 4.0 cm	58	27.8
	> 4.0 cm	151	72.2
<b>Espessura do tumor</b>			
	< 0.7cm	43	21.9
	≥ 0.7cm	153	78.1
<b>Grau histológico</b>			
	I	108	51.43
	II - III	102	48.57
<b>Margens cirúrgicas</b>			
	Livres	194	91.51
	Comprometidas	18	8.49
<b>Metástase nodal</b>			
	Não	93	43.87
	Sim	119	56.13
<b>Ruptura capsular em LNs +</b>			
	Não	63	29.72
	Sim	56	26.41
	Sem metástase nodal	93	43.87
<b>Lateralidade em LNs +</b>			
	Unilateral	93	43.87
	Bilateral	26	12.26
	Sem metástase nodal	93	43.87
<b>Invasão sanguínea</b>			
	Não	199	94.76
	Sim	11	5.24
<b>Invasão linfática</b>			
	Não	152	72.38
	Sim	58	27.62
<b>Infiltração perineural</b>			
	Não	106	50.48
	Sim	104	49.52
<b>Desmoplasia</b>			
	Não	137	73.26
	Sim	50	26.74
<b>Inflamação</b>			
	Não	81	43.32
	Sim	106	56.68
<b>Necrose</b>			
	Não	121	64.71
	Sim	66	35.29
<b>Padrão de invasão</b>			
	"Pushing"	151	81.18
	Infiltrativo-Dissociativo	35	18.82

- **Segundo Tumor Primário**

A característica segundo tumor primário não foi descrita em seis pacientes.

Nos tumores de língua oral, um segundo tumor primário esteve ausente em 141 pacientes (89,24%) e presente em 17 pacientes (10,76%) enquanto nos tumores de soalho bucal esteve ausente em 41 pacientes (85,42%) e presente em 7 pacientes (14,58%).

- **Acompanhamento Pós-Tratamento**

O tempo de seguimento variou de 0,5263 a 270,0658 meses, com média de 64,9736 meses. Durante este período, houve um total de 87 pacientes (41.625) com recidiva tumoral; destes, 43 pacientes (20,57%) tiveram recidiva local, 34 pacientes (16,27%) recidiva cervical e dez pacientes (4,78%), em outros órgãos como primeiro sítio de recidiva.

- **Tamanho do Tumor ao Exame Patológico**

O tamanho do tumor primário variou de 0,4cm a 10,0cm com média de 3,34cm (desvio padrão 1,77 cm).

- **Espessura Tumoral**

A espessura do tumor primário variou de 1.00 mm a 62,00 mm (média 17,11mm e desvio padrão 13,07 mm).

- **Grau de Diferenciação Histológica**

De acordo com o grau de diferenciação histológica, os pacientes foram divididos em bem-diferenciados (108 pacientes, 51,43%), moderadamente diferenciados (90 pacientes, 42,86%) e pouco diferenciados (12 pacientes, 5,71%).

- **Invasão Vascular Sanguínea e Linfática**

Tais características não foram descritas em dois pacientes.

- **Infiltração Perineural**

Em dois pacientes, tal característica não pode ser avaliada.

- **Avaliação do Padrão de Invasão**

Tal característica foi avaliada em 186 pacientes.

- **Desmoplasia Estromal**

A presença de desmoplasia estromal foi avaliada em 187 pacientes.<sup>2</sup>

- **Infiltrado Inflamatório Peri e Intratumoral**

Foi avaliada em 187 pacientes.

- **Necrose Tumoral**

Avaliou-se a presença de necrose tumoral em 187 pacientes.

- **Ruptura Capsular nos Linfonodos Cervicais**

A presença de ruptura capsular foi avaliada em 119 pacientes, que apresentaram comprometimento metastático linfonodal. Entre os pacientes com metástase linfonodal, a ruptura capsular esteve ausente em 63 pacientes (52,94%) e presente em 56 pacientes (47,06%).

Presente em 56 pacientes, os casos com ruptura capsular corresponderam a 26,42% da amostra total do estudo

- **Número Total de Linfonodos**

Em relação ao número total de linfonodos isolados nos esvaziamentos cervicais de 212 pacientes, o valor da média foi de 54.15 (desvio padrão, 32.314).

- **Tamanho do Maior Linfonodo**

Quanto ao diâmetro do maior linfonodo, o valor da média foi de 21.11 mm (desvio padrão, 11,05 mm) nos esvaziamentos cervicais de 206 pacientes.

- **Número de Linfonodos Positivos**

O número total de linfonodos metastáticos variou de 1 a 24 linfonodos, com média de 1.99 (desvio padrão, 3.53) nos esvaziamentos cervicais de 212 pacientes.

- **Lateralidade dos Linfonodos Positivos**

119 pacientes foram analisados quanto a lateralidade dos linfonodos metastáticos; 93 casos (78,15%) apresentavam linfonodos positivos em cadeia linfonodal ipsilateral, 24 casos (20,17%), linfonodos positivos em cadeia linfonodal bilateral e dois casos (1,68%), linfonodos positivos em cadeia linfonodal contralateral.

### **6.3 VARIÁVEIS IMUNOISTOQUÍMICAS DA AMOSTRA DO ESTUDO**

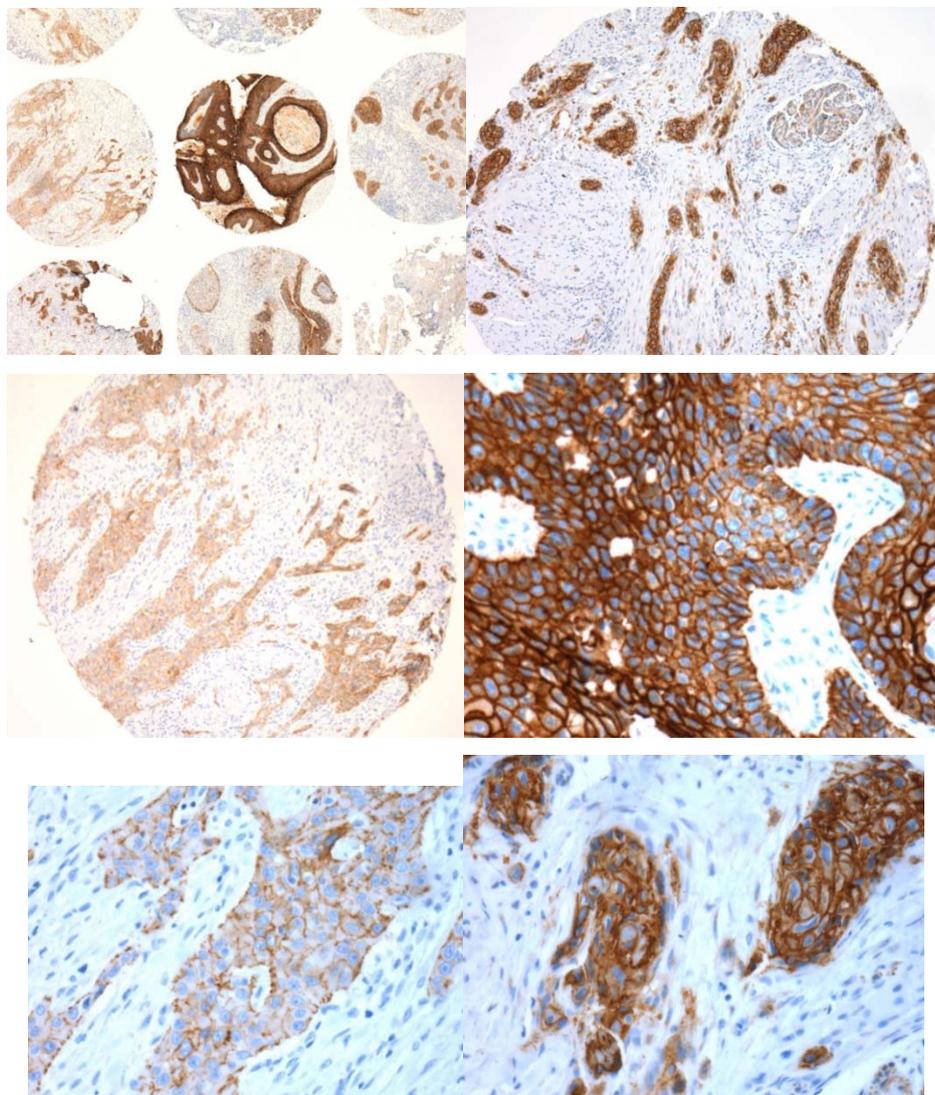
Os resultados da imunomarcção por E-caderina,  $\beta$ -catenina, Claudina-7, Vimentina, MMP-2, MMP-9, Ki-67 e VEGF em carcinoma de células escamosas de cavidade oral são apresentados a seguir.

**Tabela 3** -Características imunoistoquímicas da amostra do estudo

<b>Variável imunoistoquímica</b>	<b>Categoria</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>E-caderina</b>			
	Negativa e < 50%	96	51.89
	> 50%	89	48.11
<b>β-catenina</b>			
	Negativa e < 50%	122	67.03
	> 50%	60	32.97
<b>Claudina-7</b>			
	Negativo	92	51.98
	Positivo	85	48.02
<b>Vimentina</b>			
	Negativo	116	64.80
	Positivo	63	35.20
<b>MMP-2</b>			
	Negativo	145	80.56
	Positivo	35	19.44
<b>MMP-9</b>			
	Negativo	110	60.11
	Positivo	73	39.89
<b>Ki-67</b>			
	Negativa e < 50%	85	47.2
	> 50%	95	52.8
<b>VEGF</b>			
	Negativo-Positivo focal	74	40.44
	Positivo difuso	109	59.56

- **Expressão de E-caderina**

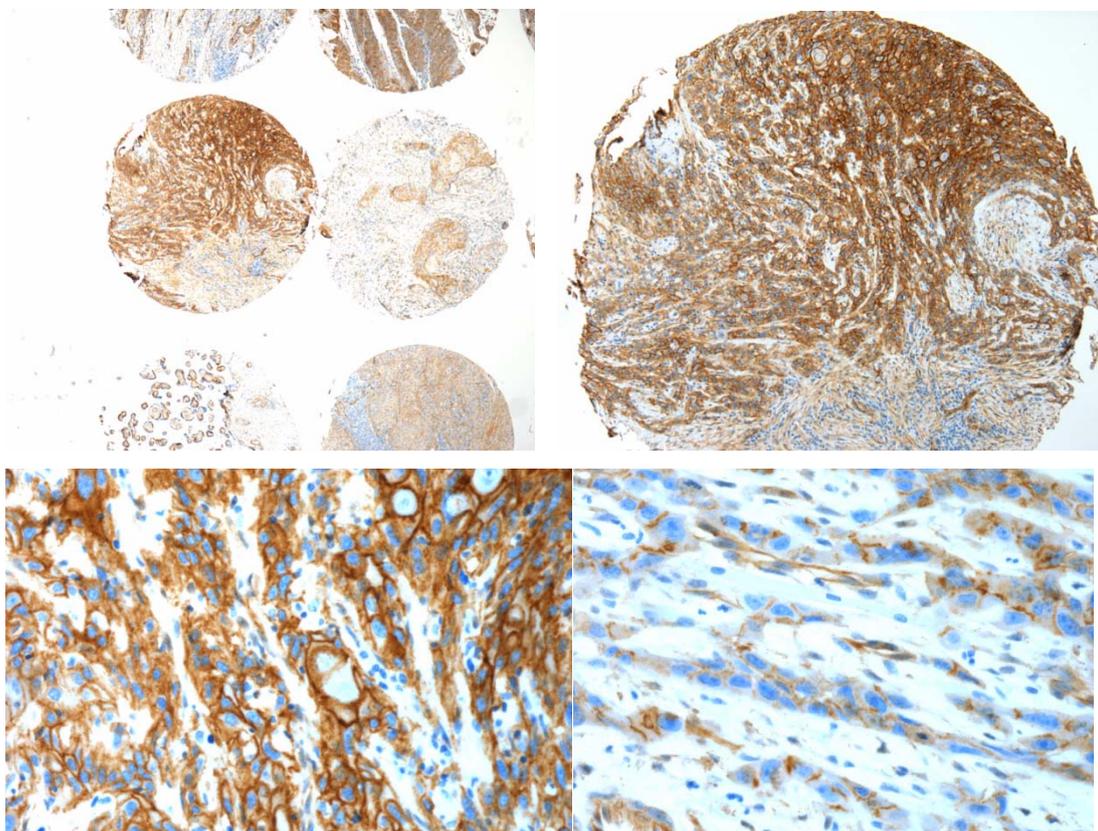
Sua expressão não pode ser avaliada em 27 pacientes (Figura 8).



**Figura 7** - Imunoexpressão de E-caderina em CCE de cavidade oral. 1. Fotomicrografia (Imunoistoquímica E-caderina 40x) mostrando uma visão geral de alguns casos do TMA com variações das expressões do anticorpo E-caderina; 2. Fotomicrografia (Imunoistoquímica E-caderina 100x) de CCE moderadamente diferenciado com expressão forte do anticorpo E-caderina; 3. Fotomicrografia (Imunoistoquímica E-caderina 100x) de CCE moderadamente diferenciado com expressão fraca do anticorpo E-caderina; 4. Fotomicrografia (Imunoistoquímica E-caderina 400x) de CCE bem diferenciado demonstrando a expressão forte do anticorpo E-caderina de padrão membrana (contínua) e citoplasmático; 5. Fotomicrografia (Imunoistoquímica E-caderina 400x) de CCE moderadamente diferenciado com expressão fraca do anticorpo E-caderina; 6. Foto,icrografia (imunoistoquímica E-caderina 400x) de CCE pouco diferenciado demonstrando a expressão irregular do anticorpo E-caderina na membrana citoplasmática das células neoplásicas.

- **Expressão de  $\beta$ -caterina**

A expressão de  $\beta$ -caterina foi avaliada em 182 pacientes (Figura 9).

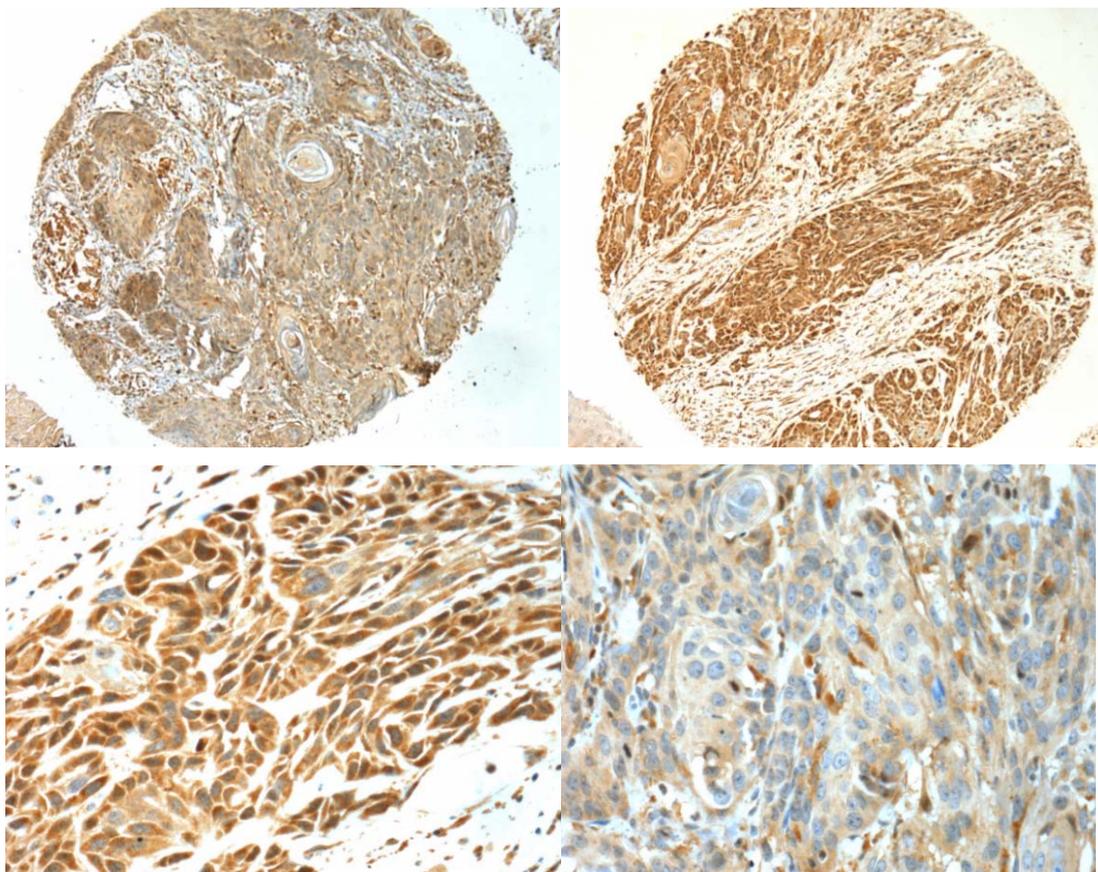


**Figura 8** - Imunoexpressão de  $\beta$ -catenina em CCE de cavidade oral. 1. Fotomicrografia (Imunoistoquímica  $\beta$ -catenina 40x) com uma visão geral de casos do TMA com expressão do anticorpo  $\beta$ -catenina; 2. Fotomicrografia (Imunoistoquímica  $\beta$ -catenina 100x) de CCE moderadamente diferenciado com expressão do anticorpo  $\beta$ -catenina; 3. Fotomicrografia (Imunoistoquímica  $\beta$ -catenina 400x) demonstrando a expressão forte da proteína  $\beta$ -catenina de padrão membrana e citoplasmático; 4. Fotomicrografia (Imunoistoquímica  $\beta$ -catenina 400x) demonstrando a expressão fraca da proteína  $\beta$ -catenina de padrão membrana e citoplasmático.

- **Expressão de Claudina-7**

Este marcador foi avaliado em 177 pacientes.

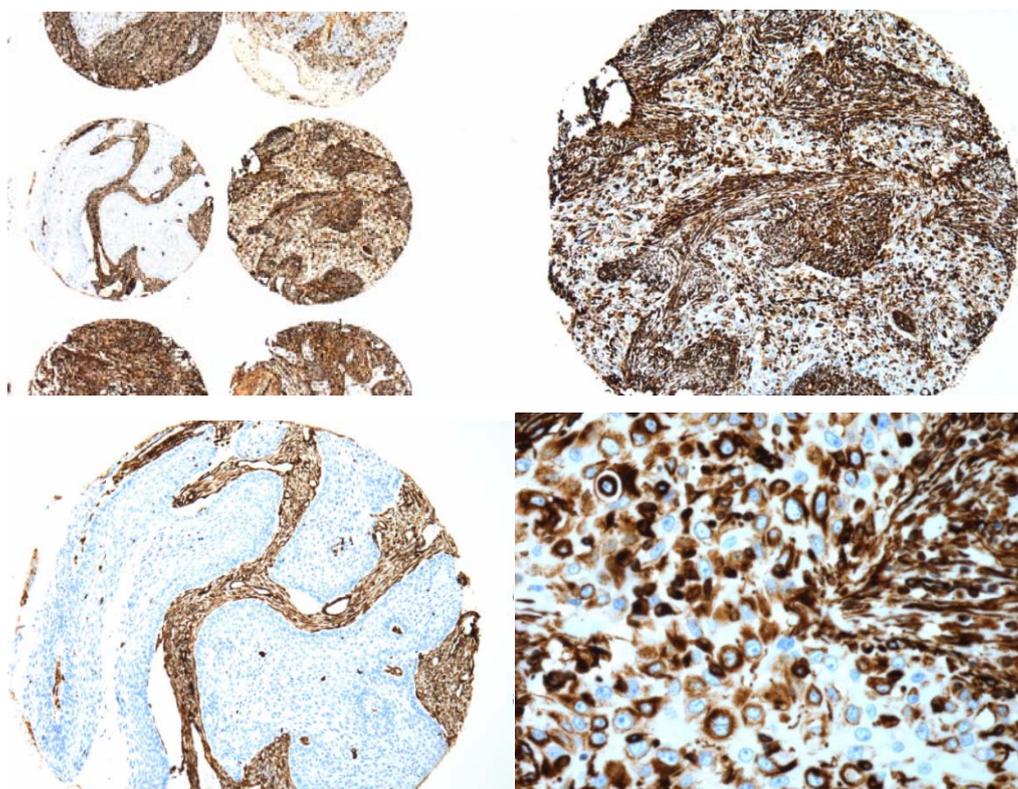
Nos 85 casos positivos (48,02%), houve expressão em menos de 50% das células neoplásicas em 59 pacientes (33,33%) e expressão em mais de 50% das células neoplásicas em 26 pacientes (14,69%) (Figura 10).



**Figura 9** - Imunoexpressão de Claudina-7 em CCE de cavidade oral. 1. Fotomicrografia (Imunoistoquímica Claudina-7 100x) de CCE moderadamente diferenciado com expressão fraca do anticorpo Claudina-7; 2. Fotomicrografia (Imunoistoquímica Claudina-7 100x) de CCE moderadamente diferenciado com expressão forte do anticorpo Claudina-7; 3. Fotomicrografia (Imunoistoquímica Claudina-7 400x) demonstrando a expressão forte da proteína Claudina-7 de padrão citoplasmático. 4. Fotomicrografia (Imunoistoquímica Claudina-7 400x) demonstrando a expressão fraca da proteína Claudina-7 de padrão citoplasmático.

- **Expressão de Vimentina**

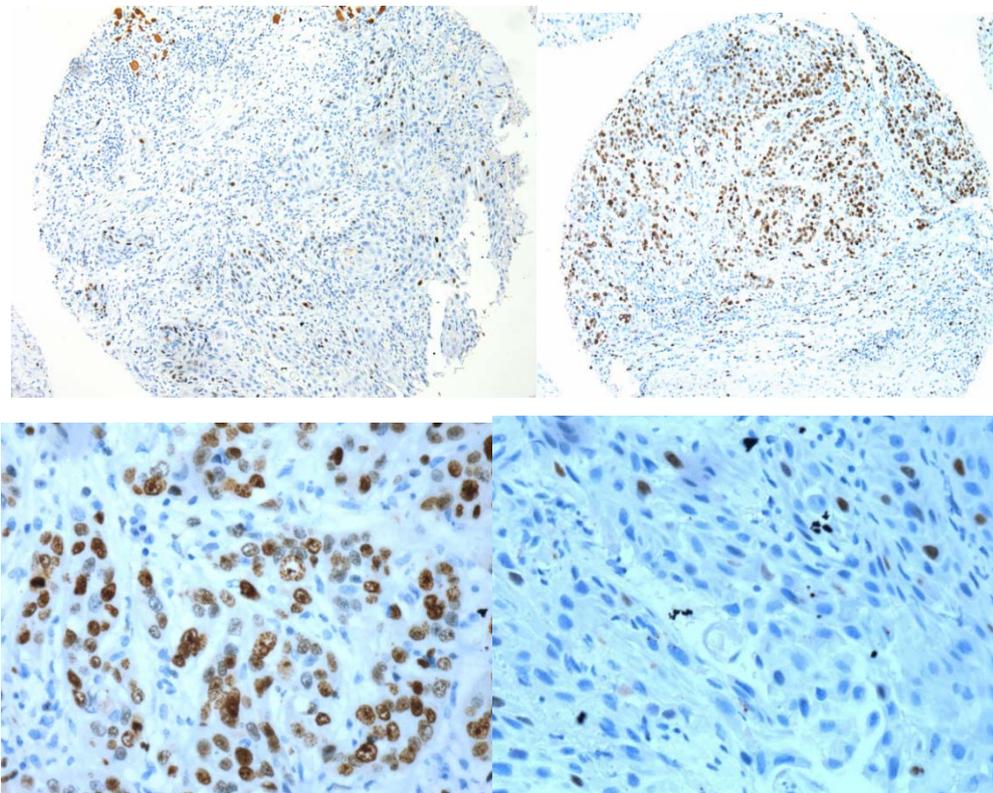
Avaliou-se a expressão da vimentina no citoplasma das células neoplásicas dos tumores de 179 pacientes (Figura 11).



**Figura 10** - Imunoexpressão de Vimentina em CCE de cavidade oral. 1. Fotomicrografia (Imunoistoquímica Vimentina 40x) demonstrando a expressão forte da proteína Vimentina de padrão citoplasmático; 2. Fotomicrografia (Imunoistoquímica Vimentina 100x) de CCE pouco diferenciado com expressão do anticorpo Vimentina, de padrão citoplasmático e estromal; 3. Fotomicrografia (Imunoistoquímica Vimentina 100x) de CCE bem diferenciado com ausência de expressão do anticorpo Vimentina. Notar a forte expressão em células estromais. 4. Fotomicrografia (Imunoistoquímica Vimentina 400x) demonstrando a expressão forte da proteína Vimentina de padrão citoplasmático. Notar a forte expressão em células neoplásicas que invadem o estroma de forma isolada.

- **Expressão de Ki-67**

Foi avaliada a expressão nuclear de Ki-67 em 180 pacientes (Figura 12).



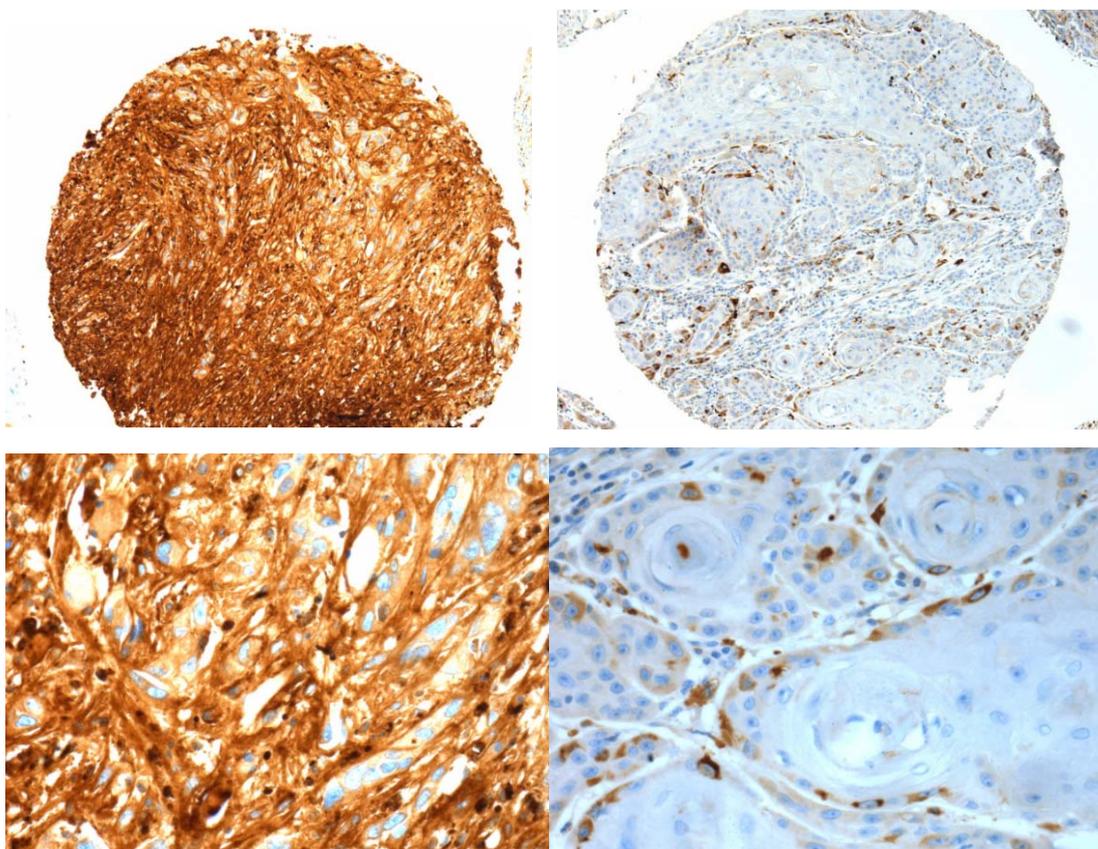
**Figura 11** - Imunoexpressão de Ki-67 em CCE de cavidade oral. 1. Fotomicrografia (Imunoistoquímica Ki-67 100x) um caso de CCE demonstrando a expressão fraca e nuclear do anticorpo Ki-67; 2. Fotomicrografia (Imunoistoquímica Ki-67 100x) um caso de CCE demonstrando a expressão forte e nuclear do anticorpo Ki-67; 3. Fotomicrografia (Imunoistoquímica Ki-67 400x) um caso de CCE demonstrando a expressão forte e nuclear do anticorpo Ki-67; 4. Fotomicrografia (Imunoistoquímica Ki-67 400x) um caso de CCE demonstrando a expressão fraca e nuclear do anticorpo Ki-67.

- **Expressão de metaloproteinase-2 (MMP-2)**

Sua expressão citoplasmática foi avaliada em 180 pacientes. Mostrou-se negativa no citoplasma das células tumorais em 145 pacientes (80,56%) e positiva em 35 pacientes (19,44%).

- **Expressão de metaloproteinase-9 (MMP-9)**

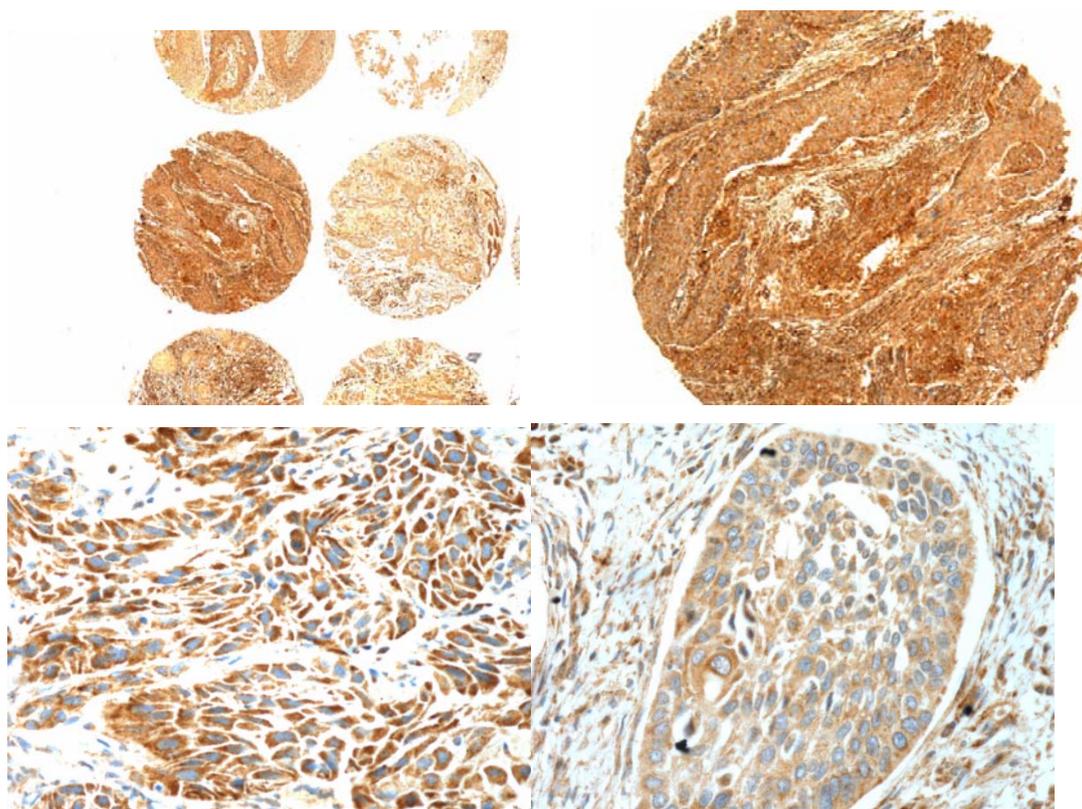
Foi possível definir sua expressão no citoplasma das células neoplásicas em 183 pacientes (Figura 13).



**Figura 12** - Imunoexpressão de MMP-9 em CCE de cavidade oral. 1. Fotomicrografia (Imunoistoquímica MMP-9 100x) de CCE moderadamente diferenciado com expressão forte do anticorpo MMP-9; 2. Fotomicrografia (Imunoistoquímica MMP-9 100x) de CCE moderadamente diferenciado com ausência de expressão do anticorpo MMP-9. Notar a expressão em células macrófágicas e fibroblastos; 3. Fotomicrografia (Imunoistoquímica MMP-9 400x) demonstrando a expressão forte da proteína MMP-9 de padrão citoplasmático; 4. Fotomicrografia (Imunoistoquímica MMP-9 400x) de CCE moderadamente diferenciado com ausência de expressão do anticorpo MMP-9. Notar a expressão em células macrófágicas e fibroblastos

- **Expressão do VEGF**

A expressão citoplasmática de VEGF foi avaliada em 183 pacientes. Havia 17 pacientes (9,29%) com ausência de expressão, 57 pacientes com expressão positiva focal (31,15%) e 109 pacientes (59,56%) com expressão positiva difusa nas células tumorais (Figura 14).



**Figura 13** - Imunoexpressão de VEGF em CCE de cavidade oral. 1. Fotomicrografia (Imunoistoquímica VEGF 100x) de CCE moderadamente diferenciado com expressão forte do anticorpo VEGF; 2. Fotomicrografia (Imunoistoquímica VEGF 100x) de CCE moderadamente diferenciado com expressão forte do anticorpo VEGF; 3. Fotomicrografia (Imunoistoquímica VEGF 400x) demonstrando a expressão forte da proteína VEGF de padrão citoplasmático; 4. Fotomicrografia (Imunoistoquímica VEGF 400x) demonstrando a expressão fraca da proteína VEGF de padrão citoplasmático.

## 6.4 VARIÁVEIS SOCIODEMOGRÁFICAS ENTRE GRUPOS DE PACIENTES pN0, pN+RC- E pN+RC+

Esta análise correlacionou as variáveis sociodemográficas com a amostra de 212 pacientes, distribuída em três grupos constituídos por 93 pacientes (43,86%), sem metástase linfonodal cervical (pN0), 63 pacientes (29,72%) com metástase linfonodal sem ruptura capsular (pN+RC-) e 56 pacientes (26,42%) com metástase linfonodal com ruptura capsular (pN+RC+).

**Tabela 4** - Comparação de variáveis sociodemográficas entre categorias quanto aos grupos pN0, pN+RC- e pN+RC+

Variáveis	Categorias	pN0		pN+RC-		pN+RC+		Valor de p
		N	%	N	%	N	%	
Idade	< 40 anos	8	8.61	8	12.70	9	16.07	0.378
	> 40 anos	85	91.39	55	87.30	47	83.93	
Gênero	Masculino	69	74.19	47	74.60	41	73.21	0.984
	Feminino	24	25.81	16	25.40	15	26.79	
Etnia	Caucasiana	84	92.31	54	85.71	51	91.07	0.367
	Não caucasiana	7	7.69	9	14.29	5	8.93	
Tabagismo	Não	29	32.23	12	20.00	21	38.89	0.080
	Sim	61	67.77	48	80.00	32	61.11	
Consumo de álcool	Não	45	50.56	22	36.66	27	50.00	0.220
	Sim	44	49.44	38	63.34	27	50.00	

- **Idade**

A idade média ao diagnóstico foi de 55,15 anos (desvio padrão 13,13 anos). Em pacientes do grupo pN0, a idade média foi de 56,17anos (desvio padrão 13,06 anos), naqueles do grupo pN+RC-, 54,03anos (desvio padrão

12,63 anos) e naqueles do grupo pN+RC-, 54,71 anos (desvio padrão 13.88 anos).

Não houve diferença estatisticamente significativa entre as duas faixas de idade entre os três grupos ( $p=0,378$ ).

- **Gênero**

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ( $p=0,984$ ).

- **Etnia**

A etnia do paciente estava discriminada em 210 pacientes; havia 91 pacientes do grupo pN0, 63 do grupo pN+RC- e 56 do grupo pN+RC+

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ( $p=0,367$ ).

- **Tabagismo**

O consumo de tabaco estava informado no prontuário de 203 pacientes; havia 90 pacientes do grupo pN0, 60 do grupo pN+RC- e 53 do grupo pN+RC+

A proporção de pacientes tabagistas e não-tabagistas entre os grupos pN0, pN+RC- e pN+RC+ não é estatisticamente significativa ( $p=0,080$ ).

- **Consumo de Álcool**

O consumo de álcool foi registrado em 203 pacientes; havia 89 pacientes do grupo pN0, 60 do grupo pN+RC- e 54 do grupo pN+RC+.

A proporção de pacientes não consumidores e consumidores de álcool entre os grupos pN0, pN+RC- e pN+RC+ não é estatisticamente significativa ( $p=0,220$ ).

## 6.5 VARIÁVEIS CLÍNICAS E PATOLÓGICAS ENTRE GRUPOS DE PACIENTES pN0, pN+RC- E pN+RC+

Esta análise correlacionou as variáveis clínicas e patológicas com a amostra de 212 pacientes, distribuída em três grupos constituídos por 93 pacientes pN0 (43,86%), 63 pacientes pN+RC- (29,72%) e 56 pacientes pN+RC+ (26,42%).

**Tabela 5** - Comparação de variáveis clinicopatológicas entre categorias quanto aos grupos pN0, pN+RC- e pN+RC+

Variáveis clínicas	Categorias	pN0		pN+RC-		pN+RC+		Valor de p
		N	%	N	%	N	%	
<b>Topografia do tumor</b>	Língua	74	79.59	43	68.25	45	80.36	0.190
	Soalho da boca	19	20.41	20	31.75	11	19.64	
<b>EC</b>	I	18	19.35	5	7.94	1	1.79	0.000
	II	40	43.01	15	23.81	6	10.71	
	III	25	26.88	23	36.51	19	33.93	
	IV	10	10.76	20	31.74	30	53.57	
<b>cT</b>	1	20	21.51	5	7.94	3	5.35	0.004
	2	44	47.31	30	47.62	19	33.93	
	3	20	21.51	15	23.81	19	33.93	
	4	9	9.67	13	20.63	15	26.79	
<b>cN</b>	N0	82	88.17	26	41.27	12	21.43	0.000
	N1	10	10.75	24	38.10	20	35.71	
	N2a	1	1.08	6	9.52	9	16.07	
	N2b	0	0.00	5	7.94	7	12.50	
	N2c	0	0.00	2	3.17	6	10.71	
<b>pT</b>	N3	0	0.00	0	0.00	2	3.58	0.000
	1	36	38.71	8	12.70	5	8.93	
	2	33	35.48	31	49.21	22	39.29	
	3	17	18.28	11	17.46	14	25.00	
<b>pN</b>	4	7	7.53	13	20.63	15	26.78	0.000
	N0	93	100.00	2	3.17	0	0.00	
	N1	0	0.00	33	52.38	8	14.29	
	N2a	0	0.00	0	0.00	1	1.79	
	N2b	0	0.00	18	28.58	31	55.35	
<b>Tratamento</b>	N2c	0	0.0	10	15.87	16	28.57	0.000
	Cirurgia	60	64.52	21	33.33	23	41.07	
	Cirurgia + RT	31	33.33	40	63.49	24	42.86	
	Cirurgia + RT + QT	2	2.15	2	3.18	9	16.07	0.000

Cont/Tabela 5

Variáveis clínicas	Categorias	pN0		pN+RC-		pN+RC+		Valor de p
		N	%	N	%	N	%	
<b>Progressão</b>	Não	60	65.93	31	49.21	27	48.21	0.045
	Sim	31	34.07	32	50.79	29	51.79	
<b>Recidiva</b>	Não	62	68.13	32	51.61	28	50.00	0.042
	Sim	29	31.87	30	48.39	28	50.00	
<b>Segundo tumor primário</b>	Não	78	86.67	58	93.55	50	92.59	0.526
	Sim	12	13.33	4	6.45	4	7.41	
<b>Situação no último seguimento</b>	Vivo, SOE	47	50.54	17	26.98	17	30.36	0.077
	Vivo com câncer	4	4.30	4	6.35	2	3.57	
	Óbito, SOE	7	7.53	9	14.29	4	7.14	
	Óbito, por câncer	31	33.33	29	46.03	28	50.00	
	Perda de seguimento / Não informado	4	4.30	4	6.35	5	8.93	
<b>Tamanho do tumor</b>	≤ 4.0 cm	76	84.44	41	65.08	34	60.71	
	> 4.0cm	14	15.56	22	34.92	22	39.29	
<b>Espessura do tumor</b>	<0.7 cm	20	23.53	5	8.62	5	9.80	
	≥ 0.7 cm	65	76.47	53	91.38	46	90.20	
<b>Grau histológico</b>	Bem diferenciado	52	56.52	30	47.62	26	47.27	0.427
	Moderado e pouco diferenciado	40	43.48	33	52.38	29	52.73	
<b>Margens cirúrgicas</b>	Livres	89	95.70	57	90.48	48	85.71	0.100
	Comprometidas	4	4.30	6	9.52	8	14.29	
<b>Metástase nodal</b>	Não	93	100.00	0	0.00	0	0.00	0.000
	Sim	0	0.00	63	100.00	56	100.00	
<b>Ruptura capsular</b>	Não	0	0.00	63	100.00	0	0.00	0.000
	Sim	0	0.00	0	0.00	56	100.00	
<b>Lateralidade dos linfonodos positivos</b>	Unilateral	0	0.00	53	84.13	40	71.43	0,133
	Bilateral	0	0.00	9	14.28	15	27.78	
	Contralateral	0	0.00	1	1.59	1	1.79	
<b>IVS</b>	Não	90	98.90	59	93.65	50	89.29	0.035
	Sim	1	1.10	4	6.35	6	10.71	
<b>IVL</b>	Não	80	87.91	34	53.97	38	67.86	0.000
	Sim	11	12.09	29	46.03	18	32.14	
<b>IPN</b>	Não	55	60.44	32	50.79	19	33.93	0.008
	Sim	36	39.56	31	49.21	37	66.07	
<b>Desmoplasia</b>	Não	63	78.75	43	81.13	19	33.93	0.007
	Sim	17	21.25	10	18.87	37	66.07	
<b>Inflamação</b>	Não	33	41.25	26	49.06	22	40.74	0.608
	Sim	47	58.75	27	50.94	32	59.26	

Cont/Tabela 5

Variáveis clínicas	Categorias	pN0		pN+RC-		pN+RC+		Valor de p
		N	%	N	%	N	%	
Necrose	Não	50	62.50	41	77.36	30	55.56	0.053
	Sim	30	37.50	12	22.67	24	44.44	
Padrão de invasão Y-K	1	1	1.25	0	0.00	1	1.85	0.705
	2	20	25.00	12	23.07	15	27.78	
	3	47	58.75	31	59.62	24	44.45	
	4C	6	7.50	6	11.54	7	12.96	
	4D	6	7.50	3	5.77	7	12.96	
Padrão de invasão	"Pushing"	68	85.00	43	82.69	40	74.07	0.269
	Infiltrativo-Dissociativo	12	15.00	9	17.31	14	25.93	

- **Topografia do Tumor**

A proporção de pacientes com tumor em língua oral e em soalho oral entre os grupos de pacientes pN0, pN+RC- e pN+RC+ não é estatisticamente significativa ( $p=0,190$ ).

- **Estadiamento Clínico**

Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos de tumores pN0, pN+RC- e pN+RC+ na distribuição de pacientes com tumores EC I, EC II, EC III e EC IV nesta série ( $p=0,000$ ).

- **Estadiamento Clínico do Tumor Primário**

Houve diferença na incidência de tumores cT1, cT2, cT3 e cT4a em função dos grupos de pacientes pN0, pN+RC- e pN+RC+ ( $p=0,004$ ).

- **Estadiamento Clínico dos Linfonodos Cervicais**

Houve diferença na incidência de linfonodos cN0, cN1, cN2a, cN2b, cN2c e cN3 em função dos grupos de pacientes pN0, pN+RC- e pN+RC+ ( $p=0,000$ ).

- **Estadiamento Patológico do Tumor Primário**

Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos de tumores pN0, pN+RC- e pN+RC+ na distribuição de pacientes com tumores pT1, pT2, pT3 e pT4a nesta série ( $p=0,000$ ).

- **Estadiamento Patológico dos Linfonodos Cervicais**

Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos de pacientes pN0, pN+RC- e pN+RC+ na distribuição de pacientes com ausência de metástase (pN0), presença de metástases linfonodais pN1, pN2a, pN2b e pN2c nesta série ( $p=0,000$ ).

- **Tratamento**

Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos de pacientes pN0, pN+RC- e pN+RC+ na distribuição das modalidades de tratamento nesta série ( $p=0,000$ ).

- **Segundo Tumor Primário**

206 pacientes foram avaliados em relação à presença de segundo tumor primário.

Quanto ao status do segundo tumor primário, houve diferença estatisticamente significante nos três grupos ( $p=0,042$ ).

- **Acompanhamento Pós-Tratamento (Seguimento e Recidiva)**

O tempo de seguimento variou de 0,53 a 270,06 meses, com média de 64,97 meses (desvio padrão, 62,97 meses). Para o grupo de pacientes pN0, o tempo médio foi de 79,13 meses (desvio padrão 13,06 meses) enquanto para o grupo de pacientes pN+RC-, foi de 61.84 meses (desvio padrão, 63.56 meses) e para o grupo de pacientes pN+RC+, foi de 42.07 meses (desvio

padrão, 43.98 meses). Observou-se progressiva redução no tempo até o último evento entre os grupos pN0, pN+RC- e pN+RC+ quanto ao valor da média enquanto o desvio padrão refletiu a diferença entre os grupos de pacientes pN0 e pN+ (pN+RC- e pN+RC+).

Não houve diferença estatisticamente significativa nos três grupos ( $p=0,077$ ).

O tempo desde a cirurgia até a recidiva variou de 1 a 159 meses, com média de 18.33 meses (desvio padrão 28.08 meses). Para o grupo de pacientes pN0, variou entre 1 a 108 meses, com média de 21.07 meses (desvio padrão 25,64 meses) enquanto para o grupo de pacientes pN+RC-, variou entre 1 a 92 meses, com média de 14.81 meses (desvio padrão 16.94meses) e para o grupo de pacientes pN+RC+, com média de 19.64 meses (desvio padrão, 38.82 meses).

Houve diferença estatisticamente significativa nos três grupos ( $p=0,045$ );

- **Tamanho do Tumor ao Exame Patológico**

Foram disponibilizados 209 tumores de pacientes pN0, pN+RC- e pN+RC+ para avaliação quanto ao tamanho.

O tamanho do tumor primário variou de 0,40 cm a 6,50 cm com média de 2.75 cm (desvio padrão 1,41 cm) no grupo de pacientes pN0.

O tamanho do tumor primário variou de 1,30 cm a 9,30 cm com média de 3,67 cm (desvio padrão 1,76 cm) no grupo de pacientes pN+RC-.

O tamanho do tumor primário variou de 0,70 cm a 10,0 cm com média de 3,90 cm (desvio padrão 2,05 cm) no grupo de pacientes pN+RC+.

Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos de pacientes pN0, pN+RC- e pN+RC+ quanto ao tamanho do tumor ( $p=0.002$ ).

- **Espessura Tumoral**

Dezoito amostras não puderam ser analisadas, sendo oito amostras do grupo pN0, cinco amostras do grupo pN+RC e cinco amostras do grupo pN+RC+,

No grupo de pacientes pN0, a espessura do tumor primário variou de 3,00 mm a 62,00 mm (média 13,76 mm e desvio padrão 13,81 mm).

No grupo de pacientes pN+RC-, a espessura do tumor primário variou de 1,00 mm a 60,00 mm (média 18,03 mm e desvio padrão 11,37 mm)

No grupo de pacientes pN+RC+, a espessura do tumor primário variou de 2,00 mm a 60,00 mm (média 21,62 mm e desvio padrão 13,69 mm).

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos de pacientes pN0, pN+RC- e pN+RC+ quanto a espessura do tumor ( $p=0.128$ ).

- **Grau de Diferenciação Histológica**

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos de pacientes pN0, pN+RC- e pN+RC+ quanto ao grau de diferenciação histológica ( $p=0.427$ ).

- **Margens Cirúrgicas**

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos de pacientes pN0, pN+RC- e pN+RC+ quanto ao status das margens de ressecção cirúrgica ( $p=0,100$ ).

- **Invasão Vascular Sanguínea**

A invasão vascular sanguínea não foi avaliada em dois pacientes.

Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos de tumores pN0, pN+RC- e pN+RC+ quanto ao status da invasão vascular sanguínea ( $p=0,035$ ).

- **Invasão Vascular Linfática**

Tal característica não foi descrita em dois pacientes no grupo de pacientes pN0.

Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos de tumores pN0, pN+RC- e pN+RC+ quanto ao status da invasão vascular linfática ( $p=0,000$ ).

- **Infiltração Perineural**

Tal característica não pode ser avaliada em dois pacientes no grupo pN0.

Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos de tumores pN0, pN+RC- e pN+RC+ quanto ao status da infiltração perineural ( $p=0,008$ ).

- **Desmoplasia Estromal**

Houve diferença nos três grupos em relação à desmoplasia ( $p=0,007$ ).

- **Infiltrado Inflamatório Peri e Intratumoral**

Sua presença não foi estatisticamente diferente nos três grupos quanto ao status da inflamação ( $p=0,608$ ).

- **Necrose Tumoral**

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os três grupos quanto ao status da necrose ( $p=0,053$ ).

- **Avaliação do Padrão de Invasão**

Não houve padrão de invasão tumoral tipo 1 no grupo de pacientes pN+RC-.

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos de tumores pN0, pN+RC- e pN+RC+ quanto ao status do padrão de invasão ( $p=0,705$ ).

- **Presença de Metástase e Ruptura Capsular nos Linfonodos Cervicais**

212 pacientes foram avaliados para presença de metástase linfonodal. Ela estava ausente em 93 pacientes (43,87%), e presente em 119 pacientes (56,13%).

A presença de ruptura capsular foi avaliada em 119 pacientes (pN+), que apresentaram comprometimento metastático linfonodal. Entre os pacientes pN+, a ruptura capsular esteve ausente (pN+RC-) em 63 pacientes (52,94%) e presente (pN+RC+) em 56 pacientes (47,06%)

- **Número Total de Linfonodos**

Quanto aos grupos pN0, pN+RC- e pN+RC+, o valor da média do número total de linfonodos isolados foi de 45,27 (desvio padrão 26,68), 54,52 (desvio padrão,32,77) e 68,48 (desvio padrão, 35,54), respectivamente.

- **Tamanho do Maior Linfonodo**

A avaliação dos grupos pN0, pN+RC- e pN+RC+ apresentou média do diâmetro do maior linfonodo de 18,0mm (desvio padrão, 6,62 mm) 21,35 mm (desvio padrão,11,81 mm) e 26,00mm (desvio padrão,14,05 mm), respectivamente.

- **Número de Linfonodos Positivos**

Para os grupos pN+RC- e pN+RC+, o número de linfonodos positivos foi de 2,28 (desvio padrão 2,25) e 4.96 (desvio padrão, 5,12), respectivamente.

- **Lateralidade dos Linfonodos Positivos**

A lateralidade dos linfonodos positivos foi avaliada em 119 pacientes.

No grupo de pacientes pN+RC-, linfonodos positivos em cadeia ipsilateral foram observados em 53 casos (84,14%), em cadeia bilateral em 9 casos (14,29%) e em cadeia contralateral em um caso (14,87%).

No grupo de pacientes pN+RC+, linfonodos positivos em cadeia ipsilateral foram observados em 40 casos (71,43%), em cadeia bilateral em 15 casos (26,59%) e em cadeia contralateral em um caso (1,78%).

Não houve diferença estatisticamente significativa nos três grupos ( $p=0,133$ ).

## **6.6 VARIÁVEIS IMUNOISTOQUÍMICAS ENTRE GRUPOS DE PACIENTES pN0, pN+RC- E pN+RC+**

Esta análise correlacionou as variáveis imunoistoquímicas com a amostra de 212 pacientes, distribuída em três grupos constituídos por 93 pacientes (43,86%) pN0, 63 pacientes (29,72%) pN+RC- e 56 pacientes (26,42%) pN+RC+.

**Tabela 6** - Comparação de variáveis imunoistoquímicas entre categorias quanto aos grupos pN0, pN+RC- e pN+RC+

Variáveis	Categorias	pN0		pN+RC-		pN+RC+		Valor de p
		N	%	N	%	N	%	
<b>E-caderina</b>	Negativa e <50%	40	49.38	33	63.46	23	44.23	0.122
	>50%	41	50.62	19	36.54	29	55.77	
<b>B-catenina</b>	Negativa e <50%	49	62.03	39	73.58	34	68.00	0.414
	>50%	30	37.97	14	26.42	16	32.00	
<b>Claudina-7</b>	Negativa	43	58.11	21	40.38	28	54.90	0.362
	Positiva	31	41.89	31	59.62	23	45.10	
<b>Vimentina</b>	Negativa	48	63.16	38	71.70	30	60.00	0.427
	Positiva	28	36.84	15	28.30	20	40.00	
<b>MMP-2</b>	Negativa	57	74.03	42	82.35	46	88.46	0.118
	Positiva	20	25.97	9	17.65	6	11.54	
<b>MMP-9</b>	Não	48	60.76	34	66.67	28	52.83	0.350
	Sim	31	39.24	17	33.33	25	47.17	
<b>Ki-67</b>	Negativa e <50%	37	47.44	26	50.00	22	44.00	0.831
	>50%	41	52.56	26	50.00	28	56.00	
<b>VEGF</b>	Negativa – Positiva focal	34	43.04	23	45.40	17	33.33	0.502
	Positiva difusa	45	56.96	30	56.60	34	66.67	

- **Expressão de E-caderina**

No grupo pN0, sua expressão não pode ser avaliada em 12 pacientes.

No grupo pN+RC-, sua expressão não pode ser avaliada em 11 pacientes.

No grupo pN+RC+, sua expressão não pode ser avaliada em 4 pacientes.

Esta expressão não foi estatisticamente diferente nos três grupos (p=0,122).

- **Expressão de  $\beta$ -caterina**

A expressão de  $\beta$ -caterina foi avaliada em 79 pacientes do grupo pN0, em 53 pacientes do grupo pN+RC- e em 50 pacientes do grupo pN+RC+.

Esta expressão não foi significativamente diferente entre os três grupos ( $p=0,414$ ).

- **Expressão de claudina-7**

Este marcador foi avaliado em 74 pacientes do grupo pN0, em 52 pacientes do grupo pN+RC- e em 51 pacientes do grupo pN+RC+.

Esta expressão não foi estatisticamente diferente nos três grupos ( $p=0,362$ ).

- **Expressão de Vimentina**

A expressão de vimentina foi avaliada em tumores de 76 pacientes do grupo pN0, em tumores de 53 pacientes do grupo pN+RC-, e em tumores de 50 pacientes do grupo pN+RC+.

Não houve diferença estatisticamente significativa em sua expressão nos três grupos ( $p=0,427$ ).

- **Expressão de Ki-67**

Foi avaliada a expressão nuclear de Ki-67 nos tumores de 78 pacientes do grupo pN0, nos tumores de 52 pacientes do grupo pN+RC- e nos tumores de 50 pacientes do grupo pN+RC+.

Não apresentou diferença significativa em função dos três grupos ( $p=0,831$ ).

- **Expressão de Metaloproteinase-2 (MMP-2)**

Sua expressão citoplasmática foi avaliada em 77 pacientes do grupo pN0, em 51 pacientes do grupo pN+RC- e em 52 pacientes do grupo pN+RC+.

Não houve diferença estatisticamente significativa em sua expressão nos grupos ( $p=0,118$ ).

- **Expressão de Metaloproteinase-9 (MMP-9)**

Foi possível definir sua expressão no citoplasma das células neoplásicas em 79 pacientes do grupo pN0, em 51 pacientes do grupo pN+RC- e em 53 pacientes do grupo pN+RC+.

Não houve diferença estatisticamente significante entre os grupos ( $p=0,350$ )

- **Expressão do VEGF**

A expressão citoplasmática de VEGF foi avaliada em 79 pacientes do grupo pN0, em 53 pacientes do grupo pN+RC- e em 51 pacientes do grupo pN+RC+.

Não houve diferença estatisticamente significante entre os grupos ( $p=0,502$ ).

## 6.7 VARIÁVEIS SOCIODEMOGRÁFICAS ENTRE GRUPOS DE PACIENTES COM METÁSTASE LINFONODAL SEM RUPTURA CAPSULAR (pN+RC-) E COM RUPTURA CAPSULAR (pN+RC+)

Esta avaliação considerou a correlação entre as variáveis sociodemográficas e os grupos de pacientes pN+ (119 pacientes), divididos em grupos de pacientes pN+RC- (63 pacientes) e pN+RC+ (56 pacientes).

**Tabela 7** - Comparação de variáveis sociodemográficas entre categorias quanto aos grupos pN+RC- e pN+RC+

Variáveis	Categorias	RC				Valor de p
		Não	%	Sim	%	
<b>Idade</b>	< 40 anos	8	12.70	9	16.07	0.600
	≥ 40 anos	55	87.30	47	83.93	
<b>Gênero</b>	Masculino	47	74.60	41	73.21	0.863
	Feminino	16	25.40	15	26.79	
<b>Etnia</b>	Caucasiana	54	85.71	51	91.07	0.407
	Não caucasiana	9	14.29	5	8.93	
<b>Tabagismo</b>	Não	12	20.00	21	38.89	0.026
	Sim	48	80.00	33	71.11	
<b>Consumo de álcool</b>	Não	22	36.66	27	50.00	0.151
	Sim	38	63.34	27	50.00	

- **Idade**

Não houve diferença estatisticamente significativa entre as duas faixas de idade entre os grupos pN+RC- e pN+RC+ (p=0,600).

- **Gênero**

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos pN+RC- e pN+RC+ ( $p=0,863$ ).

- **Etnia**

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos pN+RC- e pN+RC+ ( $p=0,407$ ).

- **Tabagismo**

A proporção de pacientes tabagistas e não-tabagistas entre os grupos de pacientes pN+RC- e pN+RC+ é estatisticamente significativa ( $p=0,026$ ).

- **Consumo de álcool**

A proporção de pacientes não consumidores e consumidores de álcool entre os grupos pN+RC- e pN+RC+ não é estatisticamente significativa ( $p=0,151$ ).

## **6.8 VARIÁVEIS CLÍNICAS E PATOLÓGICAS ENTRE GRUPOS DE PACIENTES COM METÁSTASE LINFONODAL SEM RUPTURA CAPSULAR (pN+RC-) E COM RUPTURA CAPSULAR (pN+RC+)**

Esta avaliação considerou a correlação entre as variáveis clinicopatológicas e os grupos de pacientes pN+ (119 pacientes), divididos em grupos de pacientes pN+RC- (63 pacientes) e pN+RC+ (56 pacientes).

**Tabela 8** - Comparação de variáveis clinicopatológicas entre categorias quanto aos grupos pN+RC- e pN+RC+

Variáveis	Categorias	RC				Valor de p
		Não	%	Sim	%	
<b>Topografia</b>						
	Língua	43	68.25	45	80.36	0.133
	Soalho da boca	20	31.75	11	19.64	
<b>EC</b>						
	I	5	7.94	1	1.78	0.036
	II	15	23.81	6	10.71	
	III	23	36.51	19	33.93	
	IV	20	31.74	30	53.58	
<b>cT</b>						
	1	5	7.94	3	5.35	0.364
	2	30	47.62	19	33.93	
	3	15	23.81	19	33.93	
	4	13	20.63	15	26.79	
<b>cN</b>						
	N0	26	41.27	12	21.43	0.073
	N1	24	38.10	20	35.71	
	N2a	6	9.52	9	16.07	
	N2b	5	7.94	7	12.50	
	N2c	2	3.17	6	10.71	
	N3	0	0.00	2	3.58	
<b>pT</b>						
	1	8	12.70	5	8.93	0.509
	2	31	49.21	22	39.28	
	3	11	17.46	14	25.00	
	4	13	20.63	15	26.79	
<b>pN</b>						
	N0	2	3.17	0	0.00	0.000
	N1	33	52.38	8	14.29	
	N2a	0	0.00	1	1.78	
	N2b	18	28.58	31	55.38	
	N2c	10	15.87	16	28.58	
<b>Tratamento</b>						
	Cirurgia	21	33.33	23	41.07	0.017
	Cirurgia + RT	40	63.49	24	42.86	
	Cirurgia + RT + QT	2	3.18	9	16.07	

Cont/ Tabela 8

Variáveis	Categorias	RC				Valor de p
		Não	%	Sim	%	
<b>Progressão</b>						
	Não	31	49.21	27	48.21	
	Sim	32	50.79	29	51.79	0.914
<b>Recidiva</b>						
	Não	32	51.61	28	50.00	
	Sim	30	48.39	28	50.00	0.861
<b>Segundo tumor primário</b>						
	Não	54	87.10	50	92.59	
	Sim	8	12.90	4	7.41	0.376
<b>Situação no último evento</b>						
	Vivo, SOE	17	26.98	17	30.36	
	Vivo com câncer	4	6.35	2	3.57	
	Óbito, SOE	9	14.29	4	7.14	
	Óbito por câncer	29	46.03	28	50.00	
	Perda de seguimento/ não informado	4	6.35	5	8.93	
<b>Tamanho do tumor</b>						
	≤ 4.0 cm	41	65.08	34	60.71	
	> 4.0cm	22	34.92	22	39.21	
<b>Espessura do tumor</b>						
	<0.7 cm	5	8.62	5	9.80	
	≥ 0.7 cm	53	91.38	46	90.20	0.103
<b>Grau histológico</b>						
	Bem diferenciado	30	47.62	26	47.27	
	Moderadamente e pouco diferenciado	33	52.38	29	52.73	0.970
<b>Margens cirúrgicas</b>						
	Livres	57	90.48	48	85.71	
	Comprometidas	6	9.52	8	14.29	0.421
<b>Lateralidade dos linfonodos positivos</b>						
	Unilateral	53	84.12	40	71.43	
	Bilateral	9	14.29	15	26.78	
	Contralateral	1	1.59	1	1.78	0.138
<b>IVS</b>						
	Não	59	93.65	50	89.29	
	Sim	4	6.35	6	10.71	0.513

Cont/ Tabela 8

Variáveis	Categorias	RC				Valor de p
		Não	%	Sim	%	
IVL						
	Não	34	53.97	38	67.86	
	Sim	29	46.03	18	32.14	0.122
IPN						
	Não	32	50.79	19	33.93	
	Sim	31	49.21	37	66.07	0.064
Desmoplasia						
	Não	43	81.13	31	57.41	
	Sim	10	18.87	23	42.59	0.008
Inflamação						
	Não	26	49.06	22	40.74	
	Sim	27	50.94	32	59.26	0.387
Necrose						
	Não	41	77.36	30	55.6	
	Sim	12	22.64	24	44.4	0.017
Padrão de invasão Y-K						
	1	0	0.00	1	1.85	
	2	12	23.07	15	27.78	
	3	31	59.62	24	44.45	
	4C	6	11.54	7	12.96	
	4D	3	5.77	7	12.96	0.425
Padrão de invasão						
	"Pushing"	43	82.69	40	74.07	
	Infiltrativo-Dissociativo	9	17.31	14	25.93	0.282

- **Topografia do Tumor**

A proporção de pacientes com tumor em língua oral e em soalho oral entre os grupos pN+RC- e pN+RC+ não é estatisticamente significativa ( $p=0,133$ ).

- **Estadiamento Clínico**

Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos pN+RC- e pN+RC+ na distribuição de pacientes com tumores EC I, EC II, EC III e EC IV nesta série ( $p=0,036$ ).

- **Estadio Clínico do Tumor Primário**

Houve diferença na incidência de tumores cT1, cT2, cT3 e cT4a em função dos grupos pN+RC- e pN+RC+ ( $p=0,004$ ).

- **Estadio Clínico dos Linfonodos Cervicais**

Houve diferença na incidência de linfonodos cN0, cN1, cN2a, cN2b, cN2c e cN3 em função dos grupos pN+RC- e pN+RC+ ( $p=0,000$ ).

- **Estadio Patológico do Tumor Primário**

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos pN+RC- e pN+RC+ na distribuição de pacientes com tumores pT1, pT2, pT3 e pT4a nesta série ( $p=0,509$ ).

- **Estadio Patológico dos Linfonodos Cervicais**

Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos de pacientes pN+RC- e pN+RC+ na distribuição de pacientes com presença de metástases linfonodais pN1, pN2a, pN2b e pN2c nesta série ( $p=0,000$ ).

- **Tratamento**

Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos de pacientes pN+RC- e pN+RC+ na distribuição das modalidades de tratamento nesta série ( $p=0,017$ ).

- **Segundo Tumor Primário**

116 pacientes foram avaliados em relação a presença de segundo tumor primário no grupo p

Não houve diferença estatisticamente significativa nos dois grupos RC- e RC+ ( $p=0,376$ ).

- **Acompanhamento Pós-Tratamento**

O tempo de seguimento variou de 0,53 a 270,06 meses, com média de 64,97 meses (desvio padrão, 62,97 meses).

Para o grupo de pacientes pN+RC-, foi de 61.84 meses (desvio padrão, 63.56 meses) e para o grupo de pacientes pN+RC+, foi de 42.07 meses (desvio padrão, 43.98 meses). Observou-se progressiva redução no tempo até o último evento entre os grupos pN+RC- e pN+RC+ quanto ao valor da média enquanto o desvio padrão refletiu a diferença entre os grupos de pacientes pN+RC- e pN+RC+.

Não houve diferença estatisticamente significativa nos dois grupos ( $p=0,455$ ).

O tempo desde a cirurgia até a recidiva variou de 1 a 159 meses, com média de 18.33 meses (desvio padrão 28,08 meses). Para o grupo de pacientes pN+RC-, variou entre 1 a 92 meses, com média de 14.81 meses (desvio padrão 16,94 meses) e para o grupo de pacientes pN+RC+, com media de 19.64 meses (desvio padrão, 38,82 meses).

Não houve diferença estatisticamente significativa nos dois grupos ( $p=0,861$ )

- **Tamanho do Tumor ao Exame Patológico**

O tamanho do tumor primário variou de 1,30 cm a 9,30 cm com média de 3,67cm (desvio padrão 1,76 cm) no grupo de pacientes pN+RC-.

O tamanho do tumor primário variou de 0,70 cm a 10,0 cm com média de 3,90cm (desvio padrão 2,05 cm) no grupo de pacientes pN+RC+.

De acordo com o tamanho 119 tumores do grupo pN+ foram disponibilizados para análise.

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos de pacientes pN+RC- e pN+RC+ quanto ao tamanho do tumor ( $p=0,705$ ).

- **Espessura Tumoral**

No grupo de pacientes pN+RC-, a espessura do tumor primário variou de 1,00 mm a 60,00 mm (média 18,03 mm e desvio padrão 11,37 mm)

No grupo de pacientes pN+RC+, a espessura do tumor primário variou de 2,00 mm a 60,00 mm (média 21,62 mm e desvio padrão 13,69 mm).

De acordo com a espessura, 4 tumores (3,60%) de pacientes LN- tinham menos de 4,0 mm e 107 tumores (96,40%) mediam 4,0 mm ou mais.

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos de pacientes pN+RC- e pN+RC+ quanto a espessura do tumor ( $p=0,103$ ).

- **Grau de Diferenciação Histológica**

De acordo com o grau de diferenciação histológica, foram analisados 118 pacientes do grupo pN+. Faltou um tumor de paciente de grupo RC+ para este estudo.

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos de pacientes pN+RC- e pN+RC+ quanto ao grau de diferenciação histológica ( $p=0,970$ ).

- **Margens Cirúrgicas**

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos de pacientes pN+RC- e pN+RC+ quanto ao status das margens de ressecção cirúrgica ( $p=0,421$ ).

- **Invasão Vascular Sanguínea**

Não há diferença estatisticamente significativa entre os grupos de tumores pN+RC- e tumores pN+RC+ quanto ao status da invasão vascular sanguínea ( $p=0,513$ ).

- **Invasão Vascular Linfática**

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos de tumores pN+RC- e pN+RC+ quanto ao status da invasão vascular linfática ( $p=0,122$ ).

- **Infiltração Perineural**

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos de tumores pN+RC- e pN+RC+ quanto ao status da infiltração perineural ( $p=0,064$ ).

- **Avaliação do Padrão de Invasão**

Não houve tumor de padrão de invasão tumoral tipo 1 neste grupo.

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos de tumores pN+RC- e pN+RC+ quanto ao status do padrão de invasão ( $p=0,425$ ).

- **Desmoplasia Estromal**

Houve diferença estatisticamente significante nos grupos pN+RC- e pN+RC+ em relação à desmoplasia ( $p=0,008$ ).

- **Infiltrado Inflamatório Peri e Intratumoral**

A presença de infiltrado inflamatório não foi estatisticamente diferente nos grupos pN+RC- e pN+RC+ quanto ao status da inflamação ( $p=0,387$ ).

- **Necrose Tumoral**

Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos pN+RC- e pN+RC+ quanto ao status da necrose ( $p=0,053$ ).

- **Ruptura Capsular**

Dos 119 pacientes (LN+), que apresentaram comprometimento metastático linfonodal, a ruptura capsular esteve ausente em 63 pacientes (52,94%) e presente em 56 pacientes (47,06%)

- **Número Total de Linfonodos**

Quanto aos grupos pN+RC- e pN+RC+, o valor da média do número total de linfonodos isolados foi de 54.52 (desvio padrão,32,77) e 68.48 (desvio padrão, 35,54), respectivamente.

- **Tamanho do Maior Linfonodo**

A avaliação dos grupos pN+RC- e pN+RC+ apresentou média do diâmetro do maior linfonodo de 21.35 mm (desvio padrão,11,81 mm) e 26,00mm (desvio padrão,14,05 mm), respectivamente.

- **Número de Linfonodos Positivos**

Para os grupos pN+RC- e pN+RC+, o número de linfonodos positivos foi de 2,28 (desvio padrão 2,25) e 4.96 (desvio padrão, 5,12), respectivamente.

- **Lateralidade dos Linfonodos Positivos**

Não houve diferença estatisticamente significativa nos dois grupos ( $p=0,138$ ).

## **6.9 VARIÁVEIS IMUNOISTOQUÍMICAS ENTRE GRUPOS DE PACIENTES COM METÁSTASE LINFONODAL SEM RUPTURA CAPSULAR (pN+RC-) E COM RUPTURA CAPSULAR (pN+RC+)**

Esta análise correlacionou as variáveis imunoistoquímicas com a amostra de 119 pacientes pN+, distribuída em dois grupos constituídos por 63 pacientes (52,94%) pN+RC- e 56 pacientes (47,06%) pN+RC+.

**Tabela 9** - Comparação de variáveis imunoistoquímicas entre categorias quanto aos grupos pN+RC- e pN+RC+

Variáveis imunoistoquímicas	Categorias	RC				Valor de p
		Não	%	Sim	%	
<b>E-caderina</b>						
	Negativo e <50%	33	63.46	23	44.23	0.140
	> 50%	19	36.54	29	55.77	
<b>β-catenina</b>						
	Negativo e <50%	39	73.58	34	68.00	0.628
	> 50%	14	26.42	16	32.00	
<b>Claudina-7</b>						
	Negativa	21	40.38	28	54.90	0.305
	Positiva	31	59.62	23	45.10	
<b>Vimentina</b>						
	Negativa	38	71.70	30	60.00	0.210
	Positiva	15	28.30	20	40.00	
<b>MMP-2</b>						
	Negativa	42	82.35	46	88.46	0.380
	Positiva	9	17.65	6	11.54	
<b>MMP-9</b>						
	Negativa	34	66.67	28	52.83	0.151
	Positiva	17	33.33	25	47.17	
<b>Ki-67</b>						
	Negativa e <50%	26	50.00	22	44.00	0.544
	Positiva > 50%	26	50.00	28	56.00	
<b>VEGF</b>						
	Negativa - Positiva focal	23	45.40	17	33.33	0.413
	Positiva difusa	30	56.60	34	66.67	

- **Expressão de E-caderina**

Foi realizada análise imunoistoquímica para E-caderina em 104 amostras de tumores de pacientes pN+. A análise foi feita em 52 tumores de pacientes pN+RC- e em 52 tumores de pacientes pN+RC+.

Esta expressão não foi estatisticamente diferente dois grupos (p=0,140).

- **Expressão de  $\beta$ -caterina**

Foi realizada análise imunoistoquímica para  $\beta$ -caterina em 103 amostras de tumores de pacientes pN+. A expressão de  $\beta$ -caterina foi avaliada em 53 tumores de pacientes do grupo pN+RC- e em 50 tumores de pacientes do grupo pN+RC+.

Esta expressão não foi significativamente diferente entre os dois grupos ( $p=0,628$ ).

- **Expressão de Claudina-7**

Foi realizada análise imunoistoquímica para claudina 7 em 103 amostras de tumores de pacientes pN+. Este marcador foi avaliado em 52 pacientes do grupo pN+RC- e em 51 pacientes do grupo pN+RC+.

Esta expressão não foi estatisticamente diferente nos dois grupos ( $p=0,305$ ).

- **Expressão de Vimentina**

Foi realizada análise imunoistoquímica para vimentina em 103 amostras de tumores de pacientes pN+. Avaliou-se a expressão da vimentina no citoplasma das células neoplásicas de tumores de 53 pacientes do grupo pN+RC- e de tumores de 50 pacientes do grupo pN+RC+.

Não houve diferença estatisticamente significativa em sua expressão nos três grupos ( $p=0,210$ ).

- **Expressão de Ki-67**

Foi realizada análise imunoistoquímica para Ki-67 em 102 amostras de tumores de pacientes pN+. Foi avaliada a expressão nuclear de Ki-67 nos

tumores de 52 pacientes do grupo pN+RC- e nos tumores de 50 pacientes do grupo pN+RC+.

Não apresentou diferença significativa em função dos dois grupos ( $p=0,544$ ).

- **Expressão de Metaloproteinase-2 (MMP-2)**

Foi realizada análise imunoistoquímica para metaloproteinase-2 em 103 amostras de tumores de pacientes pN+. Sua expressão citoplasmática foi avaliada em 51 pacientes do grupo pN+RC- e em 52 pacientes do grupo pN+RC+.

Não houve diferença estatisticamente significativa em sua expressão nos grupos ( $p=0,380$ ).

- **Expressão de Metaloproteinase-9 (MMP-9)**

Foi realizada análise imunoistoquímica para metaloproteinase-9 em 104 amostras de tumores de pacientes pN+. Foi possível definir sua expressão no citoplasma das células neoplásicas em 51 pacientes do grupo pN+RC- e em 53 pacientes do grupo pN+RC+.

Não houve diferença estatisticamente significante entre os grupos ( $p=0,151$ ).

- **Expressão do VEGF**

Foi realizada análise imunoistoquímica para VEGF em 104 amostras de tumores de pacientes pN+. A expressão citoplasmática de VEGF foi avaliada em 53 pacientes do grupo pN+RC- e em 51 pacientes do grupo pN+RC+.

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ( $p=0,413$ ).

#### **6.10 VARIÁVEIS QUANTITATIVAS E CATEGÓRICAS ENTRE GRUPOS DE PACIENTES pN0, pN+RC- E pN+RC+ E ENTRE GRUPOS DE PACIENTES pN+RC- E pN+RC+**

A distribuição dos pacientes conforme as variáveis quantitativas descritas (idade ao diagnóstico, tempo até recidiva em meses, tempo até último evento em meses, tamanho do tumor, espessura do tumor, número total de linfonodos, tamanho do maior linfonodo, número de linfonodos positivos) estão relacionadas na Tabela 10, com valores de mínimo, média, mediana, máximo e desvio padrão.

**Tabela 10** - Valores de Mínimo, Média, Mediana, Máxima e Desvio Padrão nos 212 casos do estudo.

Variáveis	Grupos de LNs	N	Mínimo	Média	Mediana	Máximo	Desvio Padrão
<b>Idade</b>	ao pN+ RC-	63	20.0	54.032	54.000	84.0	12.6338
	pN+ RC+	56	22.0	54.714	55.000	91.0	13.8875
	pN0	93	21.0	56.172	54.000	85.0	13.0564
	Total	212	20.0	55.151	54.000	91.0	13.1295
<b>Tempo até recidiva em meses</b>	pN+ RC-	31	1.0	14.806	10.000	92.0	16.9360
	pN+ RC+	28	2.0	19.643	7.000	159.0	38.8170
	pN0	27	1.0	21.037	12.000	106.0	25.6432
	Total	86	1.0	18.337	10.000	159.0	28.0787
<b>Tempo até último evento em meses</b>	pN+ RC-	63	4.0	61.841	25.000	256.0	68.0496
	pN+ RC+	55	1.0	42.073	30.000	172.0	43.9806
	pN0	91	1.0	79.132	60.000	268.0	63.5584
	Total	209	1.0	64.167	46.000	268.0	62.1218
<b>Tamanho do tumor</b>	pN+ RC-	63	1.3	3.670	3.100	9.3	1.7655
	pN+ RC+	56	.7	3.904	3.500	10.0	2.0520
	pN0	89	.4	2.756	2.500	6.5	1.4104
	Total	208	.4	3.342	3.000	10.0	1.7787
<b>Espessura do tumor</b>	pN+ RC-	58	0.1	1.803	1.000	6.0	1.137
	pN+ RC+	53	0.2	2.162	1.300	6.0	1.369
	pN0	85	0.3	1.376	2.000	6.2	1.381
	Total	196	0.1	1.711	1.300	6.2	1.307
<b>Número total de linfonodos</b>	pN+ RC-	63	7.0	54.524	45.000	194.0	32.7660
	pN+ RC+	56	17.0	68.482	62.000	161.0	35.5338
	pN0	93	7.0	45.269	38.000	142.0	26.6769
	Total	212	7.0	54.151	45.000	194.0	32.3143
<b>Tamanho do maior linfonodo.</b>	pN+ RC-	62	.8	2.135	2.000	8.0	1.1807
	pN+ RC+	54	.7	2.600	2.500	8.0	1.4047
	pN0	90	.6	1.801	1.700	4.5	.6617
	Total	206	.6	2.111	2.000	8.0	1.1047
<b>Número de linfonodos positivos</b>	pN+ RC-	63	1	2.285	1.000	12.0	2.246
	pN+ RC+	56	1	4.964	3.000	24.0	5.123
	pN0	93	0	0.000	0.000	0.0	0.000
	Total	212	1	1.990	1.000	24.00	3.527

As características com diferença estatisticamente significantes quanto aos grupos são relacionadas abaixo.

- Comparação entre categorias quanto aos grupos pN0, pN+RC- e pN+RC+

**Tabela 11** - Comparação entre categorias quanto aos grupos pN0, pN+RC- e pN+RC+, com  $p < 0.05$

Variáveis	Categorias	pN0		pN+RC-		pN+RC+		Valor de p
		N	%	N	%	N	%	
<b>EC</b>								<b>0.000</b>
	I	18	(19.35)	5	(7.94)	1	(1.79)	
	II	40	(43.01)	15	(23.81)	6	(10.71)	
	III	25	(26.88)	23	(36.51)	19	(33.93)	
	IV	10	(10.76)	20	(31.74)	30	(53.57)	
<b>cT</b>								<b>0.004</b>
	1	20	(21.51)	5	(7.94)	3	(5.36)	
	2	44	(47.31)	30	(47.62)	19	(33.93)	
	3	20	(21.51)	15	(23.81)	19	(33.93)	
	4	9	(9.67)	13	(20.63)	15	(26.87)	
<b>cN</b>								<b>0.000</b>
	N0	82	(88.17)	26	(41.27)	12	(21.43)	
	N1	10	(10.75)	24	(38.10)	20	(35.71)	
	N2a	1	(1.08)	6	(9.52)	9	(16.07)	
	N2b	0	(0.00)	5	(7.94)	7	(12.50)	
	N2c	0	(0.00)	2	(3.17)	6	(10.71)	
	N3	0	(0.00)	0	(00.0)	2	(3.58)	
<b>pT</b>								<b>0.000</b>
	1	36	(38.71)	8	(12.70)	5	(8.93)	
	2	33	(35.48)	31	(49.21)	22	(39.28)	
	3	17	(18.28)	11	(17.46)	14	(25.00)	
	4	7	(7.53)	13	(20.63)	15	(26.79)	

Cont/ Tabela 11

Variáveis	Categorias	pN0	pN+RC-	pN+RC+	Valor de p
		N %	N %	N %	
<b>pN</b>					<b>0.000</b>
	N0	93(100.00)	2(3.17)	0 (0.00)	
	N1	0(0.00)	33 (52.38)	8 (14.29)	
	N2a	0(0.00)	0 (0.00)	1 (1.79)	
	N2b	0(0.00)	18 (28.58)	31 (55.35)	
	N2c	0(0.00)	10 (15.87)	16 (28.57)	
<b>Tratamento</b>					<b>0.000</b>
	Cirurgia	60(64.52)	21 (33.33)	23 (41.07)	
	Cirurgia + RT	31(33.33)	40 (63.49)	24 (42.86)	
	Cirurgia + RT + QT	2(2.15)	2 (3.18)	9 (16.07)	
<b>Recidiva</b>					<b>0.045</b>
	Não	62(68.13)	32 (51.61)	28 (50.00)	
	Sim	29(31.87)	30 (48.39)	28 (50.00)	
<b>Segundo tumor primário</b>					<b>0.042</b>
	Não	78(86.67)	58 (93.55)	50 (92.59)	
	Sim	12(13.33)	4 (6.45)	4 (7.41)	
<b>Tamanho do tumor</b>					<b>0.002</b>
	≤ 4.0 cm	76(84.44)	41(65.08)	34(60.71)	
	> 4.0cm	14(15.56)	22(34.92)	22(39.29)	
<b>Metástase linfonodal</b>					<b>0.000</b>
	Não	93(100.0)	0(0.00)	0(0.00)	
	Sim	0(0.00)	63(100.00)	56(100.00)	

Cont/ Tabela 11

Variáveis	Categorias	pN0		pN+RC-		pN+RC+		Valor de p
		N	%	N	%	N	%	
<b>Ruptura capsular</b>								<b>0.000</b>
	Não	0(0.00)		63(100.00)		0(0.00)		
	Sim	0(0.00)		0(0.00)		56(100.00)		
<b>IVS</b>								<b>0.035</b>
	Não	90(98.90)		59(93.65)		50(89.29)		
	Sim	1(1.10)		4(6.35)		6(10.71)		
<b>IVL</b>								<b>0.000</b>
	Não	80(87.91)		34(53.97)		38(67.86)		
	Sim	11(12.09)		29(46.03)		18(32.14)		
<b>IPN</b>								<b>0.008</b>
	Não	55(60.44)		32(50.79)		19(33.93)		
	Sim	36(39.56)		31(49.21.)		37(66.07)		
<b>Desmoplasia</b>								<b>0.007</b>
	Não	63(78.8)		43(81.1)		31(57.4)		
	Sim	17(21.2)		10(18.9)		23(42.6)		

Foram observados valores próximos da diferença para tabagismo ( $p=0.080$ ) e necrose ( $p=0.053$ ) na comparação entre os grupos pN0, pN+RC- e pN+RC+.

- Comparação entre categorias quanto aos grupos pN+RC- e pN+RC+

**Tabela 12** - Comparação entre categorias quanto aos grupos pN+RC- e pN+RC+, com  $p < 0.05$

Variáveis	Categorias	pN+		Valor de p
		RC-	RC+	
<b>Tabagismo</b>				<b>0.026</b>
	Não	12 (20.00)	21 (38.88)	
	Sim	48 (80.00)	33 (61.12)	
<b>EC</b>				<b>0.036</b>
	I	5 (7.94)	1 (1.79)	
	II	15 (23.81)	6 (10.71)	
	III	23 (36.51)	19 (33.93)	
	IV	20 (31.74)	30 (53.57)	
<b>pN</b>				<b>0.000</b>
	N1	2(3.17)	8 (14.29)	
	N2a	33 (52.38)	1 (1.79)	
	N2b	18 (28.58)	31 (55.35)	
	N2c	10 (15.87)	16 (28.57)	
<b>Tratamento</b>				<b>0.017</b>
	Cirurgia	21 (33.33)	23 (41.07)	
	Cirurgia + RT	40 (63.49)	24 (42.86)	
	Cirurgia + RT+ QT	2 (3.18)	9 (16.07)	
<b>Desmoplasia</b>				<b>0.008</b>
	Não	43(81.1)	31(57.4)	
	Sim	10(18.9)	23(42.6)	
<b>Necrose</b>				<b>0.017</b>
	Não	41(77.4)	30(55.4)	
	Sim	12(22.6)	24(44.4)	

Foi observado valor próximo da diferença para cN, linfonodo clinico, ( $p=0.073$ ) e infiltração perineural ( $p=0.064$ ) na comparação entre os grupos pN+RC-e pN+RC.

**Tabela 13** - Sobrevida global, sobrevida câncer-específica e recidiva em pacientes com carcinoma de células escamosas de boca.

		<b>População do</b>									
		<b>estudo</b>		<b>pN0</b>		<b>pN+</b>		<b>pN+RC-</b>		<b>pN+RC+</b>	
<b>Sobrevida</b>											
<b>global</b>	<b>N vivos</b>	<b>%</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	
1 ano	158	76.7	79	86.9	79	68.9	44	73.3	35	63.6	
2 anos	118	57.3	76	83.5	62	55.7	32	53.3	30	54.5	
5 anos	111	53.9	60	65.7	51	44.3	26	43.3	25	45.5	
10 anos	107	51.9	58	63.7	49	42.6	25	41.6	24	43.6	

		<b>População do</b>									
		<b>estudo</b>		<b>pN0</b>		<b>pN+</b>		<b>pN+RC-</b>		<b>pN+RC+</b>	
<b>Sobrevida</b>											
<b>cancer-</b>											
<b>específica</b>											
	<b>N vivos</b>	<b>%</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	
1 ano	158	76.7	81	89.0	80	69.6	45	75.0	35	63.6	
2 anos	145	70.4	78	85.7	67	58.3	36	60.0	31	56.4	
5 anos	146	60.0	66	72.5	60	52.7	32	53.3	28	50.9	
10 anos	125	57.3	65	71.4	60	52.7	32	53.3	28	50.9	

		<b>População do</b>									
		<b>estudo</b>		<b>pN0</b>		<b>pN+</b>		<b>pN+RC-</b>		<b>pN+RC+</b>	
<b>Recidiva</b>											
	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	
1 ano	54	25.8	14	15.4	40	33.9	19	30.6	21	37.5	
2 anos	71	34.0	22	24.2	49	41.5	25	40.3	24	42.9	
5 anos	80	38.3	24	26.4	56	47.5	30	48.4	26	46.4	
10 anos	84	40.2	27	29.7	57	48.3	31	50.0	26	46.4	

## **6.11 CURVAS DE SOBREVIDA DE KAPLAN-MEIER**

Análise univariada comparativa de sobrevida global por câncer de acordo com as variáveis sociodemográficas, clinicopatológicas, anatomopatológicas e imunoistoquímicas dos pacientes com carcinoma de células escamosas de boca.

### **6.11.1 Análise das Variáveis Sociodemográficas**

- **Análise das curvas de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em relação à idade**

As curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) mostraram que não houve diferença entre os pacientes com idade abaixo de 40 anos e pacientes com idade igual ou acima de 40 anos, na amostra total do estudo (n= 212 e p=0.629), no grupo de no grupo pN+RC-(n=63 e p=0.863) e no grupo pN+RC+(n=56 e p=0.163).

- **Análise das curvas de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em relação ao gênero**

As curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) mostraram que não houve diferença entre os pacientes masculinos e pacientes femininos, na amostra total do estudo (n= 212 e p=0,270), no grupo de no grupo pN+RC- (n=63 e p=0,611) e no grupo pN+RC+(n=56 e p=0,034).

- **Análise das curvas de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em relação à etnia**

As curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) mostraram que não houve diferença entre os pacientes caucasianos e pacientes não caucasianos, na amostra total do estudo ( $n=212$  e  $p=0,285$ ), no grupo de no grupo pN+RC- ( $n=63$  e  $p=0,505$ ) e no grupo pN+RC+ ( $n=56$  e  $p=0,814$ ).

- **Análise das curvas de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em relação ao tabagismo**

As curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) mostraram que não houve diferença entre os pacientes fumantes e não fumantes, na amostra total do estudo ( $n=204$  e  $p=0,090$ ), no grupo pN+RC- ( $n=60$  e  $p=0,239$ ) e no grupo pN+RC+ ( $n=54$  e  $p=0,664$ ).

- **Análise das curvas de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em relação ao consumo de álcool**

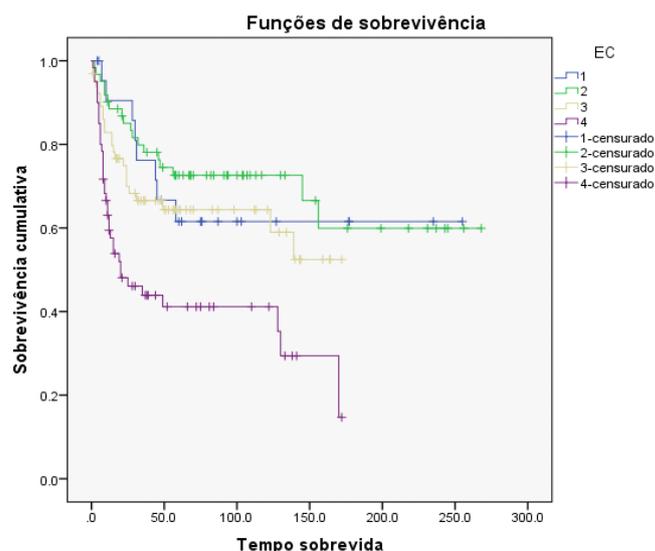
As curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) mostraram que não houve diferença entre os pacientes que fazem consumo de bebida alcoólica e pacientes abstêmios, na amostra total do estudo ( $n=204$  e  $p=0,165$ ), no grupo pN+RC- ( $n=60$  e  $p=0,730$ ) e no grupo pN+RC+ ( $n=54$  e  $p=0,580$ ).

### 6.11.2 Análise das variáveis clinicopatológicas

- **Análise das curvas de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em relação a topografia do tumor**

As curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) mostraram que não houve diferença entre os tumores localizados na língua e os tumores localizados no soalho da boca, na amostra total do estudo (n= 212 e p=0,690), no grupo pN+RC- (n=63 e p=0,402) e no grupo pN+RC+(n=56 e p=0,705).

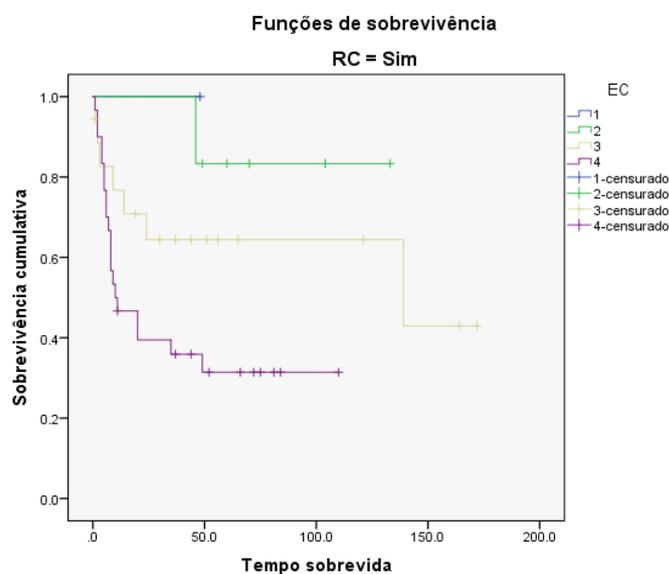
- **Análise das curvas de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em relação ao EC**



**Figura 14** - Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme o estadiamento clínico (EC) e categorizados como EC I, ECII, ECIII e EC IV, na amostra total do estudo na amostra total do estudo (p=0,000).

As curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) mostraram que houve diferença entre os pacientes, categorizados como EC I, ECII, ECIII

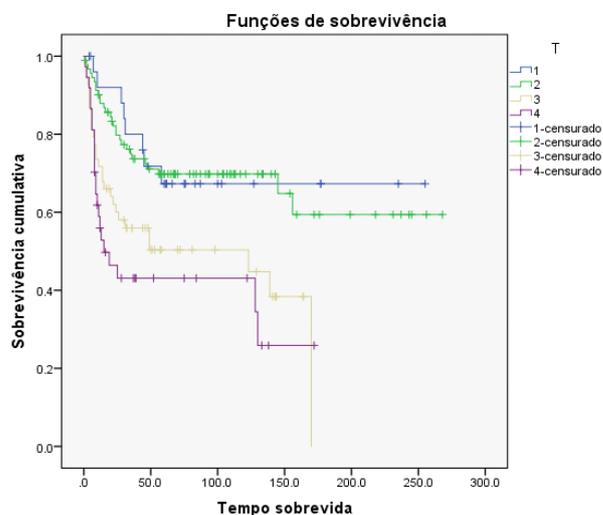
e EC IV, na amostra total do estudo (n=212 e p=0,000); não houve diferença no grupo pN+RC-(n=63 e p=0,855).



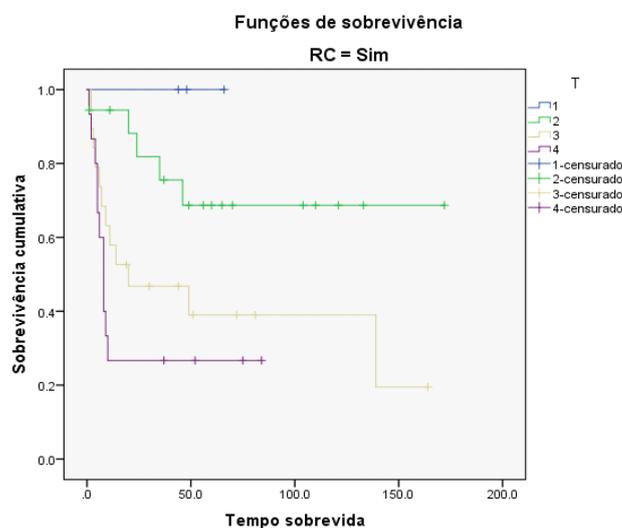
**Figura 15** - Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme o estadiamento clínico (EC) e categorizados como EC I, ECII, ECIII e EC IV, no grupo pN+RC+ (p=0,044).

As curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) mostraram que houve diferença entre os pacientes, categorizados como EC I, ECII, ECIII e EC IV, no grupo pN+RC+(n=56 e p=0,044).

- **Análise das curvas de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em relação ao T clínico**



**Figura 16** - Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme o estadiocT (T clínico) e categorizados como T1, T2, T3 e T4, na amostra total do estudo ( $p=0,000$ ).

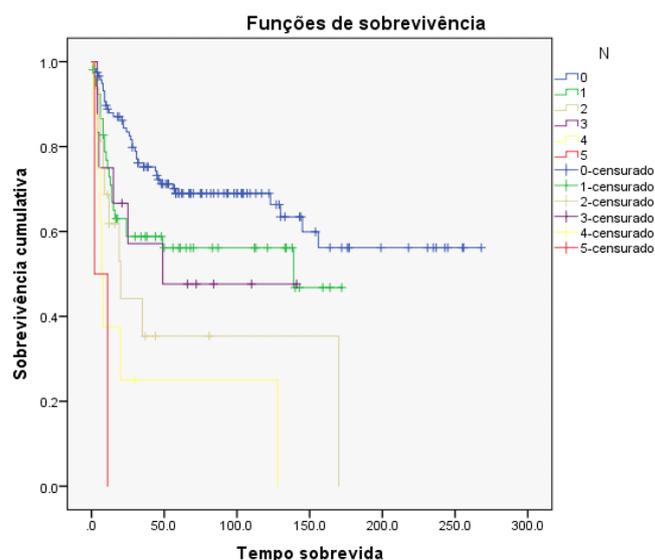


**Figura 17** - Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme o estadiocT (T clínico) e categorizados como T1, T2, T3 e T4, no grupo pN+RC+ ( $p=0,008$ ).

As curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) mostraram que houve diferença entre os pacientes com T I, T II, T III e T IV, na amostra total do estudo (n=212 e p=0,000); não houve diferença no grupo pN+RC- (n=63 e p=0,855).

As curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) mostraram que houve diferença entre os pacientes com T I, T II, T III e T IV, no grupo pN+RC+(n=56 e p=0,008).

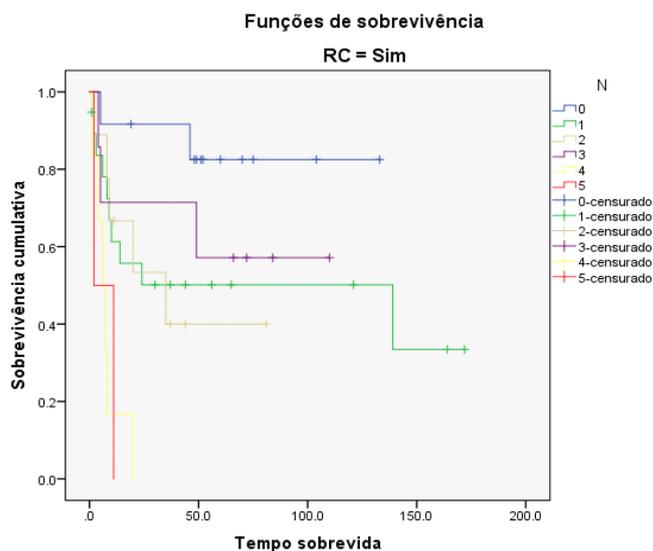
- **Análise das curvas de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em relação ao N clínico**



**Figura 18** - Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme o estadiocN (N clínico) e categorizados como N0, N1, N2a, N2b, N2c e N3, na amostra total do estudo (p=0,000).

As curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) mostraram que houve diferença entre os pacientes com N0, N1, N2a, N2b, N2c e N3, na

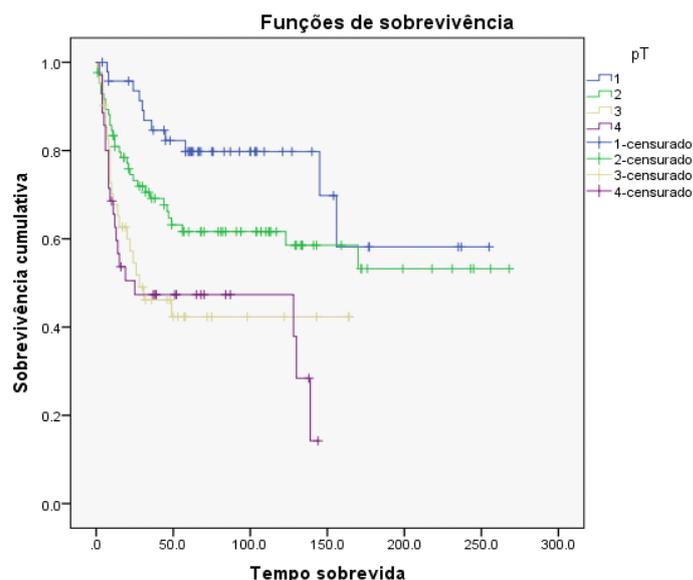
amostra total do estudo ( $n=212$  e  $p=0,000$ ); não houve diferença no grupo com  $pN+RC-$  ( $n=63$  e  $p=0,209$ ).



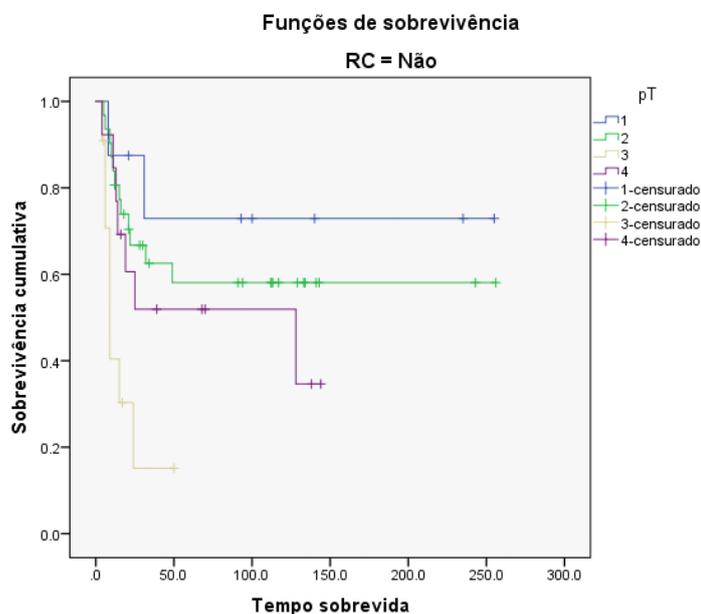
**Figura 19** - Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme o estadiocN (N clínico) e categorizados como N0, N1, N2a, N2b, N2c e N3, no grupo  $pN+RC$  ( $p=0,001$ ).

As curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) mostraram que houve diferença entre os pacientes com N0, N1, N2a, N2b, N2c e N3, no grupo  $pN+RC+$  ( $n=56$  e  $p=0,001$ ).

- **Análise da curva de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em relação ao pT.**



**Figura 20** - Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme o estadio pT (T patológico) e categorizados como pT1, pT2, pT3 e pT4, na amostra total do estudo ( $p=0,000$ ).

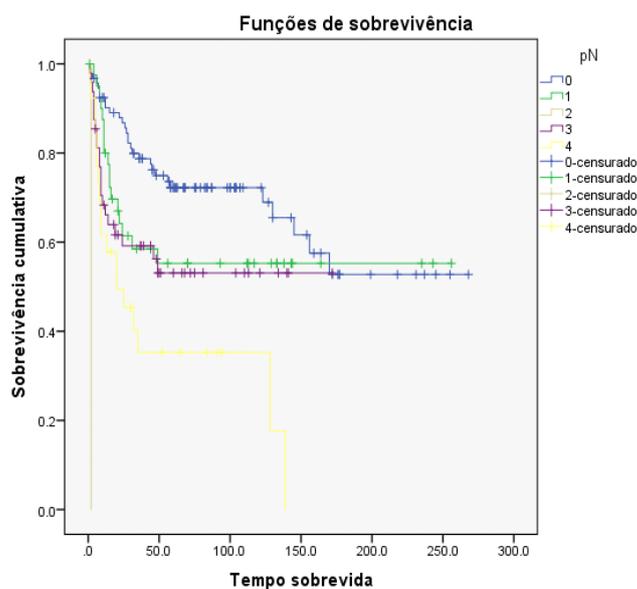


**Figura 21** - Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme o estadio pT (T patológico) e categorizados como pT1, pT2, pT3 e pT4, no grupo pN+RC- ( $p=0,004$ ).

As curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) mostraram que houve diferença entre os pacientes com pT1, pT2, pT3 e pT4, na amostra total do estudo (n=212 e p=0,000).

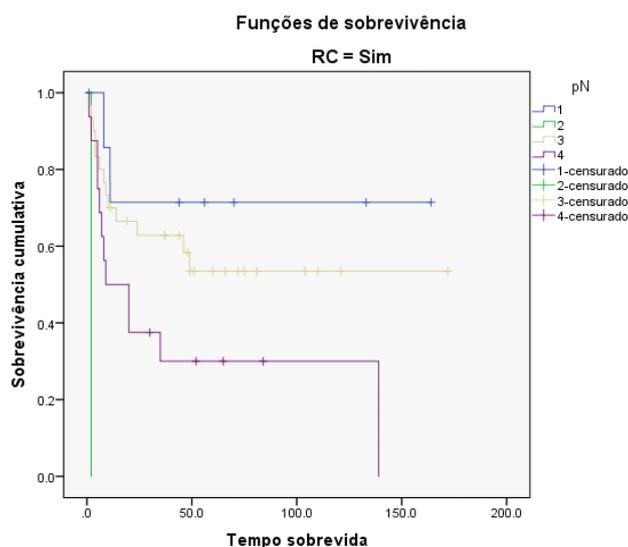
As curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) mostrou que houve diferença entre os pacientes com pT 1, pT 2, pT 3 e pT 4, no grupo pN+RC- (n=63 e p=0,004); entretanto não houve diferença no grupo pN+RC+ (n=56 e p=0,093).

- **Análise das curvas de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em relação ao pN**



**Figura 22** - Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme o estadio pN (N patológico) e categorizados como pN0, pN1, pN2a, pN2b, pN2c e pN3, na amostra total do estudo (p=0,000).

As curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) mostraram que houve diferença entre os pacientes com pN0, pN1, pN2a, pN2b, pN2c e pN3, na amostra total do estudo (n =212 e p=0,000); entretanto não houve diferença no grupo pN+RC- (n=63 e p=0,556).



**Figura 23** - Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme o estadio pN (N patológico), categorizado como pN0, pN1, pN2a, pN2b, pN2c e pN3, no grupo pN+RC+ (p=0,002).

As curvas de sobrevida câncer específica (Kaplan-Meier) mostraram que houve diferença entre os pacientes com pN0, pN1, pN2a, pN2b e pN2c, no grupo pN+RC+ (n=56 e p=0,002).

- **Análise das curvas de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em relação ao Tratamento**

As curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) mostraram que não houve diferença entre as modalidades de tratamento realizado e categorizado como tratamento cirúrgico, tratamento cirúrgico associado a

radioterapia e tratamento cirúrgico associado a radioterapia e a quimioterapia, na amostra total do estudo ( $n = 212$  e  $p = 0,151$ ), no grupo pN+RC- ( $n = 63$  e  $p = 0,762$ ) e no grupo pN+RC+ ( $n = 56$  e  $p = 0,899$ )

- **Análise das curvas de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em relação ao 2º tumor primário**

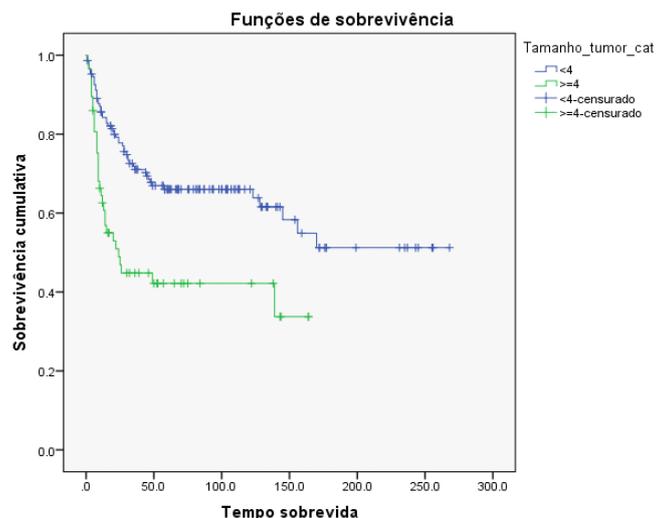
As curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) mostraram que não houve diferença em relação a ausência ou presença de segundo tumor primário, na amostra total do estudo ( $n = 206$  e  $p = 0,655$ ), no grupo pN+RC- ( $n = 62$  e  $p = 0,201$ ) e no grupo pN+RC+ ( $n = 54$  e  $p = 0,427$ ).

- **Análise das curvas de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em relação à recidiva**

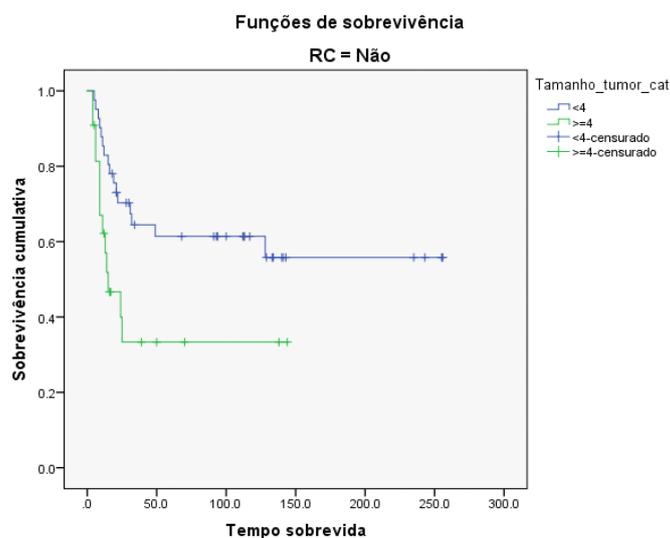
As curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) mostraram que houve diferença entre os pacientes sem recidiva e os pacientes com recidiva na amostra total do estudo ( $n = 209$  e  $p = 0,000$ ), no grupo pN+RC- ( $n = 62$  e  $p = 0,000$ ) e no grupo pN+RC+ ( $n = 56$  e  $p = 0,000$ ).

### **6.11.3 Análise das variáveis histopatológicas**

- **Análise das curvas de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em relação ao tamanho do tumor**



**Figura 24** - Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme o tamanho do tumor, em relação aos tumores iguais ou menores que 4,0cm e aos tumores maiores que 4,0 cm, na amostra total do estudo ( $p=0,000$ ).



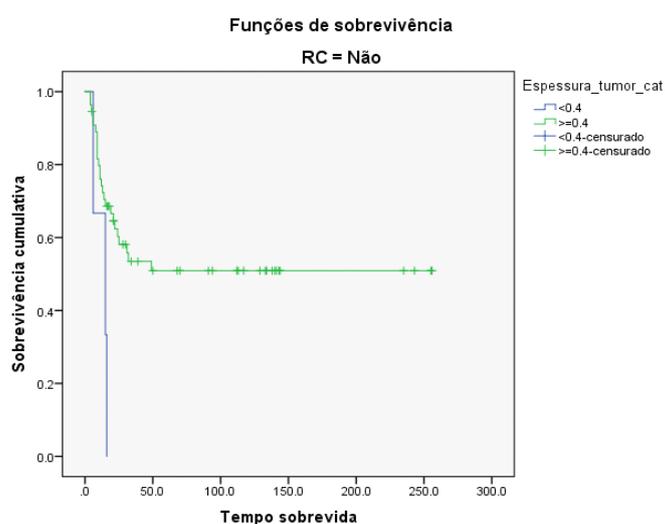
**Figura 25** - Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme o tamanho do tumor, em relação aos tumores iguais ou menores que 4,0cm e aos tumores maiores que 4,0 cm, no grupo pN+RC- ( $p=0,016$ ).

As curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) mostraram que houve diferença entre os tumores iguais ou menores que 4,0cm e os tumores maiores que 4,0 cm na amostra total do estudo ( $n=209$  e  $p=0,000$ ).

As curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) mostraram que houve diferença entre os tumores maiores que 4.0 cm e os tumores iguais ou menores que 4,0cm, no grupo pN+RC- (n=63 e p=0,016); entretanto, não houve diferença entre os tumores até 4.0cm e os tumores com mais de 4,0 cm, no grupo pN+RC+ (n=56 e p=0,078).

- **Análise das curvas de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em relação à espessura do tumor**

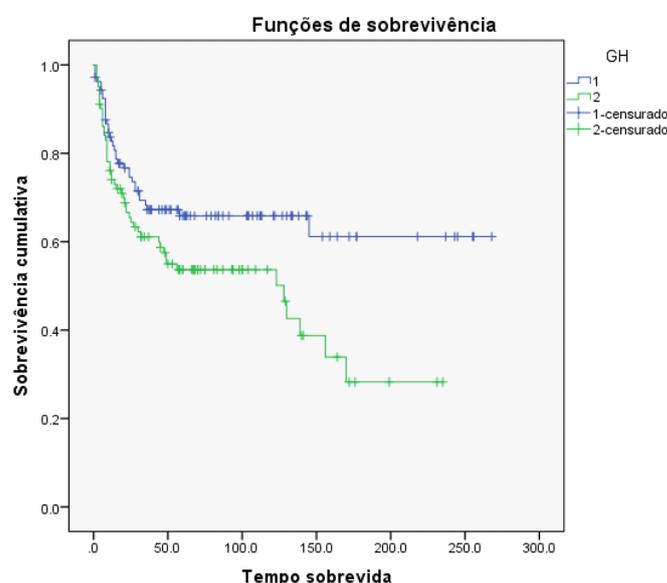
As curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) mostraram que não houve diferença entre tumores com espessura inferior a 4,0mm e tumores com espessura igual ou superior a 4,0mm, na amostra total do estudo (n=196 e p=0,702).



**Figura 26** -Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme a espessura tumoral, grupada em tumores com espessura inferior a 4,0mm e tumores com espessura igual ou superior a 4,0mm, no grupo pN+RC- (p=0,025).

As curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) mostraram que houve diferença entre os tumores com espessura inferior a 4,0mm e tumores com espessura igual ou superior a 4,0mm, no grupo pN+RC- (n=58 e p=0,025); entretanto, não houve diferença entre os tumores até 4,0cm e os tumores com mais de 4,0 cm, no grupo pN+RC+ (n=56 e p=0,378).

- **Análise das curvas de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em relação ao grau de diferenciação histológica**

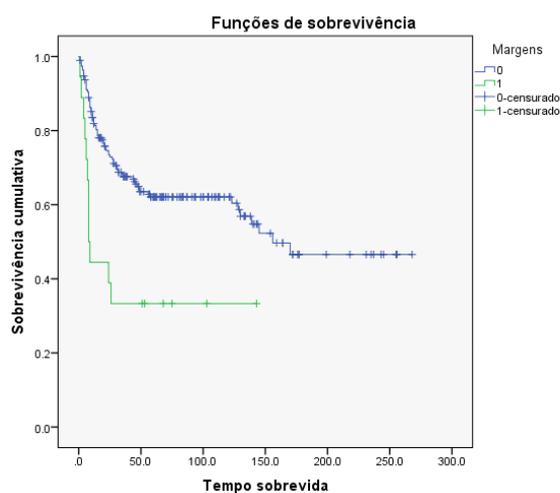


**Figura 27** - Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme o grau de diferenciação histológica, grupado entre tumores bem diferenciado e tumores moderadamente e pouco diferenciados, na amostra total do estudo (p=0,020).

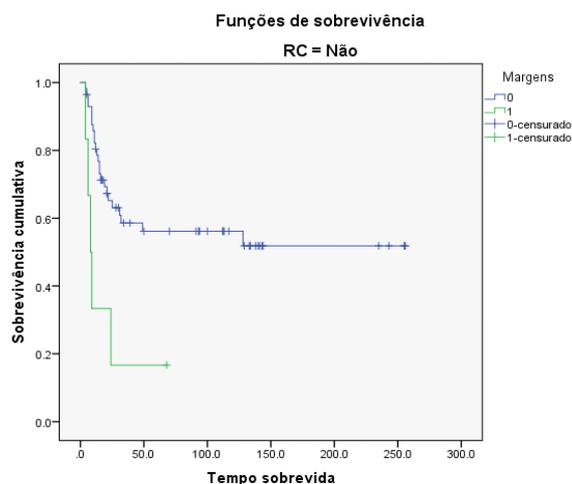
As curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) mostraram que houve diferença entre os tumores bem diferenciados e os tumores moderadamente e pouco diferenciados, na amostra total da amostra (n=210 e p=0,020). Entretanto, não houve diferença entre os tumores bem

diferenciados e os tumores moderadamente e pouco diferenciados, no grupo pN+RC- (n=63 e p=0,750) e no grupo pN+RC+ (n=55 e p=0,192).

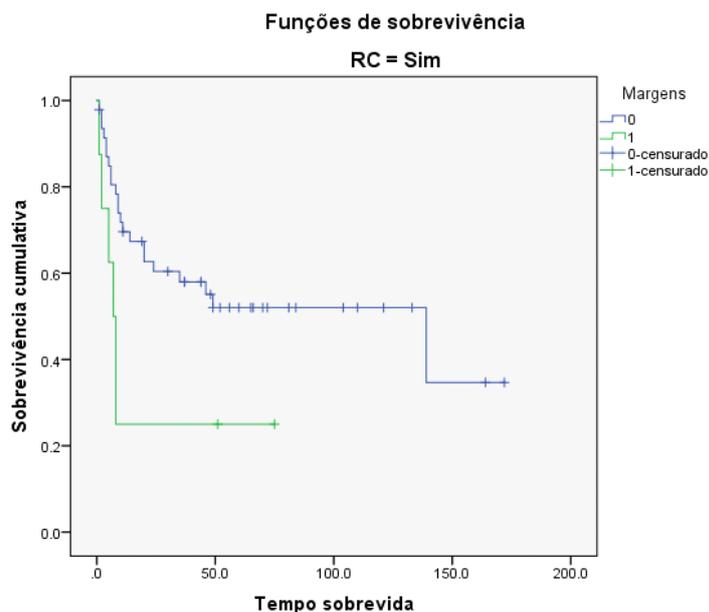
- **Análise das curvas de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em relação às margens cirúrgicas**



**Figura 28** - Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme o status das margens de ressecção, grupadas em margens livres e margens comprometidas, na amostra total do estudo (p=0,001).



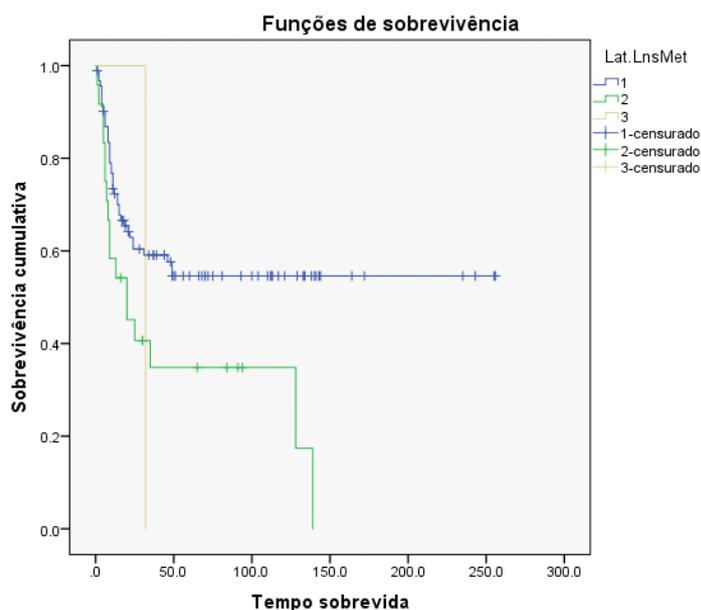
**Figura 29** - Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme o status das margens de ressecção, grupadas em margens livres e margens comprometidas, no grupo pN+RC- (p=0,004).



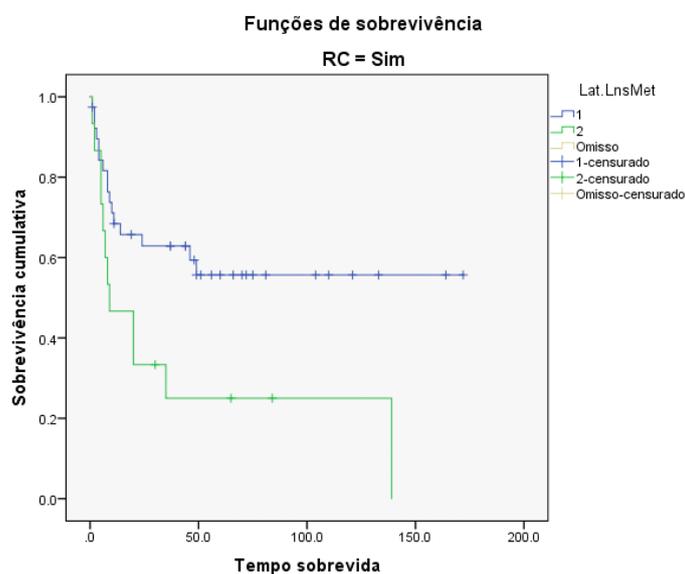
**Figura 30** - Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme o status das margens de ressecção, grupadas em margens livres e margens comprometidas, no grupo pN+RC+ ( $p=0,032$ ).

As curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) mostraram que houve diferença entre os tumores com margens livres e os tumores com margens comprometidas, na amostra total do estudo ( $n= 212$  e  $p=0,001$ ), no grupo pN+RC- ( $n=63$  e  $p=0,004$ ) e no grupo pN+RC+ ( $n=56$  e  $p=0,032$ ).

- **Análise das curvas de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em relação à lateralidade dos linfonodos positivos**



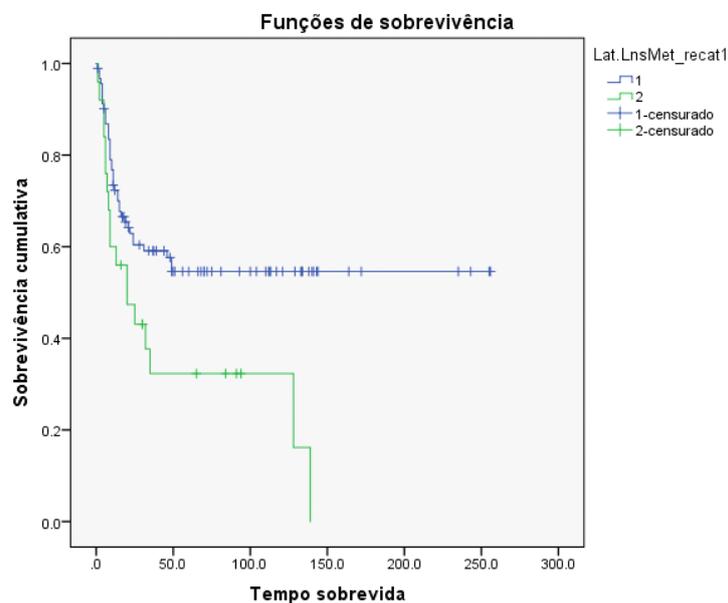
**Figura 31** - Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) para lateralidade em linfonodos positivos, grupados em linfonodos positivos em cadeia ipsilateral, linfonodos positivos em cadeia bilateral e linfonodos positivos em cadeia contralateral, na amostra pN+ do estudo ( $p=0,036$ ).



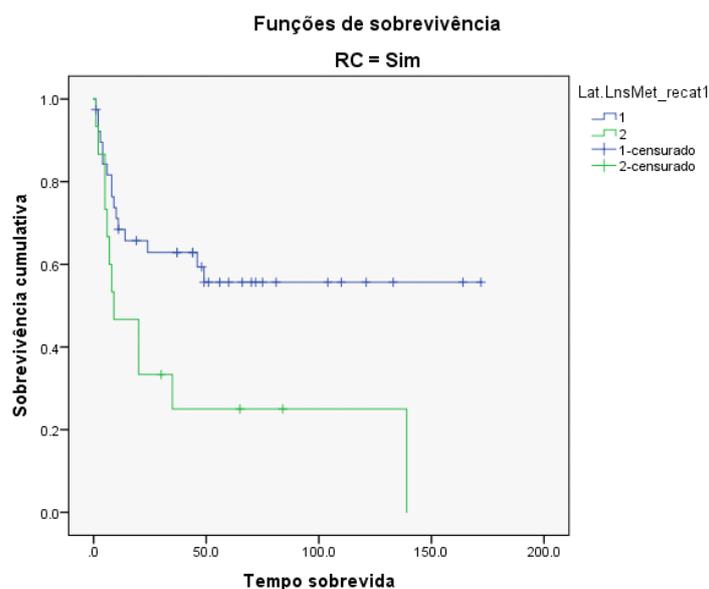
**Figura 32** - Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) para lateralidade em linfonodos positivos, grupados em linfonodos positivos em cadeia ipsilateral, linfonodos positivos em cadeia bilateral e linfonodos positivos em cadeia contralateral, no grupo pN+RC+ ( $p=0,017$ ).

As curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) mostraram que houve diferença entre linfonodos positivos em cadeia ipsilateral, linfonodos positivos em cadeia bilateral e linfonodos positivos em cadeia contralateral, na amostra pN+ do estudo (n=119 e p=0,036), e no grupo pN+RC+ (n=56 e p=0,017). Entretanto não houve diferença entre linfonodos positivos em cadeia unilateral, linfonodos positivos em cadeia bilateral e linfonodos positivos no grupo pN+RC- (n=63 e p=0,738).

- **Análise das curvas de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em relação a lateralidade dos linfonodos positivos recategorizados**



**Figura 33** - Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) para lateralidade em linfonodos positivos, recategorizados, grupados em cadeia ipsilateral e linfonodos positivos em cadeia bilateral, em pN+ do estudo (p=0,010).



**Figura 34** - Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) para lateralidade em linfonodos positivos, recategorizados, agrupados em cadeia ipsilateral e linfonodos positivos em cadeia bilateral no grupo pN+RC+ ( $p=0,017$ ).

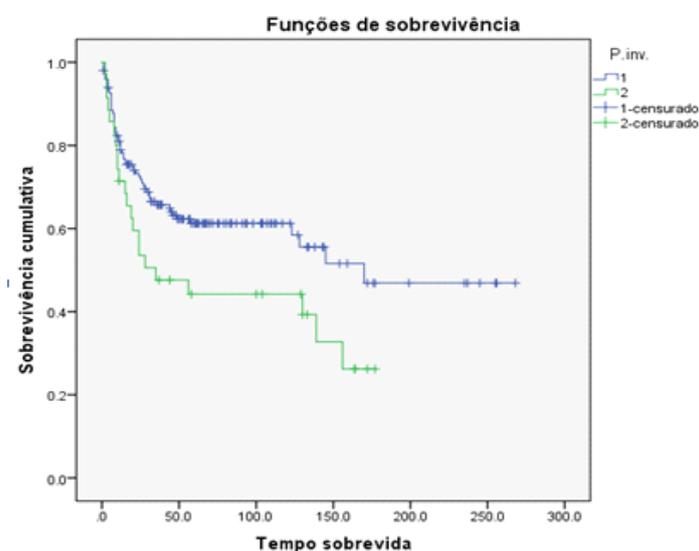
As curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) mostraram que houve diferença entre linfonodos positivos em cadeia ipsilateral e linfonodos positivos em cadeia bilateral, na amostra pN+ do estudo ( $n=119$  e  $p=0,036$ ), e no grupo pN+RC+ ( $n=56$  e  $p=0,017$ ). Entretanto não houve diferença entre linfonodos positivos em cadeia unilateral, linfonodos positivos em cadeia bilateral e linfonodos positivos no grupo pN+RC- ( $n=63$  e  $p=0,475$ ).

- **Análise das curvas de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em relação ao Padrão de invasão Yamamoto-Kohama**

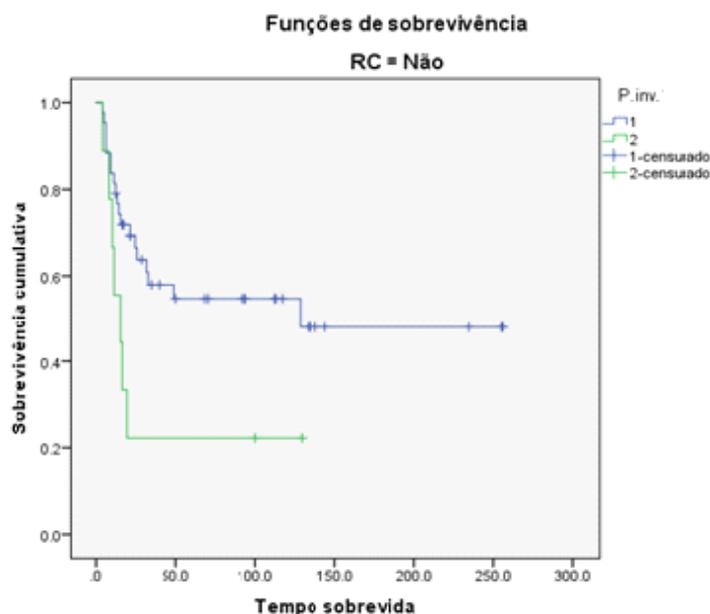
As curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) mostraram que não houve diferença entre os tumores classificados como 1 2, 3, 4C e 4D

através da classificação do modo de invasão tumoral de Yamamoto-Kohama, na amostra total do estudo ( $n=186$  e  $p=0,175$ ), no grupo  $pN+RC-$  ( $n=52$  e  $p=0,146$ ) e no grupo  $pN+RC+$  ( $n=54$  e  $p=0,924$ ).

- **Análise das curvas de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em relação ao Padrão de invasão**



**Figura 35** -Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) para padrão de invasão tumoral, entre os tumores com padrão de invasão “pushing” e infiltrativo e os tumores com padrão de invasão disseminativo, na amostra total do estudo ( $p=0,039$ ).



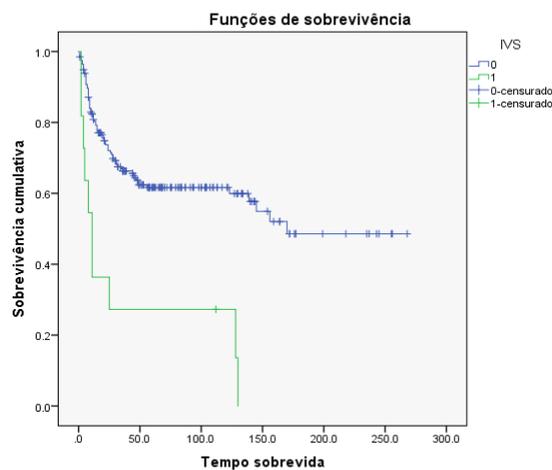
**Figura 36** - Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) para padrão de invasão tumoral, entre os tumores com padrão de invasão “pushing” e infiltrativo e os tumores com padrão de invasão disseminativo, no grupo pN+RC- (n=52 e p=0,035).

As curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) mostraram que não houve diferença entre os tumores classificados como padrão de invasão “pushing” e infiltrativo e como padrão de invasão disseminativo, na amostra total do estudo (n=186 e p=0,039) e no grupo pN+RC- (n=52 e p=0,035); entretanto não houve diferença no grupo pN+RC+ (n=54 e p=0,730).

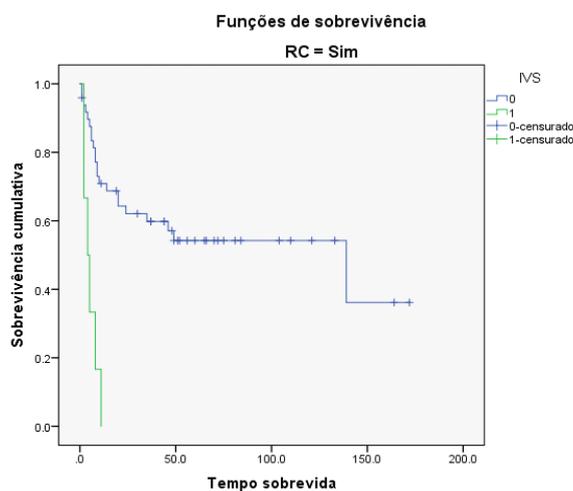
- **Análise das curvas de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em relação à IVS**

As curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) mostraram que houve diferença entre tumores com invasão vascular sanguínea e tumores sem invasão vascular sanguínea, na amostra total do estudo (n=210

e  $p=0,000$ ) e no grupo  $pN+RC+$  ( $n=56$  e  $p=0,035$ ); entretanto não houve diferença no grupo  $pN+RC-$  ( $n=63$  e  $p=0,532$ ).

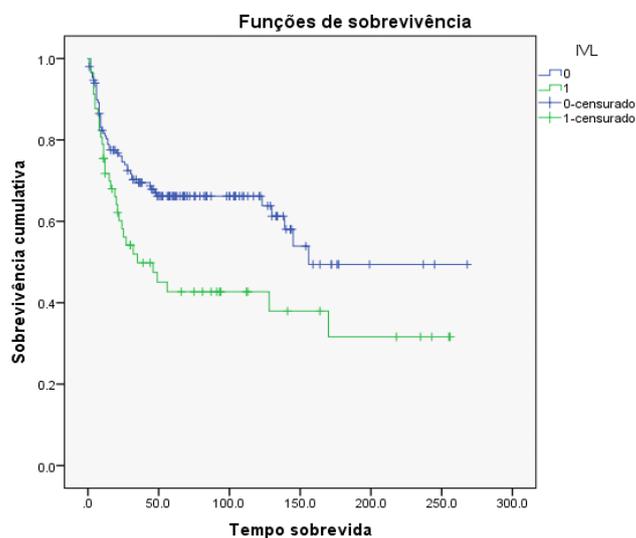


**Figura 37** - Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme a invasão vascular sanguínea, grupada entre tumores com invasão vascular sanguínea e tumores sem invasão vascular sanguínea, na amostra total do estudo ( $p=0,000$ ).



**Figura 38** - Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme a invasão vascular sanguínea, grupada entre tumores com invasão vascular sanguínea e tumores sem invasão vascular sanguínea, no grupo  $pN+RC+$  ( $p=0,035$ ).

- **Análise das curvas de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em relação à IVL**

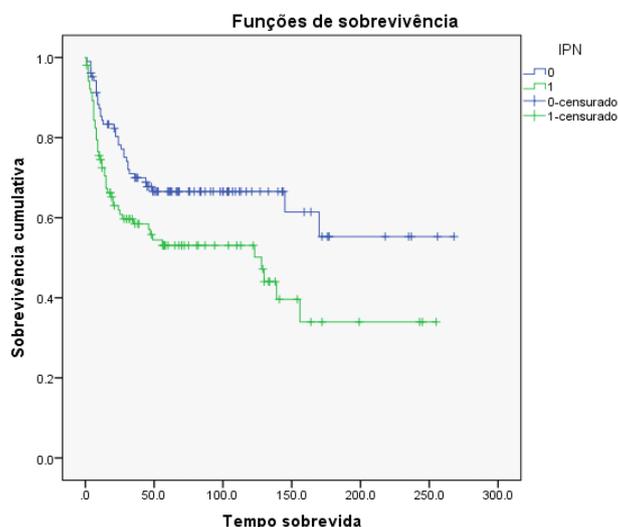


**Figura 39** - Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme a invasão vascular linfática, grupada entre tumores com invasão vascular linfática e tumores sem invasão vascular linfática, na amostra total do estudo ( $p=0,009$ ).

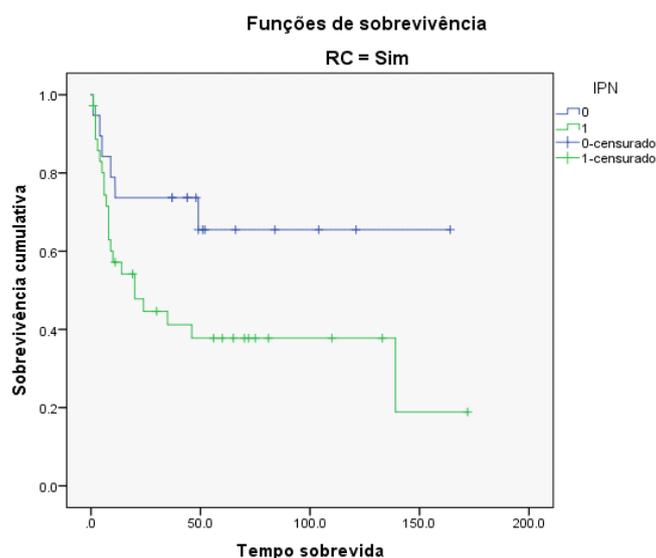
As curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) mostraram que houve diferença entre tumores com invasão vascular linfática e tumores sem invasão vascular linfática, na amostra total do estudo ( $n=210$  e  $p=0,000$ ).

Todavia, não houve diferença no grupo  $pN+RC-$  ( $n=63$  e  $p=0,932$ ) e no grupo  $pN+RC+$  ( $n=56$  e  $p=0,348$ ).

- **Análise das curvas de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em relação à IPN**



**Figura 40** - Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme a invasão perineural, grupada entre tumores sem invasão perineural e tumores com invasão perineural, na amostra total do estudo ( $p=0,010$ ).



**Figura 41** - Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) conforme a invasão perineural, grupada entre tumores sem invasão perineural e tumores com invasão perineural, no grupo pN+RC+ ( $p=0,045$ ).

As curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) mostraram que houve diferença entre tumores com invasão perineural e tumores sem invasão perineural, na amostra total do estudo ( $n=210$  e  $p=0,010$ ) e no grupo pN+RC+ ( $n=56$  e  $p=0,045$ ); entretanto não houve diferença no grupo pN+RC- ( $n=63$  e  $p=0,820$ ).

- **Análise das curvas de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em relação à Desmoplasia**

As curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) mostraram que não houve diferença entre tumores sem desmoplasia e tumores com desmoplasia, na amostra total do estudo ( $n=187$  e  $p=0,086$ ), no grupo pN+RC- ( $n=53$  e  $p=0,604$ ) e no grupo pN+RC+ ( $n=54$  e  $p=0,474$ ).

- **Análise das curvas de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em relação à Inflamação**

As curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) mostraram que não houve diferença entre tumores com inflamação e tumores sem inflamação, na amostra total do estudo ( $n=187$  e  $p=0,144$ ), no grupo pN+RC- ( $n=53$  e  $p=0,089$ ) e no grupo pN+RC+ ( $n=54$  e  $p=0,164$ ).

- **Análise das curvas de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em relação à Necrose**

As curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) mostraram que houve diferença entre tumores sem necrose e tumores com necrose, na amostra total do estudo ( $n=187$  e  $p=0,001$ ) e no grupo pN+RC+ ( $n=53$  e

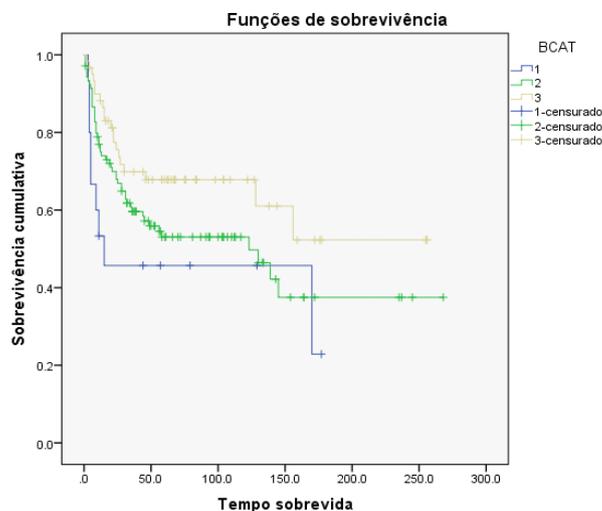
$p=0,007$ ); não houve, todavia, diferença em relação ao grupo pN+RC- ( $n=54$  e  $p=0,510$ ).

### **6.12.3 Análise das variáveis imunoistoquímicas**

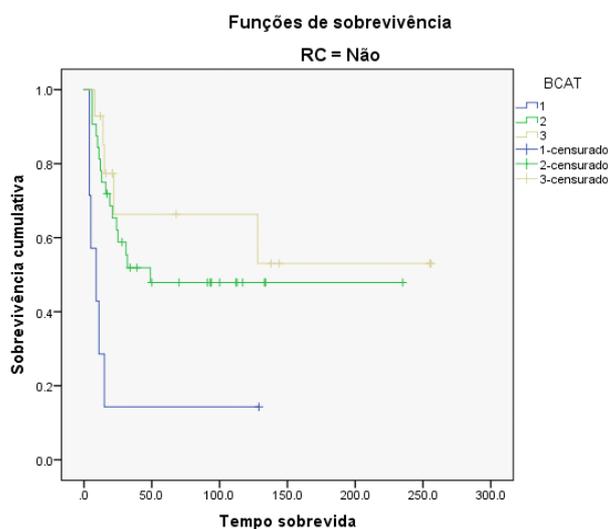
- **Análise das curvas de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em relação à E-caderina**

As curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) mostraram que não houve diferença para expressão de E-caderina, entre tumores com imunomarcção negativa, tumores com marcação em menos de 50% das células tumorais e tumores com marcação em mais de 50% das células tumorais, na amostra total do estudo ( $n=185$  e  $p=0,155$ ), no grupo com linfonodos metastáticos e sem ruptura capsular ( $n=52$  e  $p=0,304$ ) e no grupo com linfonodos metastáticos e com ruptura capsular ( $n=52$  e  $p=0,944$ ).

- **Análise das curvas de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em relação à  $\beta$ -catenina**



**Figura 42** - Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) para expressão de  $\beta$ -catenina entre tumores com marcação em menos de 50% das células tumorais e tumores com marcação em mais de 50% das células tumorais, na amostra total do estudo ( $p=0,057$ ).



**Figura 43** - Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) para expressão de  $\beta$ -catenina, grupada entre tumores com marcação em menos de 50% das células tumorais e tumores com marcação em mais de 50% das células tumorais, no grupo pN+RC- ( $p=0,033$ ).

As curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) mostraram que não houve diferença entre tumores com marcação para  $\beta$ -catenina em menos de 50% das células tumorais e tumores com marcação para  $\beta$ -catenina em mais de 50% das células tumorais, na amostra total do estudo, porém com valor de p próximo da significância (n=182 e p=0,057).

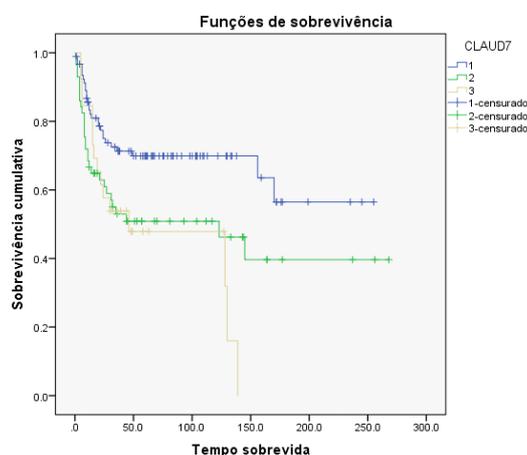
As curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) mostraram que houve diferença entre tumores com marcação para  $\beta$ -catenina em menos de 50% das células tumorais e tumores com marcação para  $\beta$ -catenina em mais de 50% das células tumorais, no grupo pN+RC- (n=53 e p=0,033); entretanto não houve diferença de imunomarcação entre os três grupos em relação ao grupo pN+RC+ (n=51 e p=0,896).

- **Análise das curvas de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em relação à Claudina-7**

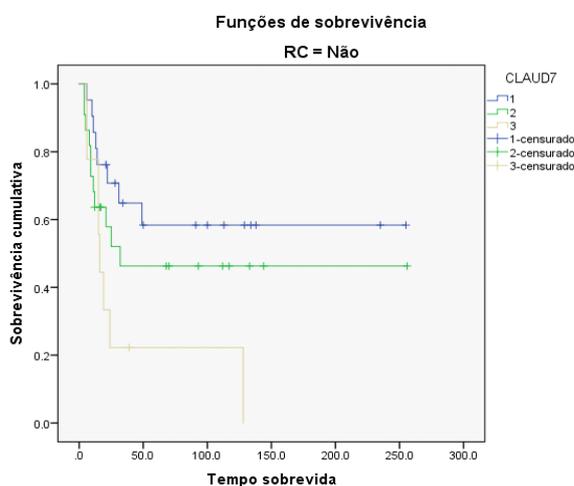
As curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) mostraram que houve diferença para expressão de claudina-7, entre tumores com marcação negativa, tumores com marcação em menos de 50% das células tumorais e tumores com marcação em mais de 50% das células tumorais, na amostra total do estudo (n=177 e p=0,008).

As curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) mostraram que não houve diferença entre tumores com marcação negativa, tumores com marcação em menos de 50% das células tumorais e tumores com marcação em mais de 50% das células tumorais para claudina-7, no grupo pN+RC-, porém com valor muito próximo de haver diferença (n=52 e p=0,052); não

houve diferença entre os três grupos de marcação em relação ao grupo pN+RC+ (n=51 e p=0,381).



**Figura 44** - Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) para expressão de claudina-7, grupada entre tumores com marcação negativa, tumores com marcação em menos de 50% das células tumorais e tumores com marcação em mais de 50% das células tumorais para claudina-7, na amostra total do estudo (p=0,008).



**Figura 45** - Curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) para expressão de claudina-7, grupada entre tumores com marcação negativa, tumores com marcação em menos de 50% das células tumorais e tumores com marcação em mais de 50% das células tumorais para claudina-7, no grupo pN+RC- (p=0,052).

- **Análise das curvas de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em relação à Vimentina, à MMP-2, à MMP-9, ao Ki-67 e ao VEGF**

As curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) mostraram que não houve diferença entre os tumores com expressão negativa e os tumores com expressão positiva para vimentina, MMP-2 e MMP-9 nas células neoplásicas, na amostra total do estudo (n=179 e p=0,855, n=180 e p=0,302 e n=183 e p=0,287, respectivamente), no grupo pN+RC- (n=48 e p=0,464, (n=51 e p=0,671 e n=51 e p=0,342, respectivamente) e no grupo pN+RC+ (n=50 e p=0,926, n=52 e p=0,452 e n=53 e p=0,635, respectivamente).

De forma semelhante, as curvas de sobrevida câncer-específica (Kaplan-Meier) mostraram que não houve diferença entre os tumores com expressão de Ki-67 em menos de 50% das células neoplásicas e os tumores com expressão em mais de 50% das células neoplásicas assim como não houve diferença entre tumores com expressão negativa e positiva focal e tumores com expressão positiva difusa para VEGF, na amostra total do estudo (n=180 e p=0,143 e n=183 e p=0,965, respectivamente), no grupo pN+RC- (n=52 e p=0,111 e n=53 e p=0,845, respectivamente), e no grupo pN+RC+ (n=50 e p=0,298 e n=51 e p=0,871, respectivamente).

As curvas de sobrevida câncer específica (Kaplan-Meier) tem seus valores de p apresentados em tabela, quanto conforme as variantes sociodemográficas, clinicopatológicas, histopatológicas e imunoistoquímicas e distribuídas quanto à amostra total, ao grupo pN+RC- e ao grupo pN+RC+.

**Tabela 14** - Valores de p em Curvas de Sobrevida Câncer Específica (Kaplan-Meier) segundo as variáveis analisadas

<b>Valores de p em Curvas de Sobrevida Câncer Específica segundo as variáveis analisadas</b>			
<b>Variáveis</b>	<b>Total</b>	<b>pN+RC-</b>	<b>pN+RC+</b>
<b>Sociodemográficas</b>			
Idade	NS	NS	NS
Gênero	NS	NS	NS
Etnia	NS	NS	NS
Tabagismo	<u>0.090</u>	NS	NS
Consumo de álcool	NS	NS	NS
<b>Clinicopatológicas</b>			
Topografia do tumor	NS	NS	NS
EC	0.000	NS	0.044
T	0.000	NS	0.008
N	0.000	NS	0.001
pT	0.000	0.004	<u>0.093</u>
pN	0.000	NS	<b>0.002</b>
Tratamento	NS	NS	NS
Segundo tumor primário	NS	NS	NS
Situação no último evento	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>
<b>Histopatológicas</b>			
Tamanho do tumor	<b>0.000</b>	<b>0.016</b>	<u>0.078</u>
Espessura do tumor	<b>NS</b>	<b>0.025</b>	NS
Grau de diferenciação histológica	<b>0.020</b>	<b>NS</b>	NS
Margens cirúrgicas	<b>0.001</b>	<b>0.004</b>	<b>0.032</b>
Padrão de invasão	NS	NS	NS
Padrão de invasão YK4	<b>0.039</b>	<b>0.035</b>	NS
Desmoplasia	<u>0.086</u>	NS	NS
Inflamação	NS	<u>0.089</u>	NS
Necrose	<b>0.001</b>	<b>NS</b>	<b>0.007</b>
IVS	<b>0.000</b>	<b>NS</b>	<b>0.000</b>
IVL	<b>0.009</b>	NS	NS
IPN	<b>0.010</b>	<b>NS</b>	<b>0.045</b>
Metástase LN e ruptura capsular	NS		<b>0.003</b>
Lateralidade LNs +	<b>0.036</b>	<b>NS</b>	<b>0.017</b>
Lateralidade LNs +, recategorizada	<b>0.010</b>	<b>NS</b>	<b>0.017</b>

**Cont/ Tabela 14**

**Valores de p em Curvas de Sobrevida Câncer Específica (Kaplan-Meier) segundo as variáveis analisadas**

<b>Variáveis</b>	<b>Total</b>	<b>pN+RC-</b>	<b>pN+RC+</b>
<b>Imunoistoquímicas</b>			
E-caderina	NS	NS	NS
$\beta$ -catenina	<u>0.057</u>	<b>0.003</b>	NS
Claudina-7	<b>0.008</b>	<u>0.052</u>	NS
Vimentina	NS	NS	NS
MMP-2	NS	NS	NS
MMP-9	NS	NS	NS
Ki-67	NS	NS	NS
VEGF	NS	NS	NS

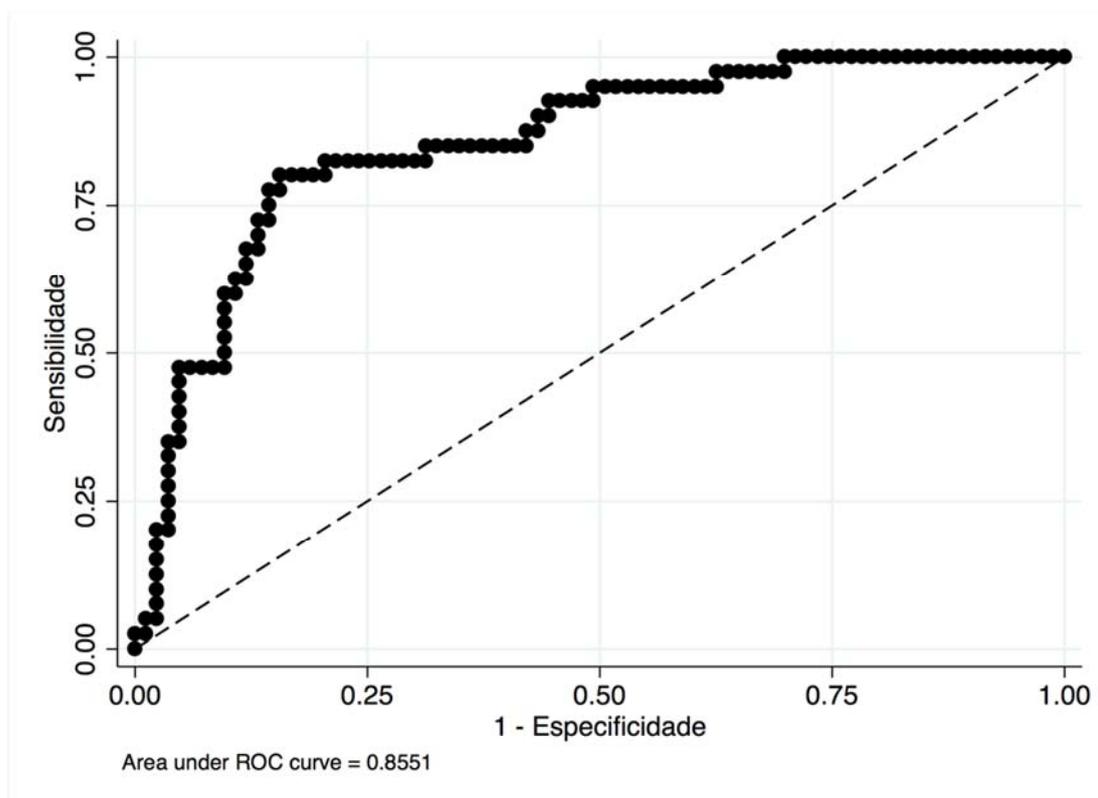
**6.12 MODELO PREDITIVO****6.12.1 Modelo Multivariado Inicial**

Neste modelo, utilizamos todas as variáveis disponíveis para avaliação, realizando uma análise de casos completos. Nesta abordagem 123 pacientes foram analisados, resultando na Tabela 15 abaixo.

**Tabela 15 - Modelo multivariado inicial**

<b>RC</b>	<b>Razão de risco</b>	<b>Intervalo de confiança 95%</b>		<b>Valor de p</b>
Idade	0.0067565	-0.0355447	0.0490576	0.754
Sexo	-0.6133966	-1.876152	0.649359	0.341
T recat	-0.0620682	-1.25918	1.135044	0.919
N recat	2.362005	-1.15665	3.56738	0.000
Espessura tumor	-0.11282	-0.5203388	0.3077687	0.603
GH	0.2119838	-0.615446	1.039414	0.616
IVS	1.845092	-0.3746538	4.064838	0.103
IVL	-0.6627068	-1.884782	0.5593687	0.288
IPN	0.2424903	-0.8248709	1.309852	0.656
Topografia	0.3769667	-0.7901625	1.514096	0.527
E caderina	2.026823	0.5436993	3.509047	0.007
$\beta$ -catenina recat	-0.6832871	-2.130881	0.7643066	0.355
Claudina-7 recat	-0.2434393	-1.2739070	0.7870288	0.643
Vimentina	0.6858418	-0.504182	1.875866	0.259
Ki-67	0.8598441	-0.3370758	2.056764	0.159
MMP-2	-0.3710704	-1.853715	1.111574	0.624
MMP-9	0.4643141	-0.5443117	1.47294	0.367
VEGF	-0.0426422	-0.9213332	0.8360489	0.924
_cons	-8.764241	-16.34712	-1.181358	0.023

A área sob a curva ROC deste modelo preditivo é de 0.8551.



**Figura 46** - Curva ROC aplicada ao modelo preditivo

### **6.12.2 Análise Univariada da Extensão Extracapsular como Fator Prognóstico**

Utilizando a recidiva cervical como resultado de interesse, observamos que a presença de metástases linfonodais sem extensão extracapsular não foi fator prognóstico, mas que a presença da ruptura capsular acarreta maior risco (Tabela 16).

**Tabela 16** - Análise univariada da ruptura capsular (extensão extracapsular) como fator prognóstico.

Variável	Razão de risco	Intervalo de confiança 95%	Valor de p
pN+ RC-	2.356773	0.9909021 5.605376	0.052
pN+RC+	3.554191	1.513765 8.344938	0.004

Na análise de sobrevida doença-específica univariada, a extensão extracapsular (pN+RC+) foi estatisticamente significativa quando comparada com ausência de metástase linfonodal (pN0) ou presença de metástase linfonodal sem extensão extracapsular (pN+RC-) (Tabela 17).

**Tabela 17** - Análise univariada de sobrevida doença-específica conforme a ausência ou presença de ruptura capsular (extensão extracapsular).

Variável	Razão de risco	Intervalo de confiança 95%	Valor de p
pN+ RC-	1.68207	1.0114632.797294	0.045
pN+ RC+	2.218386	1.326556 3.709783	0.002

A presença de extensão extracapsular foi significativa para sobrevida global neste grupo de pacientes (Tabela 18).

**Tabela 18** - Análise univariada de sobrevida global conforme a ausência ou presença de ruptura capsular (extensão extracapsular).

Variável	Razão de risco	Intervalo de confiança 95%	Valor de p
pN+ RC-	1.814318	1.154969 2.850076	0.010
pN+ RC+	2.116827	1.319255 3.396581	0.002

Quando comparamos a taxa de recidiva cervical em pacientes pN+ em função da presença de ruptura capsular, não observamos uma diferença significativa entre pacientes destes grupos (Tabela 19).

**Tabela 19** - Análise univariada de taxa de recidiva cervical conforme a ruptura capsular (extensão extracapsular) ausente ou presente em pacientes pN+.

Variável	Razão de risco	Intervalo de confiança 95%	Valor de p
pN+ RC+	1.510246	0,6858415 3.325613	0.306

Quando comparamos a sobrevida doença-específica em função da presença de ruptura capsular no linfonodo, não observamos diferença estatisticamente significativa entre os grupos (Tabela 20).

**Tabela 20** - Análise univariada de sobrevida doença-específica conforme a ruptura capsular (extensão extracapsular) ausente ou presente em pacientes pN+.

Variável	Razão de risco	Intervalo de confiança 95%	Valor de p
pN+ RC+	1.298262	0.77096 2.186216	0.326

Quando comparamos a sobrevida global em função da presença de ruptura capsular entre pacientes pN+, não observamos diferença significativa entre os grupos (Tabela 21).

**Tabela 21** - Análise univariada de sobrevida global conforme a ruptura capsular (extensão extracapsular) ausente ou presente em pacientes pN+.

Variável	Razão de risco	Intervalo de confiança 95%	Valor de p
pN+ RC+	1.56233	0.7206266 1.855157	0.547

### 6.12.3 Análise Multivariada de Sobrevida

Inicialmente, realizamos uma análise de casos completos com inclusão de variáveis. Nesta situação, foram utilizados 122 pacientes e o resultado, demonstrado na tabela abaixo (Tabela 23).

Este modelo possui uma concordância medida pelo c de Harrell de 0,7037.

**Tabela 22** - Análise multivariada de sobrevida

Variável	Razão de risco	Intervalo de confiança 95%	Valor de p
RC	1.637723	0.89432572.999059	0.110
Idade	1.003622	0.98098951.026776	0.755
Sexo	1.00698	0.497754 2.037168	0.985
T recat	1.406532	0.7676541 2.557115	0.270
N recat	1.470783	0.7798485 2.773877	0.233
Espessura tumor	1.156916	0.9319805 1.436141	0.186
GH	0.9984973	0.63025971.581882	0.995
IVS	2.868627	1.004934 8.18862	0.049
IVL	1.484768	0.83260392.64776	0.180
IPN	1.5355193	0.87586972.69083	0.134
Topografia	1.332358	0.7530184 2.357417	0.324
E-caderina	0.9313954	0.4136656 2.097098	0.864
$\beta$ -catenina recat	0.8793002	0.4065484 1.901788	0.744
Claudina-7 recat	1.509111	0.8524176 2.671715	0.158
Vimentina	0.8537006	0.43391011.679621	0.647
Ki-67	1.152297	0.6452005 2.057948	0.632
MMP-2	1.250109	0.5374275 2.907874	0.604
MMP-9	1.028098	0.5840873 1.809635	0.923
VEGF	0.852083	0.5647081.285701	0.446
Tratat	0.9971094	0.9887897 1.005499	0.498

## 7 DISCUSSÃO

As estimativas do INCA informam novos casos de câncer para 2018; estima-se 14.700 novos casos de carcinoma de cavidade oral com previsão de 11.200 novos casos em homens e 3.500 novos casos em mulheres.

As taxas de sobrevida se mantem baixas (OLIVEIRA et al. 2006) e o seu diagnostico geralmente em fase tardia pode estar relacionado a múltiplos fatores como hábitos de vida, dificuldade de acesso a centros de saúde para promoção de saúde e detecção precoce de lesões orais, falta de percepção de sintomas. Tais fatores resultam em diagnostico tardio com maior complexidade de planejamento e tratamento do câncer de cavidade oral.

Para os pacientes de carcinoma de células de células escamosas de cavidade oral que se apresentam ao primeiro exame clinico com estágio avançado e suspeita de metástase linfonodal, deve-se avaliar métodos preditivos para metástase em linfonodos cervicais e avaliar a sobrevivência em função de mau prognóstico para pacientes com metástase linfonodal, por vezes com ruptura capsular.

- **MODELOS PREDITIVOS**

Vários estudos pretendem identificar modelos preditivos para identificar metástases em linfonodos cervicais e ruptura capsular de linfonodos

metastáticos, fazendo uso de dados clinicopatológicos, imunoistoquímicos e de dados de imagem obtidos por diferentes técnicas.

A ruptura capsular em linfonodos cervicais pode ser realizada através de exames de imagem de exames de imagem, que incluem a tomografia computadorizada, a ressonância magnética, o PET-FGD e a ultrassonografia. Tais exames são rotineiramente realizados para planejamento terapêutico em pacientes com carcinoma de células escamosas de cavidade oral. Como qualquer método de diagnóstico, eles possuem limitações quanto a sua sensibilidade e especificidade. Os achados são obtidos baseados na avaliação anatômica dos linfonodos. Observam-se resultados variáveis, conforme a Tabela 23 abaixo.

**Tabela 23** - Métodos preditivos de imagem: comparação entre técnicas

Autores	Métodos	Acurácia	Sensibilidade	Especificidade
SIGG et al 2003	PET	94,0%	93,0 %	100,0%
TAKES et al. 1998	US	79,0%	48,0%	100,0%
	TC	77,0%	54,0%	92,0%
KATAYAMA et al 2012	US	85,0%	82,0%	89,0%
	RM	85,0%	89,0%	81,0%
HONG et al 2015	US	95,7%	78,9%	99,0%
SU et al 2016	RM	-	85,0%	84,0%
	TC	-	77,0%	85,0%
	PET/CT	-	86,0%	86,0%
	US	-	87,0%	75,0%
LIAO et al 2012	HP	-	91.2%	65.4%
LAI et al 2013	US e PAAF	90,1%	100,0%	88,0%

Entretanto, há vantagens e desvantagens nos métodos realizados no período pré-operatório, quando os cirurgiões de cabeça e pescoço realizam o planejamento terapêutico para cada paciente e necessitam identificar qual o comportamento biológico que o tumor apresenta visando planejar qual a melhor estratégia de tratamento e resultado.

A tomografia computadorizada (TC) e a imagem por ressonância magnética (RM) são os principais métodos de imagem para avaliar o câncer de cabeça e pescoço. Critérios de tamanho, necrose central e realce do anel são geralmente utilizados como indicadores de metástase cervical.

Outra abordagem para previsão de ruptura capsular pode incluir material de biópsia para análise histopatológica e de imunoistoquímica. O uso de marcadores moleculares no tumor primário poderia refletir seu comportamento biológico permitindo inferir o risco de metástase em linfonodos cervicais.

A avaliação de parâmetros anatomopatológicos permite obtenção de dados facilmente disponíveis e a realização de técnicas de imunoistoquímica fornecem dados referentes à biologia do tumor, por meio do comportamento de suas moléculas características e ser fator prognóstico em carcinoma de células escamosas de cavidade oral.

Para que esse objetivo seja mais bem alcançado, é necessário obter amostra representativa da lesão. A realização deste estudo através TMA pode sugerir que material adequado pode ser obtido sendo fundamental a presença não só do tumor como também do estroma para que a análise seja reprodutível e produza os resultados esperados.

Em nossa série, fizemos uso de oito biomarcadores de junção celular, estroma, proliferação celular e angiogênese (E-caderina,  $\beta$ -catenina, claudina-7, MMP-2, MMP-9, Ki-67 e VEGF) com boa correlação preditiva neste modelo. Nosso modelo demonstra uma correlação significativa entre estes e a presença de metástase linfonodal nestes pacientes e, em especial, naqueles que apresentaram ruptura capsular.

Selecionamos oito marcadores moleculares para participar neste modelo, representados por E-caderina,  $\beta$ -catenina, claudina-7, MMP-2, MMP-9, Ki-67 e VEGF.

- **$\beta$ -Catenina e Claudina-7 como fatores prognósticos em carcinoma de células escamosas de cavidade oral**

BALASUNDARAM et al. (2014) descreveram que não houve correlação significativa entre  $\beta$ -catenina reduzida e metástase linfonodal de forma semelhante aos estudos de CHOW et al. (2001), KURTZ et al. (2006), CRUZ et al. (2009) e FREITAS et al. (2010) e não era fator determinante para metástase linfonodal em carcinoma oral de células escamosas. Todavia, as análises de DINIZ-FREITAS et al. (2006) e MURAKAMI et al. (2008) consideraram que  $\beta$ -catenina reduzida era marcador preditivo de metástase linfonodal.

BELLO et al. (2008), LOURENÇO et al. (2010b) e MELCHERS et al. (2013) consideraram que a redução ou perda da expressão de Claudina-7 se correlacionava com sobrevida reduzida e era preditora de comportamento e desfecho. A ausência de claudina-7 identificava pacientes com maior risco de recidiva e reduzida sobrevida livre de doença.

Em nossa série, a expressão reduzida ou ausente de  $\beta$ -catenina e de claudina-7 se associou negativamente com sobrevida livre de doença.

- **Invasão vascular sanguínea, invasão vascular linfática e infiltração perineural como fatores prognósticos em carcinoma de células escamosas de cavidade oral**

Conforme SUDHAKARA et al. (2016), vários estudos mostraram que 17.2% a 30% dos casos de carcinoma oral de células escamosas apresentaram invasão vascular (KURTZ et al. 2005, CAVALCANTE et al. 2015) e entre 31% e 40% dos casos apresentaram infiltração perineural (CAVALCANTE et al. 2015; VARSHA et al. 2015).

O estudo de ADEL et al. (2015) mostrou associação entre IVS e IVL com sobrevida, EC, T, N, IPN, RC e grau histológico, mas não como fatores prognósticos. Entretanto, JERJES et al. (2010) consideraram IVS e IVL como fatores prognósticos e o estudo de JONES et al. (2009) encontrou achados semelhantes.

JARDIM et al. (2015) observaram o fator impactante negativo de IPN para a sobrevida e sua associação com metástase linfonodal, mas não com ruptura capsular. Tanto a invasão vascular quanto a infiltração perineural se correlacionaram com comportamento agressivo e mortalidade aumentada.

- **Ruptura capsular e análise da sobrevida global e câncer-específica e de recidiva para pacientes pN0, pN+RC- e pN+RC+**

O carcinoma de células escamosas de cavidade oral é um tumor observado predominantemente em pacientes idosos e mais frequentemente em homens e nossos achados estão em concordância com diversos relatos da literatura.

A metástase ganglionar é um importante fator prognóstico sendo responsável por um decréscimo de 50% na sobrevida (MARUR e FORASTIERE 2016).

A ruptura capsular é igualmente relevante para o resultado na evolução destes pacientes (BÁNKFALVI e PIFFKO 2000; WOOLGAR et al. 2003). MASSANO et al. (2006) mostraram que a ruptura capsular era importante fator prognóstico e estava associada com recidiva loco regional e à distância e com menor taxa de sobrevida. Não obstante, nosso estudo não apresentou diferença estatisticamente significativa entre pacientes pN+RC- e pN+RC+ quanto a recidiva e a sobrevida.

A presença de recidiva foi predominantemente observada em pacientes com metástase linfonodal e apresentou um significativo impacto na sobrevida destes pacientes quando comparados com paciente sem metástase linfonodal.

Nosso estudo mostrou o predomínio de estadios mais avançados, que frequentemente apresentam linfonodos comprometidos e com ruptura capsular. Verificamos que em concordância com a literatura a presença de

metástase ganglionar e fator significativo para o prognóstico, a sobrevida global, a sobrevida livre de doença e o tempo para recidiva do câncer.

A ruptura capsular é igualmente um relevante fator para o desfecho na evolução destes pacientes (BÁNKFALVI e PIFFKO 2000; WOOLGAR et al. 2003). Não obstante, nosso estudo não apresentou diferença estatisticamente significativa na comparação entre os pacientes pN+RC- e pN+RC+ quanto a recidiva e a sobrevida, possivelmente por diferentes comportamentos biológicos dos dois grupos.

A série de MATSUMOTO et al. (2017) mostrou que 52.7% dos casos de carcinoma oral de células escamosas tinham metástase linfonodal; neste grupo pN+, 55.1% eram RC- e 44,9% eram RC+. O maior número de LNs+ se correlacionou com maior risco para RC. Mostrou ainda sobrevida livre de doença em 3 anos de 90.9% para pacientes pN0, 79.6% para pacientes pN+RC- e 63.3% e 48.3% para pacientes pN+RC+ (RC não cirúrgica e cirúrgica, respectivamente).

O estudo de WOOLGAR et al. (1995) demonstrou taxas de sobrevida global de 1 ano, 2 anos e 3 anos de 84,0%, 69,0% e 65,0%, respectivamente para o conjunto de pacientes com carcinoma de células escamosas da cavidade oral. Semelhantes aos nossos resultados, as probabilidades de sobrevida foram de 95,0%, 86,0% e 86,0% respectivamente para pacientes pN0 e para pacientes pN+, 71,0%, 52,0% e 44,0%, respectivamente. Nesta série, 30 (24,0%) faleceram de câncer, 16 (13,0%) de recidiva local, 10 (8,0%) de recidiva regional e 4 (3,0%) de metástase sistêmica.

Uma outra série de WOOLGAR et al. (2003) mostrou sobrevida de 5

anos de 78% para pacientes pN0, 64% para pacientes pN+RC- e de 33% e 36% para pacientes pN+RC+ (RC macroscópica e microscópica, respectivamente).

Na série de GREENBERG et al. (2003b), a sobrevida em 5 anos foi de 88% para pacientes pN0, 68% para pacientes pN+RC- e 48% para pacientes pN+RC+.

Nossa série demonstrou sobrevida livre de doença em 5 anos de 65.7% para pacientes pN0, 43.3% para pacientes pN+RC- e 45.5% para pacientes pN+RC+ enquanto as taxas de recidiva em 5 anos foram de 25.4% para pN0, 48.4% para pN+RC- e 46.4% para pN+RC+.

A discordância de nossa série para os casos pN+RC- e pN+RC+, onde não houve diferença significativa em relação à sobrevida e à recidiva, poderia refletir diferente biologia tumoral ou abordagem terapêutica.

## 8 CONCLUSÃO

O modelo desenvolvido auxilia na predição de ruptura capsular em pacientes com carcinoma de células escamosas de cavidade oral e seu uso pode ajudar a definição da extensão do esvaziamento cervical.

Neste estudo, houve significativa associação entre EC, cT, cN, pN, invasão vascular sanguínea e linfática, infiltração perineural e desmoplasia e os grupos pN0, pN+RC- e pN+RC+.

Houve significativa associação entre consumo de tabaco, EC, pN, desmoplasia e necrose e os grupos pN+RC- e pN+RC+.

Somente a invasão vascular sanguínea mostrou ser um fator de risco independente.

A análise das curvas de sobrevida câncer-específica mostrou diferença entre expressão de  $\beta$ -catenina e claudina-7.

A extensão extra capsular foi determinante para a sobrevida dos pacientes e sua positividade é um fator de pior prognóstico.

A presença de ruptura capsular não foi significativa para sobrevivência como em outras séries. Este dado pode refletir diferente biologia tumoral ou abordagem terapêutica.

## 9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adams J, Carder PJ, Downey S, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) in breast cancer: comparison of plasma, serum, and tissue VEGF and microvessel density and effects of tamoxifen. **Cancer Res** 2000; 60:2898-905.

Adel M, Kao HK, Hsu CL, et al. Evaluation of Lymphatic and Vascular Invasion in Relation to Clinicopathological Factors and Treatment Outcome in Oral Cavity Squamous Cell Carcinoma. **Medicine** (Baltimore) 2015; 94:e1510.

Aiken AH, Poliashenko S, Beitler JJ, et al. Accuracy of preoperative imaging in detecting nodal extracapsular spread in oral cavity squamous cell carcinoma. **AJNR Am J Neuroradiol** 2015; 36:1776-81.

Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. **Molecular biology of the cell**. 4<sup>a</sup> ed. New York: Garland Science; 2002. Cell junctions, cell adhesion, and the extracellular matrix; p.1065-126.

Al-Rajhi N, Khafaga Y, El-Husseiny J, et al. Early stage carcinoma of oral tongue: prognostic factors for local control and survival. **Oral Oncol** 2000; 36:508-14.

Altinyollar H, Berberoğlu U, Gülben K, Irkin F. The correlation of extranodal invasion with other prognostic parameters in lymph node positive breast cancer. **JSurg Oncol** 2007; 95:567-71.

Alvi A, Johnson JT. Extracapsular spread in the clinically negative neck (N0): implications and outcome. **Otolaryngol Head Neck Surg** 1996; 114:65-70.

Amar A, Curioni OA, Franzi SA, Ortelado DK, Rapoport A. Neck dissection in squamous cell carcinoma of the tongue. **Braz J Otorhinolaryngol** 2005;71:29-31.

Anneroth G, Batsakis J, Luna M. Review of the literature and a recommended system of malignancy grading in oral squamous cell carcinomas. **Scand J Dent Res** 1987; 95:229-49.

Aparna M, Rao L, Kunhikatta V, Radhakrishnan R. The role of MMP-2 and MMP-9 as prognostic markers in the early stages of tongue squamous cell carcinoma. **J Oral Pathol Med** 2015; 44:345-52.

Arora A, Husain N, Bansal A, et al. Development of a new outcome prediction model in early-stage squamous cell carcinoma of the oral cavity based on histopathologic parameters with multivariate analysis: the aditi-nuzhat lymph-node prediction score (ANLPS) System. **Am J Surg Pathol** 2017; 41:950-60.

Balasundaram P, Singh MK, Dinda AK, Thakar A, Yadav R. Study of  $\beta$ -catenin, E-cadherin and vimentin in oral squamous cell carcinoma with and without lymph node metastases. **Diagn Pathol** 2014; 9:145.

Bánkfalvi A, Piffkó J. Prognostic and predictive factors in oral cancer: the role of the invasive tumour front. **J Oral Pathol Med** 2000; 29:291-8.

Bánkfalvi A, Krassort M, Buchwalow IB, Végh A, Felszeghy E, Piffkó J. Gains and losses of adhesion molecules (CD44, E-cadherin, and beta-catenin) during oral carcinogenesis and tumour progression. **J Pathol** 2002a; 198:343-51.

Bánkfalvi A, Krassórt M, Végh A, Felszeghy E, Piffkó J. Deranged expression of the E-cadherin/beta-catenin complex and the epidermal growth factor receptor in the clinical evolution and progression of oral squamous cell carcinomas. **J Oral Pathol Med** 2002b; 31:450-7.

Bello IO, Vilen ST, Niinimaa A, Kantola S, Soini Y, Salo T. Expression of claudins 1, 4, 5, and 7 and occludin, and relationship with prognosis in squamous cell carcinoma of the tongue. **Hum Pathol** 2008; 39:1212-20.

Bennett SH, Futrell JW, Roth JA, Hoye RC, Ketcham AS. Prognostic significance of histologic host response in cancer of the larynx or hypopharynx. **Cancer** 1971; 28:1255-65.

Bettendorf O, Piffkó J, Bánkfalvi A. Prognostic and predictive factors in oral squamous cell cancer: important tools for planning individual therapy? **Oral Oncol** 2004; 40:110-9.

Brabender J, Bollschweiler E, Hölscher AH, et al. The prognostic impact of extracapsular lymph node involvement in rectal cancer patients: Implications for staging and adjuvant treatment strategies. **Oncol Lett** 2012; 3:825-830.

Brandwein-Gensler M, Teixeira MS, Lewis CM, et al. Oral squamous cell carcinoma: histologic risk assessment, but not margin status, is strongly predictive of local disease-free and overall survival. **Am J Surg Pathol** 2005; 29:167-78.

Brasilino de Carvalho M. Quantitative analysis of the extent of extracapsular invasion and its prognostic significance: a prospective study of 170 cases of carcinoma of the larynx and hypopharynx. **Head Neck** 1998; 20:16-21.

Bryne M, Koppang HS, Lilleng R, Stene T, Bang G, Dabelsteen E. New malignancy grading is a better prognostic indicator than Broders' grading in oral squamous cell carcinomas. **J Oral Pathol Med** 1989; 18:432-7.

Bucci JA, Kennedy CW, Burn J, et al. Implications of extranodal spread in node positive Breast cancer: a review of survival and local recurrence. **Breast** 2001; 10:213-9.

Campos RS, Lopes A, Guimarães GC, Carvalho AL, Soares FA. E-cadherin, MMP-2, and MMP-9 as prognostic markers in penile cancer: analysis of 125 patients. **Urology** 2006; 67:797-802.

Carvalho AL, Pintos J, Schlecht NF, et al. Predictive factors for diagnosis of advanced-stage squamous cell carcinoma of the head and neck. **Arch Otolaryngol Head Neck Surg** 2002; 128:313-8.

Cavalcante WS, Hsieh R, Lourenço SV, et al. Neural and Vascular Invasions of Oral Squamous Cell Carcinomas. **J Oral Hyg Health** 2015; 3:187–94.

Chai RL, Rath TJ, Johnson JT, et al. Accuracy of computed tomography in the prediction of extracapsular spread of lymph node metastases in squamous cell carcinoma of the head and neck. **JAMA Otolaryngol Head Neck Surg** 2013; 139:1187-94.

Chen P, Zhu J, Liu DY, Li HY, Xu N, Hou M. Over-expression of survivin and VEGF in small-cell lung cancer may predict the poorer prognosis. **Med Oncol** 2014; 31:775.

Cheng L, Pisansky TM, Ramnani DM, et al. Extranodal extension in lymph node-positive prostate cancer. **Mod Pathol** 2000; 13:113-8.

Chow V, Yuen AP, Lam KY, Tsao GS, Ho WK, Wei WI. A comparative study of the clinicopathological significance of E-cadherin and catenins (alpha, beta, gamma) expression in the surgical management of oral tongue carcinoma. **J Cancer Res Clin Oncol** 2001; 127:59-63.

Civantos FJ, Gomez C, Duque C, et al. Sentinel node biopsy in oral cavity cancer: correlation with PET scan and immunohistochemistry. **Head Neck** 2003; 25:1-9.

Coatesworth AP, MacLennan K. Squamous cell carcinoma of the upper aerodigestive tract: the prevalence of microscopic extracapsular spread and soft tissue deposits in the clinically N0 neck. **Head Neck** 2002; 24:258-61.

Conte B, Castro MAF, Dedivitis RA, Pfuetzenreiter Júnior EG, Denardin OVP. O impacto da invasão extracapsular nos resultados de câncer da boca e orofaringe. **Rev Bras Cir Cabeça Pescoço** 2010; 39:103-6.

Cortesina G, Martone T. Molecular metastases markers in head and neck squamous cell carcinoma: review of the literature. **Acta Otorhinolaryngol Ital** 2006; 26:317-25.

Coutinho-Camillo CM, Lourenço SV, Nishimoto IN, Kowalski LP, Soares FA. Nucleophosmin, p53, and Ki-67 expression patterns on an oral squamous cell carcinoma tissue microarray. **Hum Pathol** 2010; 41:1079-86.

Cruz MC, Pereira AL, Lopes FF, et al. Immunohistochemical expression of E-cadherin and CD44v6 in squamous cell carcinomas of the lower lip and tongue. **Braz Dent J** 2009; 20:64-9.

de Carvalho MB, Sobrinho Jde A, Rapoport A, et al. Head and neck squamous cell carcinoma in childhood. **Med Pediatr Oncol** 1998; 31:96-9.

de Carvalho MB, Lenzi J, Lehn CN, et al. [Clinical and epidemiological characteristics of squamous cell carcinoma of the oral cavity in women]. **Rev Assoc Med Bras** (1992). 2001; 47:208-14.

de Vicente CJ, Herrero-Zapatero A, Fresno MF, López-Arranz JS. Expression of cyclin D1 and Ki-67 in squamous cell carcinoma of the oral cavity: clinicopathological and prognostic significance. **Oral Oncol** 2002; 38:301-8.

de Vicente JC, Fresno MF, Villalain L, Vega JA, Hernández Vallejo G. Expression and clinical significance of matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 in oral squamous cell carcinoma. **Oral Oncol** 2005; 41:283-93.

Diniz-Freitas M, García-Caballero T, Antúnez-López J, Gándara-Rey JM, García-García A. Reduced E-cadherin expression is an indicator of unfavourable prognosis in oral squamous cell carcinoma. **Oral Oncol** 2006; 42:190-200.

Duncan TJ, Al-Attar A, Rolland P, et al. Vascular endothelial growth factor expression in ovarian cancer: a model for targeted use of novel therapies? **Clin Cancer Res** 2008; 14:3030-5.

Edge SB, Byrd DR, Compton CC, Fritz AG, Greene FL, Trotti A. **AJCC cancer staging manual**. 7<sup>a</sup> ed. New York: Springer-Verlag, 2010. Head and neck; p.21-100.

Fagan JJ, Collins B, Barnes L, D'Amico F, Myers EN, Johnson JT. Perineural invasion in squamous cell carcinoma of the head and neck. **Arch Otolaryngol Head Neck Surg** 1998; 124:637-40.

Fan HX, Li HX, Chen D, Gao ZX, Zheng JH. Changes in the expression of MMP2, MMP9, and ColIV in stromal cells in oral squamous tongue cell carcinoma: relationships and prognostic implications. **J Exp Clin Cancer Res** 2012; 31:90.

Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. **Endocr Rev** 1997; 18:4-25.

Ferrara N. VEGF as a therapeutic target in cancer. **Oncology** 2005; 69 Suppl 3:11-6.

Fleischmann A, Thalmann GN, Markwalder R, Studer UE. Prognostic implications of extracapsular extension of pelvic lymph node metastases in urothelial carcinoma of the bladder. **Am J Surg Pathol** 2005; 29:89-95.

Fleischmann A, Schobinger S, Markwalder R, et al. Prognostic factors in lymph node metastases of prostatic cancer patients: the size of the metastases but not extranodal extension independently predicts survival. **Histopathology** 2008; 53:468-75.

Franchi A, Gallo O, Boddi V, Santucci M. Prediction of occult neck metastases in laryngeal carcinoma: role of proliferating cell nuclear antigen, MIB-1, and E-cadherin immunohistochemical determination. **Clin Cancer Res** 1996; 2:1801-8.

Freitas Rde A, Silveira EJ, Silveira JP, Silva FM, Amorim RF. Correlation of  $\beta$ -catenin expression and metastasis in tongue squamous cell carcinoma. **Acta Cir Bras** 2010; 25:513-7.

Fundyler O, Khanna M, Smoller BR. Metalloproteinase-2 expression correlates with aggressiveness of cutaneous squamous cell carcinomas. **Mod Pathol** 2004; 17:496-502.

Furuse M, Sasaki H, Tsukita S. Manner of interaction of heterogeneous claudin species within and between tight junction strands. **J Cell Biol** 1999; 147:891-903.

Ganly I, Goldstein D, Carlson DL, et al. Long-term regional control and survival in patients with "low-risk," early stage oral tongue cancer managed by partial glossectomy and neck dissection without postoperative radiation: the importance of tumor thickness. **Cancer** 2013; 119:1168-76.

Genden EM, Ferlito A, Shaha AR, et al. Complications of neck dissection. **Acta Otolaryngology** 2003; 123:795-801.

George ML, Dutton MG, Janssen F, et al. VEGF-A, VEGF-C, and VEGF-D in colorectal cancer progression. **Neoplasia** 2001; 3:420-7.

Giannopoulos G, Palaces K, Paresis A, et al. The expression of matrix metalloproteinases-2 and-9 and their tissue inhibitor 2 in pancreatic ductal and ampulla carcinoma and their relation to angiogenesis and clinicopatológicas parameters. **Anticancer Res** 2008; 28:1875-81.

Gong Y, Chippada-Venkata UD, Oh WK. Roles of matrix metalloproteinases and their natural inhibitors in prostate cancer progression. **Cancers** (Basel) 2014; 6:1298-327.

Gontarz M, Wyszynska-Pawelec G, Zapala J. Clinico-pathological predictive factors in squamous cell carcinoma of the tongue and the floor of the mouth. **Folia Med Cracov** 2013; 53:73-86.

Gonzalez-Moles MA, Esteban F, Rodriguez-Archilla A, Ruiz-Avila I, Gonzalez-Moles S. Importance of tumour thickness measurement in prognosis of tongue cancer. **Oral Oncol** 2002; 38:394-7.

Greenberg JS, El Naggari AK, Mo V, Roberts D, Myers JN. Disparity in pathologic and clinical lymph node staging in oral tongue carcinoma. Implication for therapeutic decision making. **Cancer** 2003a; 98:508-15.

Greenberg JS, Fowler R, Gomez J, et al. Extent of extracapsular spread: a critical prognosticator in oral tongue cancer. **Cancer** 2003b;97:1464-70.

Hannen EJ, Riediger D. The quantification of angiogenesis in relation to metastasis in oral cancer: a review. **Int J Oral Maxillofac Surg** 2004; 33:2-7.

Henriques AC, de Matos FR, Galvão HC, Freitas Rde A. Immunohistochemical expression of MMP-9 and VEGF in squamous cell carcinoma of the tongue. **J Oral Sci** 2012; 54:105-11.

Hirabayashi H, Koshii K, Uno K, et al. Extracapsular spread of squamous cell carcinoma in neck lymph nodes: prognostic factor of laryngeal cancer. **Laryngoscope** 1991; 101:502-6.

Hirohashi S. Inactivation of the E-cadherin-mediated cell adhesion system in human cancers. **Am J Pathol** 1998; 153:333-9.

Hong SD, Hong SP, Lee JI, Lim CY. Expression of matrix metalloproteinase-2 and -9 in oral squamous cell carcinomas with regard to the metastatic potential. **Oral Oncol** 2000; 36:207-13.

Hong SF, Lai YS, Lee KW, Chen MK. Efficiency of three-dimensional Doppler ultrasonography in assessing nodal metastasis of head and neck cancer. **Eur Arch Otorhinolaryngol** 2015 ; 272:2985-91.

Horn LC, Hentschel B, Fischer U, Peter D, Bilek K. Detection of micrometastases in pelvic lymph nodes in patients with carcinoma of the cervix uteri using step sectioning: Frequency, topographic distribution and prognostic impact. **Gynecol Oncol** 2008; 111:276-81.

Huang SH, O'Sullivan B. Overview of the 8th Edition TNM Classification for Head and Neck Cancer. **Curr Treat Options Oncol** 2017; 18:40.

Ikebe T, Shinohara M, Takeuchi H, et al. Gelatinolytic activity of matrix metalloproteinase in tumor tissues correlates with the invasiveness of oral cancer. **Clin Exp Metastasis** 1999; 17:315-23.

Jardim JF, Francisco AL, Gondak R, Damascena A, Kowalski LP. Prognostic impact of perineural invasion and lymphovascular invasion in advanced stage oral squamous cell carcinoma. **Int J Oral Maxillofac Surg** 2015; 44:23-8.

Jeanes A, Gottardi CJ, Yap AS. Cadherins and cancer: how does cadherin dysfunction promote tumor progression? **Oncogene** 2008; 27:6920-9.

Jerjes W, Upile T, Petrie A, et al. Clinicopathological parameters, recurrence, locoregional and distant metastasis in 115 T1-T2 oral squamous cell carcinoma patients. **Head Neck Oncol** 2010; 2:9.

John DG, Anaes FC, Williams SR, et al. Palpation compared with ultrasound in the assessment of malignant cervical lymph nodes. **J Laryngol Otol** 1993; 107:821-3.

Johnson JT, Barnes EL, Myers EN, Schramm VL Jr, Borochovit D, Sigler BA. The extracapsular spread of tumors in cervical node metastasis. **Arch Otolaryngol** 1981; 107:725-9.

Johnson JT, Myers EN, Bedetti CD, Barnes EL, Schramm VL Jr, Thearle PB. Cervical lymph node metastases. Incidence and implications of extracapsular carcinoma. **Arch Otolaryngol** 1985; 111:534-7.

Johnson N, Franceschi S, Ferlay J, et al. Squamous cell carcinoma. In: Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D, editors. **Pathology and genetics of head and neck tumours**. Lyon: IARC Press; 2005. p.168-75. (World Health Organization Classification of Tumours)

Jones HB, Sykes A, Bayman N, et al. The impact of lymphovascular invasion on survival in oral carcinoma. **Oral Oncol** 2009; 45:10-5.

Jordan RC, Macabeo-Ong M, Shiboski CH, et al. Overexpression of matrix metalloproteinase-1 and -9 mRNA is associated with progression of oral dysplasia to cancer. **Clin Cancer Res** 2004; 10:6460-5.

Katayama A, Bando N, Kishibe K, et al. Expressions of matrix metalloproteinases in early-stage oral squamous cell carcinoma as predictive indicators for tumor metastases and prognosis. **Clin Cancer Res** 2004; 10:634-40.

Katayama I, Sasaki M, Kimura Y, et al. Comparison between ultrasonography and MR imaging for discriminating squamous cell carcinoma nodes with extranodal spread in the neck. **Eur J Radiol** 2012; 81:3326-31.

Kaur G, Carnelio S, Rao N, Rao L. Expression of E-cadherin in primary oral squamous cell carcinoma and metastatic lymph nodes: an immunohistochemical study. **Indian J Dent Res** 2009; 20:71-6.

Kim SK, Park SG, Kim KW. Expression of vascular endothelial growth factor in oral squamous cell carcinoma. **J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg** 2015; 41:11-8.

Kingsley K, Bergman C, Keiserman M, Mobley C. Oral cancer risk and vitamin D status, intake and supplementation: a review. **OA Cancer** 2013; 1:6.

Koike H, Ichikawa D, Kitamura K, Tsuchihashi Y, Yamagishi H. Perinodal involvement of cancer cells in gastric cancer patients. **Surgery** 2004; 135:266-72.

Koontongkaew S. The tumor microenvironment contribution to development, growth, invasion and metastasis of head and neck squamous cell carcinomas. **J Cancer** 2013; 4:66-83.

Kowalski LP, Sanabria A. Elective neck dissection in oral carcinoma: a critical review of the evidence. **Acta Otorhinolaryngol Ital** 2007; 27:113-7.

Kurahara S, Shinohara M, Ikebe T, et al. Expression of MMPS, MT-MMP, and TIMPs in squamous cell carcinoma of the oral cavity: correlations with tumor invasion and metastasis. **Head Neck** 1999; 21:627-38.

Kurtz KA, Hoffman HT, Zimmerman MB, Robinson RA. Perineural and Vascular invasion in oral cavity squamous carcinoma: increased incidence on re-review of slides and by using immunohistochemical enhancement. **Arch Pathol Lab Med** 2005; 129:354-9.

Kurtz KA, Hoffman HT, Zimmerman MB, Robinson RA. Decreased E-cadherin but not beta-catenin expression is associated with vascular invasion and decreased survival in head and neck squamous carcinomas. **Otolaryngol Head Neck Surg** 2006; 134:142-6.

Kyzas PA, Cunha IW, Ioannidis JP. Prognostic significance of vascular endothelial growth factor immunohistochemical expression in head and neck squamous cell carcinoma: a meta-analysis. **Clin Cancer Res** 2005; 11:1434-40.

Lagarde SM, ten Kate FJ, de Boer DJ, Busch OR, Obertop H, van Lanschot JJ. Extracapsular lymph node involvement in node-positive patients with adenocarcinoma of the distal esophagus or gastroesophageal junction. **Am J Surg Pathol** 2006; 30:171-6.

Lai YS, Kuo CY, Chen MK, Chen HC. Three-dimensional Doppler ultrasonography in assessing nodal metastases and staging head and neck cancer. **Laryngoscope** 2013; 123:3037-42.

Lehtinen L, Ketola K, Mäkelä R, et al. High-throughput RNAi screening for novel modulators of vimentin expression identifies MTHFD2 as a regulator of breast cancer cell migration and invasion. **Oncotarget** 2013; 4:48-63.

Leite IC, Koifman S. Survival analysis in a sample of oral cancer patients at a reference hospital in Rio de Janeiro, Brazil. **Oral Oncol** 1998; 34:347-52.

Lengyel E. Ovarian cancer development and metastasis. **Am J Pathol** 2010; 177:1053-64.

Leong T, Everitt C, Yuen K, et al. A prospective study to evaluate the impact of FDG-PET on CT-based radiotherapy treatment planning for oesophageal cancer. **Radiother Oncol** 2006; 78:254-61.

Lewis JS Jr, Carpenter DH, Thorstad WL, Zhang Q, Haughey BH. Extracapsular extension is a poor predictor of disease recurrence in surgically treated oropharyngeal squamous cell carcinoma. **Mod Pathol** 2011; 24:1413-20.

Li HC, Cao DC, Liu Y, et al. Prognostic value of matrix metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9) in patients with lymph node-negative breast carcinoma. **Breast Cancer Res Treat** 2004; 88:75-85.

Liao LJ, Lo WC, Hsu WL, Wang CT, Lai MS. Detection of cervical lymph node metastasis in head and neck cancer patients with clinically N0 neck-a meta-analysis comparing different imaging modalities. **BMC Cancer** 2012; 12:236.

Lim SC, Zhang S, Ishii G, et al. Predictive markers for late cervical metastasis in stage I and II invasive squamous cell carcinoma of the oral tongue. **Clin Cancer Res** 2004;10:166-72.

Lioni M, Brafford P, Andl C, et al. Dysregulation of claudin-7 leads to loss of E-cadherin expression and the increased invasion of esophageal squamous cell carcinoma cells. **Am J Pathol** 2007;170:709-21.

Liu S, Liu L, Ye W, et al. High vimentin expression associated with lymph node metastasis and predicted a poor prognosis in oral squamous cell carcinoma. **Sci Rep** 2016; 6:38834.

Lo WL, Kao SY, Chi LY, Wong YK, Chang RC. Outcomes of oral squamous cell carcinoma in Taiwan after surgical therapy: factors affecting survival. **J OralMaxillofac Surg** 2003; 61:751-8.

Lopes VKM, Jesus AS, Souza LL, et al. Ki-67 protein predicts survival in oral squamous carcinoma cells: an immunohistochemical study. **Braz Oral Res** 2017; 31:e66.

Lourenço SV, Coutinho-Camillo CM, Buim ME, et al. Oral squamous cell carcinoma: status of tight junction claudins in the different histopathological patterns and relationship with clinical parameters. A tissue-microarray-based study of 136 cases. **J Clin Pathol** 2010a; 63:609-14.

Lourenço SV, Coutinho-Camillo CM, Buim ME, et al. Claudin-7 down-regulation is an important feature in oral squamous cell carcinoma. **Histopathology** 2010b; 57:689-98.

Marur S, Forastiere AA. Head and neck squamous cell carcinoma: update on epidemiology, diagnosis, and treatment. **Mayo Clin Proc** 2016; 91:386-96.

Massano J, Regateiro FS, Januário G, Ferreira A. Oral squamous cell carcinoma: review of prognostic and predictive factors. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod** 2006; 102:67-76.

Matsumoto F, Mori T, Matsumura S, et al. Prognostic significance of surgical extranodal extension in head and neck squamous cell carcinoma patients. **Jpn J Clin Oncol** 2017; 47:699-704.

Melchers LJ, Bruine de Bruin L, Schnell U, et al. Lack of claudin-7 is a strong predictor of regional recurrence in oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. **Oral Oncol** 2013; 49:998-1005.

Melo AUC, Rosa MRD, Xavier FCA, Ribeiro CF, Ramalho LMP, Santos TS. Revisão atual da expressão da beta-catenina e suas implicações no estudo da displasia epitelial bucal. **Rev Bras Cancerol** 2010; 56:381-90.

Menda Y, Graham MM. Update on 18F-fluorodeoxyglucose/positron emission tomography and positron emission tomography/computed tomography imaging of squamous head and neck cancers. **Semin Nucl Med** 2005; 35:214-9.

Metzger R, Drebber U, Baldus SE, Mönig SP, Hölscher AH, Bollschweiler E. Extracapsular lymph node involvement differs between squamous cell and adenocarcinoma of the esophagus. **Ann Surg Oncol** 2009; 16:447-53.

Michikawa C, Izumo T, Sumino J, et al. Small size of metastatic lymph nodes with extracapsular spread greatly impacts treatment outcomes in oral squamous cell carcinoma patients. **Int J OralMaxillofac Surg** 2018; S0901-5027:31724-1.

Mineta H, Miura K, Ogino T, et al. Prognostic value of vascular endothelial growth factor (VEGF) in head and neck squamous cell carcinomas. **Br J Cancer** 2000; 83:775-81.

Mineta H, Miura K, Ogino T, Takebayashi S, Misawa K, Ueda Y. Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression correlates with p53 and ki-67 expressions in tongue squamous cell carcinoma. **Anticancer Res** 2002; 22:1039-44.

Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer. Conduas do Inca/MS. Head and neck epidermoide carcinoma. **Rev Bras Cancerol** 2001; 47:361-76.

Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Estimativa 2018: incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA; 2017.

Miyashita H, Takebayashi Y, Eliason JF, et al. Uridine phosphorylase is a potential prognostic factor in patients with oral squamous cell carcinoma. **Cancer** 2002; 94:2959-66.

Monteiro LS, Diniz-Freitas M, Garcia-Caballero T, Forteza J, Fraga M. EGFR and Ki-67 expression in oral squamous cell carcinoma using tissue microarray technology. **J Oral Pathol Med** 2010; 39:571-8.

Monteiro LS, Delgado ML, Ricardo S, et al. EMMPRIN expression in oral squamous cell carcinomas: correlation with tumor proliferation and patient survival. **Biomed Res Int** 2014; 2014:905680.

Monteiro LS, Delgado ML, Ricardo S, et al. Prognostic significance of CD44v6, p63, podoplanin and MMP-9 in oral squamous cell carcinomas. **Oral Dis** 2016; 22:303-12.

Monteiro-Amado F, Castro-Silva II, Lima CJ, Soares FA, Kowalski LP, Granjeiro JM. Immunohistochemical evaluation of MMP-2, MMP-9 and CD31/microvascular density in squamous cell carcinomas of the floor of the mouth. **Braz Dent J** 2013;24:3-9.

Moon WS, Rhyu KH, Kang MJ, et al. Overexpression of VEGF and angiopoietin 2: a key to high vascularity of hepatocellular carcinoma? **Mod Pathol** 2003; 16:552-7.

Motta Rda R, Zettler CG, Cambruzzi E, Jotz GP, Berni RB. Ki-67 and p53 correlation prognostic value in squamous cell carcinomas of the oral cavity and tongue. **Braz J Otorhinolaryngol** 2009; 75:544-9.

Mukherjee S, Roth MJ, Dawsey SM, et al. Increased matrix metalloproteinase activation in esophageal squamous cell carcinoma. **J Transl Med** 2010; 8:91.

Muñoz-Guerra MF, Naval Gías L, Campo FR, Pérez JS. Marginal and segmental mandibulectomy in patients with oral cancer: a statistical analysis of 106 cases. **J Oral Maxillofac Surg** 2003; 61:1289-96.

Muñoz-Guerra MF, Marazuela EG, Fernández-Contreras ME, Gamallo C. P-cadherin expression reduced in squamous cell carcinoma of the oral cavity: an indicator of poor prognosis. **Cancer** 2005; 103:960-9.

Murakami A, Nakagawa T, Fukushima C, et al. Relationship between decreased expression of squamous cell carcinoma antigen 2 and E-cadherin in primary cervical cancer lesions and lymphnode metastasis. **Oncol Rep** 2008; 19:99-104.

Murakami R, Uozumi H, Hirai T, et al. Impact of FDG-PET/CT imaging on nodal staging for head-and-neck squamous cell carcinoma. **Int J Radiat Oncol Biol Phys** 2007; 68:377-82.

Myal Y, Leygue E, Blanchard AA. Claudin 1 in breast tumorigenesis: revelation of a possible novel "claudin high" subset of breast cancers. **J Biomed Biotechnol** 2010; 2010:956897.

Myers JN, Greenberg JS, Mo V, Roberts D. Extracapsular spread. A significant predictor of treatment failure in patients with squamous cell carcinoma of the tongue. **Cancer** 2001; 92:3030-6.

Myoung H, Kim MJ, Lee JH, Ok YJ, Paeng JY, Yun PY. Correlation of proliferative markers (Ki-67 and PCNA) with survival and lymph node metastasis in oral squamous cell carcinoma: a clinical and histopathological analysis of 113 patients. **Int J Oral Maxillofac Surg** 2006; 35:1005-10.

Nakamura K, Okamoto Y, Matsui H, Makuuchi H, Ogoshi K. Impact of difference in the definition of extranodal spread on the outcome of node-positive patients with gastric cancer. **Langenbecks Arch Surg** 2010; 395:211-6.

Natsugoe S, Mueller J, Kijima F, et al. Extranodal connective tissue invasion and the expression of desmosomal glycoprotein 1 in squamous cell carcinoma of the oesophagus. **Br J Cancer** 1997; 75:892-7.

Ng SH, Yen TC, Liao CT, et al. 18F-FDG PET and CT/MRI in oral cavity squamous cell carcinoma: a prospective study of 124 patients with histologic correlation. **J Nucl Med** 2005; 46:1136-43.

Nguyen TV, Yueh B. Weight loss predicts mortality after recurrent oral cavity and oropharyngeal carcinomas. **Cancer** 2002; 95:553-62.

Nishida N, Yano H, Nishida T, Kamura T, Kojiro M. Angiogenesis in cancer. **Vasc Health Risk Manag** 2006; 2:213-9.

Noguti J, De Moura CF, De Jesus GP, et al. Metastasis from oral cancer: an overview. **Cancer Genomics Proteomics**2012; 9:329-35.

O-Charoenrat P, Pillai G, Patel S, et al. Tumour thickness predicts cervical nodal metastases and survival in early oral tongue cancer. **Oral Oncol** 2003; 39:386-90.

Offersen BV, Borre M, Overgaard J. Quantification of angiogenesis as a prognostic marker in human carcinomas: a critical evaluation of histopathological methods for estimation of vascular density. **Eur J Cancer** 2003; 39:881-90.

Oguić R, Mozetič V, Cini Tešar E, Fučkar Čupić D, Mustać E, Dorđević G. Matrix metalloproteinases 2 and 9 immunoexpression in prostate carcinoma at the positive margin of radical prostatectomy specimens. **Patholog Res Int**2014; 2014:262195.

Oliveira LR, Ribeiro-Silva A, Zucoloto S. Perfil da incidência e da sobrevida de pacientes com carcinoma epidermóide oral em uma população brasileira. **J Bras Patol Med Lab** 2006; 42:385-92.

Ozden F, Saygin C, Uzunaslán D, Onal B, Durak H, Aki H. Expression of MMP-1, MMP-9 and TIMP-2 in prostate carcinoma and their influence on prognosis and survival. **J Cancer Res Clin Oncol** 2013; 139:1373-82.

Palamba HW, Rombouts MC, Ruers TJ, Klinkenbijn JH, Wobbes T. Extranodal extension of axillary metastasis of invasive breast carcinoma as a possible predictor for the total number of positive lymph nodes. **Eur J Surg Oncol** 2001; 27:719-22.

Patel BP, Shah PM, Rawal UM, et al. Activation of MMP-2 and MMP-9 in patients with oral squamous cell carcinoma. **J Surg Oncol** 2005; 90:81-8.

Patel BP, Shah SV, Shukla SN, Shah PM, Patel PS. Clinical significance of MMP-2 and MMP-9 in patients with oral cancer. **Head Neck** 2007;29:564-72.

Pereira AL, Veras SS, Silveira EJ, et al. The role of matrix extracellular proteins and metalloproteinases in head and neck carcinomas: an updated review. **Braz J Otorhinolaryngol** 2005; 71:81-6.

Piccirillo JF, Vlahiotis A. Comorbidity in patients with cancer of the head and neck: prevalence and impact on treatment and prognosis. **Curr Oncol Rep** 2006; 8:123-9.

Piccirillo JF, Costas I, Reichman ME. Cancers of the Head and Neck. In: Ries LAG, Young JL, Keel GE, Eisner MP, Lin YD, Horner M-J, editors. **SEER survival monograph: cancer survival among adults**. Bethesda: NIH Pub; 2007. p.7-12.

Pich A, Chiusa L, Navone R. Prognostic relevance of cell proliferation in head and neck tumors. **Ann Oncol** 2004; 15:1319-29.

Pires FR, Ramos AB, Oliveira JB, Tavares AS, Luz PS, Santos TC. Oral squamous cell carcinoma: clinicopathological features from 346 cases from a single oral pathology service during an 8-year period. **J Appl Oral Sci** 2013; 21:460-7.

Priante AV, Carvalho AL, Kowalski LP. Second primary tumor in patients with upper aerodigestive tract cancer. **Braz J Otorhinolaryngol** 2010; 76:251-6.

Protzel C, Spiess PE. Molecular research in penile cancer-lessons learned from the past and bright horizons of the future? **Int J Mol Sci** 2013; 14:19494-505.

Pugazhendi SK, Thambiah L, Venkatasetty A, Thangaswamy V. Elective neck dissection versus "wait and watch" policy in tongue carcinoma. **J Pharm Bioallied Sci** 2012; 4:S226-9.

Puri SK, Fan CY, Hanna E. Significance of extracapsular lymph node metastases in patients with head and neck squamous cell carcinoma. **Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg** 2003; 11:119-23.

Pyo SW, Hashimoto M, Kim YS, et al. Expression of E-cadherin, P-cadherin and N-cadherin in oral squamous cell carcinoma: correlation with the clinicopathologic features and patient outcome. **J Craniomaxillofac Surg** 2007; 35:1-9.

Rahima B, Shingaki S, Nagata M, Saito C. Prognostic significance of perineural invasion in oral and oropharyngeal carcinoma. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod** 2004; 97:423-31.

Ribeiro KC, Kowalski LP, Latorre MR. Impact of comorbidity, symptoms, and patients' characteristics on the prognosis of oral carcinomas. **Arch Otolaryngol Head Neck Surg** 2000; 126:1079-85.

Ridge JA, Glisson BS, Lango MN, et al. Head and neck tumors. In: Pazdur R, Wagman LD, Camphausen KA, Hoskins WJ, editors. **Cancer management: a multidisciplinary approach**. 11<sup>a</sup> ed. Connecticut: UBM Medica; 2008. p.37-55.

Rinaldo A, Devaney KO, Ferlito A. Immunohistochemical studies in the identification of lymph node micrometastases in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck. **ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec**. 2004; 66:38-41.

Rodolico V, Barresi E, Di Lorenzo R, et al. Lymph node metastasis in lower lip squamous cell carcinoma in relation to tumour size, histologic variables and p27Kip1 protein expression. **Oral Oncol** 2004; 40:92-8.

Roy R, Yang J, Moses MA. Matrix metalloproteinases as novel biomarkers and potential therapeutic targets in human cancer. **J Clin Oncol** 2009; 27:5287-97.

Said AH, Raufman JP, Xie G. The role of matrix metalloproteinases in colorectal cancer. **Cancers** (Basel) 2014; 6:366-75.

Satelli A, Li S. Vimentin in cancer and its potential as a molecular target for cancer therapy. **Cell Mol Life Sci** 2011; 68:3033-46. .

Shaw RJ, Lowe D, Woolgar JA, et al. Extracapsular spread in oral squamous cell carcinoma. **Head Neck** 2010; 32:714-22.

Shingaki S, Takada M, Sasai K, et al. Impact of lymph node metastasis on the pattern of failure and survival in oral carcinomas. **Am J Surg** 2003; 185:278-84.

Shintani S, Li C, Ishikawa T, Mihara M, Nakashiro K, Hamakawa H. Expression of vascular endothelial growth factor A, B, C, and D in oral squamous cell carcinoma. **Oral Oncol** 2004; 40:13-20.

Shou Y, Hirano T, Gong Y, et al. Influence of angiogenetic factors and matrix metalloproteinases upon tumour progression in non-small-cell lung cancer. **Br J Cancer** 2001; 85:1706-12.

Sigg MB, Steinert H, Grätz K, Hugenin P, Stoeckli S, Eyrich GK. Staging of head and neck tumors: [18F] fluorodeoxyglucose positron emission tomography compared with physical examination and conventional imaging modalities. **J OralMaxillofac Surg** 2003; 61:1022-9.

Silva SD, Agostini M, Nishimoto IN, et al. Expression of fatty acid synthase, ErbB2 and Ki-67 in head and neck squamous cell carcinoma: a clinicopathological study. **Oral Oncol** 2004; 40:688-96.

Silva SD, Perez DE, Alves FA, et al. ErbB2 and fatty acid synthase (FAS) expression in 102 squamous cell carcinomas of the tongue: correlation with clinical outcomes. **Oral Oncol** 2008; 44:484-90.

Slootweg PJ, Eveson JW. Tumours of the oral cavity and oropharynx: introduction. In: Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D, editors. **Pathology and genetics of head and neck tumours**. Lyon: IARC Press; 2005. p.166-7. (World Health Organization Classification of Tumours)

Smith BD, Smith GL, Carter D, Sasaki CT, Haffty BG. Prognostic significance of vascular endothelial growth factor protein levels in oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. **J Clin Oncol** 2000; 18:2046-52.

Snow GB, Annyas AA, van Slooten EA, Bartelink H, Hart AA. Prognostic factors of neck node metastasis. **Clin Otolaryngol Allied Sci** 1982; 7:185-92.

Snyderman NL, Johnson JT, Schramm VL Jr, Myers EN, Bedetti CD, Thearle P. Extracapsular spread of carcinoma in cervical lymph nodes. Impact upon survival in patients with carcinoma of the supraglottic larynx. **Cancer** 1985 Oct; 56:1597-9.

Sparano A, Weinstein G, Chalian A, Yodul M, Weber R. Multivariate predictors of occult neck metastasis in early oral tongue cancer. **Otolaryngol Head Neck Surg** 2004; 131:472-6.

Spiess PE, Horenblas S, Pagliaro LC, et al. Current concepts in penile cancer. **J Natl Compr Canc Netw** 2013; 11:617-24.

Stoeckli SJ, Steinert H, Pfaltz M, Schmid S. Is there a role for positron emission tomography with 18F-fluorodeoxyglucose in the initial staging of nodal negative oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. **Head Neck** 2002; 24:345-9.

Su Z, Duan Z, Pan W, et al. Predicting extracapsular spread of head and neck cancers using different imaging techniques: a systematic review and meta-analysis. **Int J Oral Maxillofac Surg** 2016; 45:413-21.

Sudhakara M, Reshma V, Khan N, Amulya SR. Uncommon features in conventional oral squamous cell carcinoma. **J Oral Maxillofac Pathol** 2016; 20:316-9.

Suoglu Y, Erdamar B, Katircioglu OS, Karatay MC, Sunay T. Extracapsular spread in ipsilateral neck and contralateral neck metastases in laryngeal cancer. **Ann Otol Rhinol Laryngol** 2002; 111:447-54.

Takes RP. Staging of the neck in patients with head and neck squamous cell cancer: imaging techniques and biomarkers. **Oral Oncol** 2004; 40:656-67.

Takes RP, Righi P, Meeuwis CA, et al. The value of ultrasound with ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy compared to computed tomography in the detection of regional metastases in the clinically negative neck. **Int J Radiat Oncol Biol Phys** 1998; 40:1027-32.

Tanaka N, Odajima T, Ogi K, Ikeda T, Satoh M. Expression of E-cadherin, alpha-catenin, and beta-catenin in the process of lymph node metastasis in oral squamous cell carcinoma. **Br J Cancer** 2003; 89:557-63.

Tanaka T, Kumagai K, Shimizu K, Masuo K, Yamagata K. Peritoneal metastasis in gastric cancer with particular reference to lymphatic advancement; extranodal invasion is a significant risk factor for peritoneal metastasis. **J Surg Oncol**. 2000; 75:165-71.

Tiwari R. Squamous cell carcinoma of the superior gingivolabial sulcus. **Oral Oncol** 2000; 36:461-5.

Tsukita S, Furuse M. Occludin and claudins in tight-junction strands:leading or supporting players? **Trends Cell Biol** 1999; 9:268-73.

Ueda G, Sunakawa H, Nakamori K, et al. Aberrant expression of beta- and gamma-catenin is an independent prognostic marker in oral squamous cell carcinoma. **Int J Oral Maxillofac Surg** 2006; 35:356-61.

Uehara M, Sano K, Ikeda H, et al. Expression of vascular endothelial growth factor and prognosis of oral squamous cell carcinoma. **Oral Oncol** 2004; 40:321-5.

Usami Y, Chiba H, Nakayama F, et al. Reduced expression of claudin-7 correlates with invasion and metastasis in squamous cell carcinoma of the esophagus. **Hum Pathol** 2006; 37:569-77.

Vasconcelos LDL, Moreira NVR, Silva LP, Sobral APV. Expressão da metaloproteinase 9 no carcinoma de células escamosas oral. **Rev Cir Traumatol Buco-maxilo-fac** 2013; 13:89-94.

Vaidya AM, Petruzzelli GJ, Clark J, Emami B. Patterns of spread in recurrent head and neck squamous cell carcinoma. **Otolaryngol Head Neck Surg** 2001; 125:393-6.

van den Brekel MW, Stel HV, Castelijns JA, et al. Cervical lymph node metastasis: assessment of radiologic criteria. **Radiology** 1990; 177:379-84.

van der Velden J, van Lindert AC, Lammes FB, et al. Extracapsular growth of lymph node metastases in squamous cell carcinoma of the vulva. The impact on recurrence and survival. **Cancer** 1995; 75:2885-90.

Varsha BK, Radhika MB, Makarla S, Kuriakose MA, Satya Kiran GVV, Padmalatha GV. Perineural invasion in oral squamous cell carcinoma: Case series and review of literature. **J Oral Maxillofac Pathol** 2015; 19:335-14

Wallis SP, Stafford ND, Greenman J. Clinical relevance of immune parameters in the tumor microenvironment of head and neck cancers. **Head Neck** 2015; 37:449-59.

Wang X, Chen X, Fang J, Yang C. Overexpression of both VEGF-A and VEGF-C in gastric cancer correlates with prognosis, and silencing of both is effective to inhibit cancer growth. **Int J Clin Exp Pathol** 2013; 6:586-97.

Weijers M, Snow GB, Bezemer DP, van der Wal JE, van der Waal I. The status of the deep surgical margins in tongue and floor of mouth squamous cell carcinoma and risk of local recurrence; an analysis of 68 patients. **Int J Oral Maxillofac Surg** 2004; 33:146-9.

Wenzel S, Sagowski C, Kehrl W, Aksima T, Metternich FU. [Capsular rupture of lymph node metastases as most significant prognostic factor in head and neck squamous cell carcinomas--Hamburg experiences]. **Laryngorhinootologie** 2003; 82:707-12.

Wenzel S, Kehrl W, Bräsen J.-H., Niendorf A. [A New Histological Scheme for the Evaluation of Cervical Lymph Node Metastases in Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck]. **Laryngorhinootologie** 1998; 77:657-62.

Wenzel S, Sagowski C, Kehrl W, Metternich FU. The prognostic impact of metastatic pattern of lymph nodes in patients with oral and oropharyngeal squamous cell carcinomas. **Eur Arch Otorhinolaryngol** 2004a; 261:270-5.

Wenzel S, Koch U. [Squamous cell carcinomas of the upper aerodigestive tract. Prognostic significance of the capsular rupture and extracapsular spread of lymph node metastases]. **HNO** 2004b; 52:783-9.

Wild D, Eyrich GK, Ciernik IF, Stoeckli SJ, Schuknecht B, Goerres GW. In-line (18)F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography with computed tomography (PET/CT) in patients with carcinoma of the sinus/nasal area and orbit. **J Craniomaxillofac Surg** 2006; 34:9-16.

Wind J, Lagarde SM, Ten Kate FJ, Ubbink DT, Bemelman WA, van Lanschot JJ. A systematic review on the significance of extracapsular lymph node involvement in gastrointestinal malignancies. **Eur J Surg Oncol** 2007; 33:401-8.

Wind J, ten Kate FJ, Kiewiet JJ, et al. The prognostic significance of extracapsular lymph node involvement in node positive patients with colonic cancer. **Eur J Surg Oncol** 2008; 34:390-6

Woolgar JA, Scott J, Vaughan ED, Brown JS, West CR, Rogers S. Survival, metastasis and recurrence of oral cancer in relation to pathological features. **Ann R Coll Surg Engl** 1995; 77: 325-31.

Woolgar JA, Rogers SN, Lowe D, Brown JS, Vaughan ED. Cervical lymph node metastasis in oral cancer: the importance of even microscopic extracapsular spread. **Oral Oncol** 2003; 39:130-7.

Woolgar JA, Triantafyllou A. A histopathological appraisal of surgical margins in oral and oropharyngeal cancer resection specimens. **Oral Oncol** 2005; 41:1034-43.

Woolgar JA, Triantafyllou A. Neck dissections: a practical guide for the reporting histopathologist. **Curr Diagn Pathol** 2007; 13:499-511.

Woolgar JA, Triantafyllou A. Lymph node metastases in head and neck malignancies: assessment in practice and prognostic importance. **Diagnostic Histopathol** 2010; 16:265-75.

Xie X, De Angelis P, Clausen OP, Boysen M. Prognostic significance of proliferative and apoptotic markers in oral tongue squamous cell carcinomas. **Oral Oncol** 1999; 35:502-9.

Xie S, Liu Y, Qiao X, et al. What is the prognostic significance of Ki-67 positivity in oral squamous cell carcinoma?. **J Cancer** 2016; 7:758-67.

Yadav ST, Madhu Shankari GS, Chatura K, Dhanuja RJ, Rashmi M. Immunomorphological assessment of regional lymph nodes for predicting metastases in oral squamous cell carcinoma. **Indian J Dent Res** 2012; 23:121-2.

Yamamoto E, Kohama G, Sunakawa H, Iwai M, Hiratsuka H. Mode of invasion, bleomycin sensitivity, and clinical course in squamous cell carcinoma of the oral cavity. **Cancer** 1983; 51:2175-80.

Yamamoto E, Miyakawa A, Kohama G. Mode of invasion and lymph node metastasis in squamous cell carcinoma of the oral cavity. **Head Neck Surg** 1984; 6:938-47.

Zeng ZS, Cohen AM, Guillem JG. Loss of basement membrane type IV collagen is associated with increased expression of metalloproteinases 2 and 9 (MMP-2 and MMP-9) during human colorectal tumorigenesis. **Carcinogenesis** 1999; 20:749-55.

Zhang L, Xi RX, Zhang XZ. Matrix metalloproteinase variants associated with risk and clinical outcome of esophageal cancer. **Genet Mol Res** 2015; 14:4616-24.

Zhao SF, Yang XD, Lu MX, et al. Prognostic significance of VEGF immunohistochemical expression in oral cancer: a meta-analysis of the literature. **Tumour Biol** 2013; 34:3165-71.

Zheng WY, Zhang DT, Yang SY, Li H. Elevated Matrix Metalloproteinase-9 Expression Correlates With Advanced Stages of Oral Cancer and Is Linked to Poor Clinical Outcomes. **J Oral Maxillofac Surg** 2015; 73:2334-42.

Zhong LP, Li J, Zhang CP, Zhu HG, Sun J, Zhang ZY. Expression of E-cadherin in cervical lymph nodes from primary oral squamous cell carcinoma patients. **Arch Oral Biol** 2007; 52:740-7.

Zhou J, Tao D, Xu Q, Gao Z, Tang D. Expression of E-cadherin and vimentin in oral squamous cell carcinoma. **Int J Clin Exp Pathol** 2015; 8:3150-4.

Zhou X, Temam S, Oh M, Pungpravat N, Huang BL, Mao L, Wong DT. Global expression-based classification of lymph node metastasis and extracapsular spread of oral tongue squamous cell carcinoma. **Neoplasia** 2006; 8:925-32.

Zoller M, Goodman ML, Cummings CW. Guidelines for prognosis in head and neck cancer with nodal metastasis. **Laryngoscope** 1978; 88:135-40.

Zucker S, Vacirca J. Role of matrix metalloproteinases (MMPs) in colorectal cancer. **Cancer Metastasis Rev** 2004; 23:101-17.

## Anexo 1 - Carta de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa-CEP



Comitê de Ética em  
Pesquisa - CEP

São Paulo, 02 de Janeiro de 2013.

Ao  
Prof. Dr. Luiz Paulo Kowalski

Aluna: Ivete Fabelo Pereira da Silva Rodrigues (Doutorado).

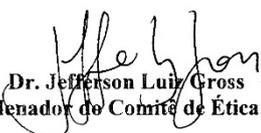
Ref.: Projeto de Pesquisa nº. 1704/12  
"Fatores preditivos de ruptura capsular de metástases cervicais em carcinoma epidermóide de boca e sua importância prognóstica".

Os membros do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Fundação Antonio Prudente – Hospital do Câncer - A.C. Camargo/SP, em sua última reunião de 11/12/2012, após analisarem as respostas aos questionamentos realizados em reunião de 25/09/2012, **aprovaram** a realização do projeto do estudo em referência (datado de novembro de 2012) e tomaram conhecimento dos seguintes documentos:

- Folha de Rosto para Pesquisa Envolvendo Seres Humanos;
- Termo de Compromisso do Pesquisador com as Resoluções do Conselho Nacional de Saúde;
- Termo de Dispensa do Consentimento Livre e Esclarecido;
- Declaração sobre os Dados Coletados, Publicação dos Dados e Propriedade das Informações Geradas;
- Declaração Sobre o Uso e Destino do Material Biológico, Publicação dos Dados e Propriedade das Informações Geradas;
- Orçamento Financeiro Detalhado;
- Cronograma do Projeto;
- Declaração de Infraestrutura e Instalações do Departamento de Cirurgia de Cabeça e Pescoço e Otorrinolaringologia;
- Declaração de Ciência e Comprometimento do Departamento de Anatomia Patológica do Hospital AC Camargo;
- Declaração de Ciência e Comprometimento do Departamento de Cirurgia de Cabeça e Pescoço e Otorrinolaringologia do Hospital AC Camargo.

**Informações a respeito do andamento do referido projeto deverão ser encaminhadas à assistente do CEP dentro de 06 meses.**

Atenciosamente,

  
Dr. Jefferson Luiz Gross  
1º Vice-Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa

1/1

## Apêndice 1 - Ficha de Registro de Dados

Nome: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_RGH: \_\_\_\_\_

### Dados sociodemográficos

Genero: (1) M (2) F ( )

Data de Nascimento \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Idade.....( )

Etnia: (1) Caucasiana (2) Não Caucasiana ( )

Tabagismo: Não (0) Sim (1) ( )

Consumo de álcool: (0) Não (1) Sim ( )

### Dados clinicopatológicos

Topografia da lesão primária: (1) Língua oral (2) Soalho bucal ( )

Estadiamento:

Clínico:(1) EC I (2) EC II (3) EC III (4) EC IV ( )

Tumor clínico: (1)T1 (2) T2 (3) T3 (4) T4 ( )

Linfonodo patológico:(0) N0 (1) N1 (2) N2a (3) N2b (4) N2c (5) N3 ( )

Metástase: (1) M0 (2)M1 (3) Mx ( )

Tumor patológico: (1)pT1 (2) pT2 (3) pT3 (4) pT4 ( )

Linfonodo patológico: (0) pN0 (1) pN1 (2) pN2a (3) pN2b (4) pN2c ( )

Tratamento: (1) Cirurgia (2) RT adjuvante (3) RT e QT Adjuvantes ( )

Recidiva: (0) Não (1) Sim ( )

Situação no último evento: (1) Vivo, SOE (2) Vivo com câncer ( )

(3) Óbito, SOE (4) Óbito, por câncer (5) Perda de seguimento

### Dados anatomopatológicos

Tamanho tumoral \_\_\_\_\_ cm (1) Até 4.0cm (2) > 4.0cm | ( )

Espessura tumoral \_\_\_\_\_ mm (1) < 4.0mm (2) = ou > 4.0 mm ( )

Grau de dif. histológica (1) I Bem dif (2) II Moderada. Dif (3) III Pouco dif ( )

Margens de ressecção cirúrgica: (1) Livres (2) Comprometidas ( )

Metástase ganglionar: (1) Não (2) Sim ( )

Ruptura capsular: (1) Não (2) Sim ( )

Nº total de linfonodos: \_\_\_\_\_

Tamanho do maior linfonodo: \_\_\_\_\_ mm

Nº linfonodos positivos: \_\_\_\_\_

Razão N (LND)( Nº LNs positivos/Nº total LNs): (1) <6.0 (2) 6.0-12.5 (3) >12.5 ( )

Cadeial LNs positivos: (1) Ipsilateral (2) Bilateral (3) Contralateral ( )  
Invasão vascular sanguínea: (1) Não (2) Sim ( )  
Invasão vascular linfática: (1) Não (2) Sim ( )  
Infiltração perineural: (1) Não (2) Sim ( )  
Desmoplasia (1) Não (2) Sim ( )  
Inflamação (1) Não (2) Sim ( )  
Necrose: (1) Não (2) Sim ( )  
Padrão de invasão: (1) 1 (2) 2 (3) 3 (4) 4C (5) 4D ( )

Dados imunoistoquímicos

E-caderina (1) Negativa (2) <50% (3) >50% ( )  
 $\beta$  catenina (1) Negativa (2) <50% (3) >50% ( )  
Claudina 7(1) Negativa (2) <50% (3) >50% ( )  
Vimentina(1) Negativa (2) Positiva ( )  
Ki-67 (1) Negativa (2) <50% (3) >50% ( )  
MMP-2 (1) Negativa (2) Positiva ( )  
MMP-9 (1) Negativa (2) Positiva ( )  
VEGF (1) Negativa (2) Positiva focal (3) Positiva difusa ( )

OBS: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_