



**CENTRO UNIVERSITÁRIO CHRISTUS**

**MESTRADO ACADÊMICO EM CIÊNCIAS ODONTOLÓGICAS**

**IANA ARAGÃO MAGALHÃES**

**INFLUÊNCIA DA IMUNOEXPRESSION PARA PROTEÍNAS DO COMPLEXO  
*MISMATCH REPAIR* EM CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-PATOLÓGICAS E NO  
PROGNÓSTICO DO CARCINOMA ADENÓIDE CÍSTICO DAS GLÂNDULAS  
SALIVARES**

**FORTALEZA**

**2023**

IANA ARAGÃO MAGALHÃES

INFLUÊNCIA DA IMUNOEXPRESSÃO PARA PROTEÍNAS DO COMPLEXO *MISMATCH REPAIR* EM CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-PATOLÓGICAS E NO PROGNÓSTICO DO CARCINOMA ADENÓIDE CÍSTICO DAS GLÂNDULAS SALIVARES

Defesa do Curso de Mestrado em Ciências Odontológicas do Centro Universitário Christus, como requisito para obtenção do Grau de Mestre em Ciências Odontológicas.

Área de concentração: Estomatopatologia

Orientador: Prof. Dr. Paulo Goberlânio de Barros Silva

FORTALEZA

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Centro Universitário Christus - Unichristus  
Gerada automaticamente pelo Sistema de Elaboração de Ficha Catalográfica do  
Centro Universitário Christus - Unichristus, com dados fornecidos pelo(a) autor(a)

A659i Aragão Magalhães, Iana.  
INFLUÊNCIA DA IMUNOEXPRESSION PARA PROTEÍNAS  
DO COMPLEXO MISMATCH REPAIR EM CARACTERÍSTICAS  
CLÍNICO-PATOLÓGICAS E NO PROGNÓSTICO DO  
CARCINOMA ADENÓIDE CÍSTICO DAS GLÂNDULAS  
SALIVARES : MUNOEXPRESSION PARA PROTEÍNAS DO  
COMPLEXO MISMATCH REPAIR EM CARACTERÍSTICAS  
CLÍNICO-PATOLÓGICAS E NO PROGNÓSTICO DO  
CARCINOMA ADENÓIDE CÍSTICO DAS GLÂNDULAS  
SALIVARES / Iana Aragão Magalhães. - 2023.  
56 f. : il. color.

Dissertação (Mestrado) - Centro Universitário Christus -  
Unichristus, Mestrado em Ciências Odontológicas, Fortaleza, 2023.  
Orientação: Prof. Dr. Paulo Goberlânio de Barros Silva .  
Área de concentração: Ciências Odontológicas.

1. Carcinoma Adenóide Cístico. 2. Imunohistoquímica. 3.  
Mismatch Repair System . 4. Glândulas Salivares. I. Título.

CDD 617.6

IANA ARAGÃO MAGALHÃES

INFLUÊNCIA DA IMUNOEXPRESSÃO PARA PROTEÍNAS DO COMPLEXO *MISMATCH REPAIR* EM CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-PATOLÓGICAS E NO PROGNÓSTICO DO CARCINOMA ADENÓIDE CÍSTICO DAS GLÂNDULAS SALIVARES

Defesa de mestrado submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas, do Centro Universitário Christus, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre.

Aprovado em: 14/04/2023

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Paulo Goberlânio de Barros Silva (Orientador)

Centro Universitário Christus (UNICHRISTUS)

---

Prof. Dr. Fabrício Bitu Sousa (Membro Interno)

Centro Universitário Christus (UNICHRISTUS)

---

Prof. Dra. Isabelle Joyce de Lima Silva-Fernandes (Membro Externo)

Instituto do Câncer do Ceará / Hospital Haroldo Juaçaba (ICC/HHJ)

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à **Deus**, porque sem Ele nada seria possível.

Aos meus pais, **Sérgio Araújo Magalhães e Ena Virgínia Vieira de Aragão**, que sempre me deram apoio e amor incondicionais, que me ensinaram a ser perseverante e nunca desistir dos meus sonhos, e a acreditar que sou capaz de superar os obstáculos que a vida nos traz. Me apoiaram em todos os momentos de dificuldade, me deram colo e palavras de sabedoria. Sem vocês, eu não estaria aqui hoje. Obrigado por me ensinarem a caminhar e assim poder seguir meus próprios passos.

Ao meu padrasto, **Silvio Siqueira Filho**, que sempre zelou pelo meu bem e me tratou como uma filha, que escutava minhas ideias mirabolantes e me apoiava com um sorriso no rosto. Tenho uma admiração profunda no ser humano incrível que você demonstra ser.

Aos meus avós, **Eurico Pessoa Aragão e Eneida Aragão**, que mostraram para mim que só se chega tão longe, como vocês chegaram, quando sentamos para ouvir aquilo que os mais experientes têm a ensinar.

Ao meu avô, **Roberto Sá Benevides Magalhães**, que, apesar de sua partida quando eu ainda era muito nova, esteve presente comigo nos momentos mais difíceis da minha trajetória, que me consolou e que me fez acreditar que a vida nos surpreende, que eu seria feliz. E a minha avó **Veralúcia Araújo Magalhães**.

Ao meu noivo, **Fernando Macedo**, que esteve comigo desde o início dessa nova fase da minha vida. Vibrou com minha aprovação e me apoiou e incentivou a não desistir nos meus momentos de anseios e dificuldades. Essa é só uma de muitas outras conquistas que iremos compartilhar juntos.

Às minhas mães de coração, **Lorena Aguiar, Noemi Medeiros e Iluska Maria**, sempre me acompanhando desde que nasci, acolhendo minha mãe em momentos de insegurança e nos trazendo momentos de alegria com suas energias maravilhosas.

Agradeço em especial ao meu orientador **Paulo Goberlânio de Barros Silva** que esteve presente não só para me aconselhar profissionalmente, mas também contribuiu para meu

enriquecimento como ser humano. “Paulinho” esteve participando da minha jornada desde a graduação, foi um exemplo para seguir de como devemos agir frente aos obstáculos do nosso dia a dia, sempre esteve presente e de prontidão para me aconselhar nos meus momentos de dúvidas e inseguranças. “Paulinho”, você é um ser humano incrível, que tenho imensa admiração. Espero que essa seja só mais uma etapa da minha vida e que eu tenha a honra de ter sua participação nas de muitas que estão por vir.

*“Tenho certeza que você encontrará as respostas... Você será feliz...”*

Roberto Sá Benevides Magalhães

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AJCC	<i>American Joint Committee on Cancer</i>
CAC	Carcinoma Adenoide Cístico
CACON	Centro de Assistência de Alta Complexidade em Oncologia
DAB	3,3 - Diamino-benzidina
EPM	Erro Padrão da Média
EXO 1	Exonuclease 1
HE	Hematoxilina-eosina
HHJ/ICC	Hospital Haroldo Juaçaba/Instituto do Câncer do Ceará
IHQ	Imuno-histoquímica
ILV	Invasão linfovascular
IPN	Invasão perineural
MMR	<i>Mismatch Repair System</i>
MSI	Instabilidade de Microssatélites
NC	Não computado
PCNA	Antígeno de Proliferação Celular
PRA	Proteína de Replicação A



## LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1. Sistema de reparo de incompatibilidade – Via Mismatch Repair (MMR). (a) Uma base incompatível foi incorporada erroneamente na fita de DNA recém-sintetizada pela DNA polimerase. (b) hMutS $\alpha$  detecta o erro de replicação e recruta hMutL $\alpha$  para formar um heterodímero. (c) A fita recém-sintetizada é excisada proximalmente e distalmente à região incompatível por hMutL $\alpha$ , cuja atividade de endonuclease é ativada por PCNA. (d) hMutS $\alpha$  ativa EXO1 que remove a região excisada. (e) A DNA polimerase realiza a ressíntese do DNA.

Figura 2. Curvas ROC para imunexpressão médias de MSH2, MSH6, PMS2 e MLH1 como preditores de prognóstico em carcinomas adenoides císticos das glândulas salivares.

Figura 3. Perfil de imunexpressão para as proteínas do complexo MM em pacientes com CAC de glândulas salivares diagnosticados e tratados no HHJ/ICC. Barra horizontal = 50  $\mu$ m (400x); HE = hematoxilina-eosina; IHQ = Imuno-histoquímica (DAB-hematoxilina)

Figura 4. Curvas de Kaplan-Meier de sobrevida global em pacientes com CAC de glândulas salivares. Linha contínua = alta expressão; Linha tracejada = baixa expressão.

Tabela 1. Perfil clínico-patológico de pacientes com CAC de glândulas salivares diagnosticados e tratados no HHJ/ICC. IPN: Invasão Perineural. ILV: Invasão linfovascular. RT: Radioterapia. QT: Quimioterapia. pT: estadiamento patológico T. pN: estadiamento patológico N.

Tabela 2. Perfil de imunexpressão para as proteínas do complexo MMR em pacientes com CAC de glândulas salivares diagnosticados e tratados no HHJ/ICC.

Tabela 3. Influência do perfil clínico-patológico de pacientes com CAC de glândulas salivares diagnosticados e tratados no HHJ/ICC na imunexpressão das proteínas do complexo MMR.

Tabela 4. Influência do perfil clínico-patológico e da imunexpressão das proteínas do complexo MMR na sobrevida global de pacientes com CAC de glândulas salivares diagnosticados e tratados no HHJ/ICC.

## RESUMO

**Introdução:** O carcinoma adenoide cístico (CAC) é a segunda neoplasia maligna mais frequente das glândulas salivares, apresenta baixa sobrevida comparadas às demais e patogênese incerta. As vias de reparo do DNA se tornam uma alternativa para estudo desses mecanismos visto que a disfunção da via *mismatch repair* (MMR) está associada a inúmeros outros cânceres que também não são fortemente associados a agentes exógenos. **Objetivo:** Avaliar a influência das proteínas do sistema MMR nos subtipos histológicos, perfil clínico-patológico e prognóstico de pacientes com CAC de glândulas salivares. **Metodologia:** Foram levantados 24 CAC diagnosticados e tratados no Hospital Haroldo Juaçaba / Instituto do Câncer do Ceará dos quais foram resgatados dados clínico-patológicos e blocos parafinados de biópsias excisionais para reação de imunohistoquímica para MSH2, MSH6, PMS2, MLH1. Dez campos de cada padrão histológico (cribiforme, tubular e sólido) foram realizados para contagem percentual de células marcadas e as médias dos 30 campos foram considerados para avaliação com demais variáveis clínico-patológicas. Teste de Kruskal-Wallis e Friedman/Dunn, qui-quadrado e exato de Fisher, Log-Rank Mantel-Cox e regressão de Cox foram utilizados (SPSS v20.0,  $p < 0.05$ ). **Resultados:** A maior parte dos CAC eram em mulheres ( $n=15$ , 62.5%), com uma idade média de  $56,2 \pm 15,2$  anos, localizados principalmente em parótida ( $n=11$ , 45.8%) e com padrão predominantemente cribiforme ( $n=14$ , 58.3%). Cápsula ( $n=13$ , 54.2%), invasão perineural ( $n=18$ , 75.0%) e linfovascular ( $n=13$ , 54.2%) foram observados na maior parte da amostra. Todos os pacientes foram submetidos a ressecção cirúrgica e a maioria ( $n=17$ , 70.8%) à radioterapia adjuvante. Não houve diferença significativa entre a imunoposição para MSH6, MLH1 e PMS2 nos subtipos histológicos, mas o padrão sólido apresentou menor expressão para MSH2 que os demais padrões ( $p=0.039$ ). Significativo desbalanceio na imunoposição de MSH2/MSH6 foi observado em todos os padrões histológicos ( $p < 0.001$ ), mas desbalanceio na imunoposição de PMS2/MLH1 foi observado apenas no padrão cribiforme ( $p=0.011$ ). A presença de cápsula foi associada com alta expressão de MSH6 ( $p=0.019$ ), MLH1 ( $p=0.045$ ) e PMS2 ( $p=0.009$ ). A ausência de padrão cribiforme foi associada a menor sobrevida global ( $p=0.002$ ) bem como a ausência de cápsula ( $p=0.025$ ) e a baixa expressão para MSH6 ( $p=0.006$ ) e PMS2 ( $p=0.037$ ). Em análise multivariada a baixa imunoposição de MSH2 ( $p=0.039$ ) e MLH1 ( $p=0.017$ ) foram significativamente associadas a pior sobrevida global.

**Conclusão:** A instabilidade de microssatélite do CAC de glândulas salivares é demonstrada especialmente pelo desbalanceio de MSH2/MSH6 e pela perda de expressão de MSH2 no subtipo histológico sólido e há associação significativa da imunexpressão de proteínas do complexo MMR com a sobrevida global de pacientes com CAC.

**Palavras-chaves:** Carcinoma Adenóide Cístico; Imunohistoquímica; MSH2; MSH6; PMS2; MLH1.

## ABSTRACT

**Introduction:** Adenoid cystic carcinoma (ACC) is the second most frequent malignant neoplasm of the salivary glands, with low survival compared to the others and uncertain pathogenesis. DNA repair pathways become an alternative for studying these mechanisms since mismatch repair (MMR) pathway dysfunction is associated with numerous other cancers that are also not strongly associated with exogenous agents. **Aim:** To evaluate the influence of MMR system proteins on histological subtypes, clinicopathological profile and prognosis of patients with salivary gland CAC. **Methodology:** A total of 24 CAC diagnosed and treated at Hospital Haroldo Juaçaba / Instituto do Câncer do Ceará were surveyed, from which clinicopathological data and paraffin blocks of excisional biopsies were collected for immunohistochemical reaction for MSH2, MSH6, PMS2, MLH1. Ten fields of each histological pattern (cribriform, tubular and solid) were performed for the percentage count of marked cells and the averages of the 30 fields were considered for evaluation with other clinical-pathological variables. Kruskal-Wallis and Friedman/Dunn, chi-square and Fisher's exact test, Log-Rank Mantel-Cox and Cox regression were used (SPSS v20.0,  $p < 0.05$ ). **Results:** Most ACC were in women ( $n=15$ , 62.5%), with a mean age of  $56.2 \pm 15.2$  years, located mainly in the parotid gland ( $n=11$ , 45.8%) and with a predominantly cribriform pattern ( $n = 14$ , 58.3%). Capsule ( $n=13$ , 54.2%), perineural ( $n=18$ , 75.0%) and lymphovascular ( $n=13$ , 54.2%) invasion were observed in most of the sample. All patients underwent surgical resection and the majority ( $n=17$ , 70.8%) underwent adjuvant radiotherapy. There was no significant difference between immunoexpression for MSH6, MLH1 and PMS2 in the histological subtypes, but the solid pattern showed lower expression for MSH2 than the other patterns ( $p=0.039$ ). Significant imbalance in MSH2/MSH6 immunoexpression was observed in all histological patterns ( $p < 0.001$ ), but imbalance in PMS2/MLH1 immunoexpression was observed only in the cribriform pattern ( $p=0.011$ ). The presence of capsule was associated with high expression of MSH6 ( $p=0.019$ ), MLH1 ( $p=0.045$ ) and PMS2 ( $p=0.009$ ). The absence of a cribriform pattern was associated with lower overall survival ( $p=0.002$ ) as well as the absence of a capsule ( $p=0.025$ ) and low expression for MSH6 ( $p=0.006$ ) and PMS2 ( $p=0.037$ ). In multivariate analysis, low immunoexpression of MSH2 ( $p=0.039$ ) and MLH1 ( $p=0.017$ ) were significantly associated with worse overall survival. **Conclusion:** The microsatellite instability of

the salivary gland CAC is demonstrated especially by the MSH2/MSH6 imbalance and the loss of MSH2 expression in the solid histological subtype and there is a significant association of the immunoexpression of MMR complex proteins with the overall survival of patients with CAC.

**Keywords:** Adenoid Cystic Carcinoma; Immunohistochemistry; MSH2; MSH6; PMS2; MLH1.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL .....	15
2. EMBASAMENTO TEÓRICO .....	18
2.1. Carcinoma Adenoide Cístico (CAC) .....	18
2.2. Via de reparo do DNA – <i>Mismatch Repair System</i> (MMR) .....	20
3. OBJETIVOS .....	24
4. IMUNOEXPRESSÃO PARA <i>MISMATCH REPAIR</i> IMPACTA EM CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-PATOLÓGICAS E NO PROGNÓSTICO DO CARCINOMA ADENÓIDE CÍSTICO DAS GLÂNDULAS SALIVARES .....	25
5. CONCLUSÃO GERAL.....	52
REFERÊNCIAS .....	53
ANEXO 1 .....	61

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

O Carcinoma Adenoide Cístico (CAC) de glândulas salivares é uma neoplasia maligna rara, de crescimento lento e devido seu poder de invasão tumoral e alto grau de recidiva não possui prognóstico favorável. O primeiro caso relatado de CAC de glândulas salivares, também denominado Cilindroma, devido seu padrão histológico, foi descrito em 1856 por Billroth, um importante cirurgião germânico (PALMEIRO et al., 2005).

O mecanismo fisiológico e patológico do CAC é incerto, mas estudos sugerem sua origem a partir de células epiteliais das glândulas menores subepteliais, secretoras de muco. Seu diagnóstico torna-se dificultoso devido ao seu crescimento submucoso, indolor e lento. Além de estar relacionado a metástase a distância e tardia, sendo mais constante na região pulmonar (50%), hepática, óssea e ganglionar, retendo uma baixa sobrevida ao paciente (MONTEIRO et al., 2012).

Possui como principais sítios anatômicos de desenvolvimento as glândulas salivares maiores e menores. Além da cavidade oral o CAC pode manifestar-se em glândulas lacrimais e glândulas do trato aéreo digestivo superior (PALMEIRO et al., 2005), fossa nasal e seios perinasais, faringe, esôfago e de forma mais rara na laringe e na árvore traqueobrônquica (MONTEIRO et al., 2012). Correspondendo a somente 1% das neoplasias de cabeça e pescoço, em que 4% dos casos evoluem para invasão intracraniana (WELLING et al., 2011). A presença do CAC na região da laringe condiz 0,2% dos casos de neoplasia (MONTEIRO et al., 2012).

A região da cavidade oral mais comum para acometimento do CAC é a mucosa dos palatos duro e mole e região da base da língua. Fora da cavidade oral casos raros de CAC envolvendo o fígado, laringe e mama também já foram registrados (SANTOS et al., 2005).

Ainda que o CAC demonstre predileção pelo sexo feminino, sua distribuição entre ambos os sexos, masculino e feminino, ocorre de forma igual, sem relação com a prevalência dos padrões histológicos (MONTEIRO et al., 2012). Possui prevalência em adultos entre 50 e 70 anos, consistindo em uma neoplasia rara em pessoas com menos de 20 anos (PALMEIRO et al., 2005). Pode, ainda, estar associado ao fumo e ao consumo de álcool e não possui diferença entre as raças (SANTOS et al., 2005).

O tempo médio entre o início dos sintomas e o diagnóstico da neoplasia maligna dura cerca de 39 meses. De forma geral as principais queixas relatadas são inespecíficas, mas correspondem com a localização do Carcinoma Adenoide Cístico. Nos casos de neoplasias orais, nasais e da orofaringe, as principais evidências constituem-se da formação de nódulos correlacionados com dor e regiões com sensação de dormência (MONTEIRO et al., 2012).

O prolongamento do CAC para região intracraniana, cerca de 4% a 22% dos casos, possui três meios de ocorrer, sendo eles a via hematogênica, a extensão direta por destruição óssea e através do perineuro e do endoneuro, acometendo, de forma mais frequente, o nervo trigêmeo dentre os outros pares de nervos cranianos (SANTOS et al., 2005).

Subdividido em três padrões histológicos, o CAC, pode ser classificado em cribriforme, tubular e sólido, sendo o primeiro a forma mais prevalente (PALMEIRO et al., 2005).

O padrão cribriforme, que possui prevalência de 50%, é composto de ilhas formadas por pequenas células de núcleo escuro, citoplasma claro e diversos espaços císticos, compostos de material mucoide basofílico ou eosinofílico hialinizado, resultando em uma aparência que lembra aspecto de queijo suíço (PALMEIRO et al., 2005).

A organização do padrão tubular, com prevalência de 25% dos casos, assemelha-se a túbulos ou ductos. Já o padrão sólido, também com 25% de prevalência, apresenta uma menor predisposição para construção de espaços císticos ou túbulos, sendo esta sua principal diferença quando comparada com os outros dois padrões. Ainda no padrão sólido pode ser observado focos de necrose central nas ilhas de células neoplásicas, além de pleomorfismo celular e muita atividade mitótica, tornando esse padrão o mais agressivo dos três (PALMEIRO et al., 2005).

Na mesma lesão tumoral pode ser possível identificar os três padrões histológicos, com um em maior predominância comparado aos outros. As amostras histológicas podem ser ordenadas de forma decrescente quanto ao pior prognóstico que cada uma possui, sendo o primeiro o padrão sólido, seguido do cribriforme e por último o tubular. Além disso a invasão por células cancerígenas dos espaços perineurais e das bainhas perineurais não é incomum, ressaltando a particularidade do CAC de possuir altas taxas de metástase e recidivas (SANTOS et al., 2005).

O CAC pode ser classificado de acordo com os segmentos dos espaços sólidos encontrados no exame histológico, em casos que o padrão cribriforme e o tubular são



predominantes ele será classificado em grau I ou de baixo grau. O grau II ou intermediário está relacionado a lesões onde as porções sólidas e cribriforme estão arrançadas em semelhança, assim como quando essa distribuição similar ocorre com o padrão sólido e tubular. Nos casos em que apenas a forma sólida está distribuída é atribuída a classificação de grau III ou grau elevado, correspondendo a esta o pior prognóstico e uma maior agressividade (PALMEIRO et al., 2005).

O CAC pode ainda apresentar semelhanças clínicas e microscópicas com outros tumores, como o adenocarcinoma, mas também pode ser erroneamente diagnosticado como um tumor benigno, como o adenoma, devido a baixa atipia celular observada, realçando a importância de seu diagnóstico diferencial ser baseado em achados histológicos e imuno-histoquímicos (SANTOS et al., 2005).

O tratamento cirúrgico seguido da radioterapia, durante o pós-operatório tem se mostrado promissor na contenção de recidivas (PALMEIRO et al., 2005).

A dissecação cervical ocorre em casos que haja metástase cervical (10% a 15%). Seu prognóstico é avaliado de acordo com o estadiamento do tumor (TNM), sua localização, seu tipo histológico e seu índice de recidiva pós remoção cirúrgica. O pior prognóstico será constatado em situações de elevação na expressão dos marcadores tumorais p53, Ki-67 e PCNA. Alguns estudos mais recentes indicam uma taxa de sobrevida entre 78% e 65% aos 5 e 10 anos, de forma respectiva (MONTEIRO et al., 2012).

A terapia combinada, de cirurgia/radioterapia ou da radioterapia/quimioterapia, tem sido mais empregada do que apenas a escolha de um tratamento individual, que não afasta as chances de recidiva e de metástase, principalmente em linfonodos cervicais, ossos, cérebro e nos pulmões. Estudos recentes mostram que a radioterapia com nêutrons tem se mostrado mais eficiente e rápida quando comparada com a radioterapia de fótons e elétrons. Infelizmente, ainda que as terapias para o tratamento do CAC estejam em um contínuo avanço, a taxa de sobrevida e o prognóstico dos pacientes que são acometidos pelo Carcinoma Adenoide Cístico mantêm-se baixo, devido o índice de cura ainda ser insuficiente (SANTOS et al., 2005).

O complexo sistema *mismatch repair* (MMR), formado por diversos genes, codifica uma série de proteínas de correção de mutações do material genético (KINSELLA, 2009). Essas proteínas atuam de maneira conjunta, formando complexos que são chamados *MutL homologues*

e *MutS homologues*. Esses complexos são formados por dímeros proteicos, onde cada um deles desempenham diferentes funções. Um link entre a disfunção dessas proteínas e o desenvolvimento de diversos cânceres foi apresentado por vários autores (FRIEDRICH et al, 1999; HAMID et al, 2002; LI et al, 2008; KINSELLA, 2009; ARONSON et al, 2015; WAGNER et al, 2016; VASAN et al, 2019).

A depender do tumor a ser estudado, observamos uma diferença na imunexpressão das proteínas que compõem o sistema de reparo de incompatibilidade. Além disso, a raridade dos CAC nos mostra a relevância da melhor compreensão da participação dessas proteínas de reparo em seu desenvolvimento e determinação do prognóstico dos pacientes. O estabelecimento de marcadores prognóstico nesta patologia poderia ampliar a possibilidade de seu diagnóstico precoce, assim como guiar terapêuticas mais adequadas visando ampliar a qualidade de vida destes pacientes.

## **2. EMBASAMENTO TEÓRICO**

### **2.1. Carcinoma Adenoide Cístico (CAC)**

Os tumores de glândulas salivares apresentam significativa diversidade morfológica, com comportamento genômico variado e sobreposição entre entidades. Sua incidência varia de 0.4 a 13.5 por 100.000 habitantes ao ano para neoplasias benignas e 0.1 a 2.6 por 100.000 para malignas, representando apenas de 2 – 6% dos tumores de cabeça e pescoço (FERRAROTTO, Renata et al. 2021).

O Carcinoma Adenoide Cístico (CAC) corresponde à aproximadamente 10% dos tumores de glândulas salivares e apenas 1% de todos os tumores de cabeça e pescoço (SINGARAJU, Medhini et al. 2022), apresentando uma maior prevalência em adultos de meia idade e do sexo feminino (TASOULAS, Jason et al.2021; DANTAS, Afonso Nóbrega et al. 2015; SAHARA, Sosuke; HERZOG, Alexandra E.; NÖR, Jacques E. 2021). O primeiro caso relatado de CAC de glândulas salivares, também denominado Cilindroma, devido seu padrão histológico, foi descrito em 1856 por Billroth, um importante cirurgião germânico (CHANG, Chin-Fang et al. 2018).

A etiologia do CAC não está bem definida na literatura, entretanto, Cantù (2021) ressaltou como principais fatores associados ao desenvolvimento desse tumor os seguintes tópicos: exposição à radiação ionizante, baixa ingestão de vitamina C e mulheres previamente tratadas para câncer de mama.

O CAC é considerado uma neoplasia maligna rara que surge principalmente em glândulas salivares menores e parótida, podendo também ter como sítio de origem na região de cabeça e pescoço a língua, seios paranasais, palato e glândulas lacrimais. Apesar de ser mais comum em glândulas salivares, também pode ter sua origem em outras glândulas secretoras como em esôfago, mama, próstata e colo uterino (SUTON, Petar; LUKSIC, I. 2021 e COCA-PELAZ, Andrés et al. 2015).

Seus sinais e sintomas são variáveis visto que dependem do sítio anatômico de envolvimento, podendo ter duração variando entre meses e anos. Frente a essa ausência de aspectos clínicos patognômicos, seu diagnóstico geralmente é estabelecido de maneira tardia e o paciente apresenta um estágio avançado da doença quando busca tratamento (SUTON, Petar; LUKSIC, I. 2021 e SAHARA, Sosuke; HERZOG, Alexandra E.; NÖR, Jacques E. 2021).

Histologicamente, o CAC é composto por pequenas células tumorais mioepiteliais e ductais, com pequena a moderada quantidade de citoplasma, com núcleos não pleomórficos e nucléolos brandos ou até mesmo imperceptíveis. É possível observar uma maior predominância de diferenciação mioepitelial. Baseado no seu padrão de crescimento, o CAC pode ser categorizado em três tipos histológicos: cribiforme, sólido e tubular. O padrão cribiforme é seu padrão mais marcante e clássico, apresentando células basalóides dispostas em massas ovais, com tamanho variável e marcadas por espaços rígidos, ovais, semelhantes a cistos (pseudolumina) que podem conter cilindros/glóbulos de material hialino e/ou glicosaminoglicanos mixóides. A organização do padrão tubular se assemelha com túbulos ou ductos, sendo possível observar bicamadas revestidas por células luminais cercadas por células não luminais. Por fim, o padrão sólido apresenta como principal característica as células tumorais em grande parte basalóides crescendo em folhas sem formação de lúmen (IKAWA, Hiroaki et al. 2017; COCA-PELAZ, Andrés et al. 2015 e DILLON, Patrick M. et al. 2016).

O tratamento cirúrgico seguido da radioterapia, durante o pós-operatório tem se mostrado promissor na contenção de recidivas (CHANG, Chin-Fang et al. 2018). A terapia combinada, de cirurgia/radioterapia ou da radioterapia/quimioterapia, tem sido mais empregada

do que apenas a escolha de um tratamento individual, que não afasta as chances de recidiva e de metástase, principalmente em linfonodos cervicais, ossos, cérebro e nos pulmões (DANTAS, Afonso Nóbrega et al. 2015 e SAHARA, Sosuke; HERZOG, Alexandra E.; NÖR, Jacques E. 2021).

Entretanto, esta neoplasia é caracterizada pela sua progressão lenta e indolente, com invasão local e perineural, recidiva local e ocorrência de metástases a distância tardias, principalmente nos pulmões, ossos e fígado (TASOULAS, Jason et al. 2021). Nesse contexto, sua ressecção cirúrgica completa se torna um desafio, aspecto que contribui para um pior prognóstico a longo prazo, no qual se observa uma sobrevida em 15 anos inferior a 50% (UEDA, Kaori et al. 2020).

O tipo histológico do tumor tem sido considerado um importante preditor do comportamento biológico da condição, influenciando no seu prognóstico e, conseqüentemente, no manejo clínico. Os padrões cribiforme e tubular são frequentemente associados a tumores menos agressivos, enquanto o padrão sólido está associado ao mais agressivo, com presença de maior pleomorfismo celular, mitoses e focos necróticos (DA CRUZ PEREZ, Danyel Elias et al. 2006).

## **2.2. Via de reparo do DNA – *Mismatch Repair System* (MMR)**

O genoma de cada célula do corpo humano está em constante ameaça tanto de fatores endógenos quanto exógenos e a preservação da integridade genômica é um mecanismo crucial para a transmissão da informação genética e perpetuação das espécies. (REINHARDT, H. Christian; SCHUMACHER, Björn. 2012). As vias de reparo a danos no DNA têm como objetivo proteger as células contra essas possíveis mutações epigenéticas. Os danos causados no DNA podem ser reparados por via direta, mediado por proteínas como a O6-metilguanina metiltransferase, como pelas vias de reparo que incluem reparo por excisão de nucleotídeos, junção de extremidades não homólogas, reparo por recombinação homóloga, reparo por excisão de bases e o reparo de incompatibilidade (MMR) (JIANG, Minlin et al. 2021). Erros no reparo dessas mutações podem levar a alterações genéticas que podem ser o elemento chave para o desenvolvimento de diversos cânceres.

O MMR codifica uma série de proteínas de correção de mutações do material genético. A MMR exerce sua função corrigindo nucleotídeos incompatíveis causados por erros de

incorporação da polimerase, recombinação entre DNAs e danos químicos ou físicos. Sua principal função é exercida no processo de replicação do material genético, identificando erros espontâneos de base-base e pequenos *loops* de inserções-deleções (PEĆINA-ŠLAUS, Nives et al. 2020).

As proteínas que compõe esse sistema atuam de maneira conjunta, formando heterodímeros que são chamados homólogos MutS e MutL. O MutS pode ser subdividido na combinação entre hMSH2 (locus do gene em 2p21) com hMSH6 (2p16) ou hMSH3 (5q14.1), resultando em MutS $\alpha$  e MutS $\beta$ , respectivamente. Já o MutL *homologues* poderá ser subdividido na combinação entre hMLH1 (3p21) unido a hPMS2 (7q22.2), hPMS1 (2q31.1) ou hMLH3 (14q24.3), resultando em heterodímeros hMutL $\alpha$ , hMutL $\beta$  e hMutL $\gamma$ , respectivamente (PEĆINA-ŠLAUS, Nives et al. 2020; JIANG, Minlin et al. 2021 e CILONA, Maria et al. 2020).

Os subprocessos por eles desenvolvidos se iniciam pelo reconhecimento de danos do DNA por parte do MutS $\alpha$  (hMSH2+hMSH6) ou MutS $\beta$  (hMSH2+hMSH3), seguido de excisão do erro, que é iniciada pela ligação de MutL $\alpha$  (hMLH1+hPMS2) ou MutL $\beta$  (hMLH1+hMLH3) ao MutS, ocorrendo subsequentemente um recrutamento da exonuclease 1 (EXO 1). Esta remove a fita de DNA contendo a base incorreta, sendo feita uma ressíntese do DNA através da DNA polimerase. O processo é então finalizado pela interação das proteínas; proteína de replicação A (PRA) e antígeno de proliferação celular (PCNA), com selamento pela DNA ligase. (Figura 1)

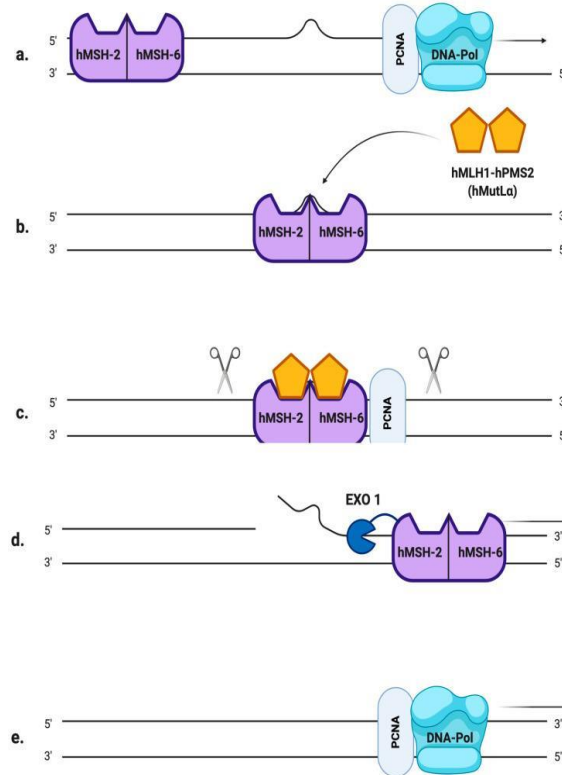


Figura 1. Sistema de reparo de incompatibilidade – Via Mismatch Repair (MMR).

(Fonte: CILONA, Maria et al. 2020). (a) Uma base incompatível foi incorporada erroneamente na fita de DNA recém-sintetizada pela DNA polimerase. (b) hMutS $\alpha$  detecta o erro de replicação e recruta hMutL $\alpha$  para formar um heterodímero. (c) A fita recém-sintetizada é excisada proximalmente e distalmente à região incompatível por hMutL $\alpha$ , cuja atividade de endonuclease é ativada por PCNA. (d) hMutS $\alpha$  ativa EXO1 que remove a região excisada. (e) A DNA polimerase realiza a ressíntese do DNA.

A função alterada da via MMR pode ser causada por mutações germinativas ou somáticas em genes de reparo (MLH1, MSH2, MSH3, MSH6 e PMS2) dessa via ou pelo silenciamento epigenético da proteína MLH1, anteriormente estudada por Vilar e Gruber (2010). O comprometimento dessa via será caracterizado pelo acúmulo de mutações *frameshift* e *missense* em diversos locus, induzindo a formação de um fenótipo mutador chamado de Instabilidade de Microsatélites (MSI). Diversos estudos já evidenciaram a influência desse fenótipo na patogênese de tumores malignos, onde se observa que sua presença poderá resultar em inativação de proteínas importantes para supressão tumoral e na produção de peptídeos *frameshift*. (FASSAN, Matteo et al. 2020; LI, Kai et al. 2020 e EVRARD, Camille et al. 2019)

Além disso, também já foram observadas associações entre a presença de alterações nos genes que codificam proteínas do complexo MMR ao câncer colorretal, de bexiga e endométrio, as variantes patogênicas ligadas à síndrome de Lynch que aumenta a predisposição ao desenvolvimento precoce desses tumores. Um estudo conduzido por He Y (2022) sintetizou de acordo com cada proteína do MMR as principais correlações entre seu silenciamento epigenético com a tumorigenese, onde os mais frequentes foram o câncer colorretal (MSH2, MSH3, MSH6, MLH3, PMS2), mama (MSH2, MSH3, MSH6, MLH1, PMS2, PMS1), tireoide (MSH2, MSH3, MSH4, MSH6, PMS2), dentre outros. De acordo com Mihaylova (2003), a presença de um fator de transcrição promotor da proliferação presente no microambiente tumoral se liga aos promotores dos genes MMR (MLH1 e MLH2), que levam a uma diminuição de MLH1 e MLH2 a nível transcricional.

Dentre os tumores de cabeça e pescoço, recentemente Decker (2021) descreveu que a imunexpressão aumentada de PMS2 está diretamente associada a pior sobrevida global em pacientes com carcinoma de células escamosas oral jovens e de Oliveira Filho (2021) avaliando casos de carcinoma de células escamosas da orofaringe observou que a superexpressão de MSH2, MSH6 e MLH1 são potentes indicadores de prognóstico em tumores p16+.

Assim, tendo em vista que a via MMR se apresenta como potencial preditora de prognóstico em tumores de cabeça e pescoço e sendo o CAC um tumor de prognóstico sombrio que ainda não apresenta biomarcadores diagnósticos e prognósticos importantes, é objetivo do presente estudo avaliar a imunexpressão das proteínas do complexo MMR em CAC de glândulas salivares.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo Geral**

Avaliar a influência da imunexpressão para proteínas do complexo *Mismatch Repair* em características clínico-patológicas e no prognóstico do Carcinoma Adenóide Cístico das glândulas salivares.

#### **3.2. Objetivos Específicos**

- Caracterizar o perfil clínico-patológico de pacientes com CAC de glândulas salivares;
- Comparar o perfil de imunomarcção para MSH2, MSH6, PMS2 e MLH1 nos diferentes subtipos histológicos do CAC de glândulas salivares;
- Avaliar a influência da imunexpressão para MSH2, MSH6, PMS2 e MLH1 em características clínico-patológicas em CAC de glândulas salivares;
- Avaliar a influência da imunexpressão para MSH2, MSH6, PMS2 e MLH1 na sobrevida global de CAC de glândulas salivares.



#### **4. IMUNOEXPRESSÃO PARA *MISMATCH REPAIR* IMPACTA EM CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-PATOLÓGICAS E NO PROGNÓSTICO DO CARCINOMA ADENOIDE CÍSTICO DAS GLÂNDULAS SALIVARES**

IMMUNOEXPRESSION FOR MISMATCH REPAIR IMPACTS ON CLINICAL-PATHOLOGICAL CHARACTERISTICS AND PROGNOSIS OF ADENOID CYSTIC CARCINOMA OF SALIVARY GLANDS

##### **RESUMO**

O carcinoma adenoide cístico (CAC) é uma neoplasia maligna de glândula salivar de baixa sobrevida e sem biomarcadores prognósticos adequados. Nosso objetivo foi avaliar a influência das proteínas do sistema MMR em características clínico-patológicas e no prognóstico de pacientes com CAC de glândulas salivares. Foram avaliados 24 CAC e revisados dados clínico-patológicos e blocos parafinados para reação de imuno-histoquímica para MSH2, MSH6, PMS2, MLH1. Dez campos de cada padrão histológico (cribiforme, tubular e sólido) foram fotografados para contagem percentual de células marcadas e as médias dos 30 campos foram considerados para avaliação com demais variáveis clínico-patológicas. Teste de Kruskal-Wallis e Friedman/Dunn, qui-quadrado e exato de Fisher, Log-Rank Mantel-Cox e regressão de Cox foram utilizados (SPSS v20.0,  $p < 0.05$ ). A maior parte dos CAC eram em mulheres ( $n=15$ , 62.5%), com uma idade média de  $56,2 \pm 15,2$  anos, localizados principalmente em parótida ( $n=11$ , 45.8%) e com padrão predominantemente cribiforme ( $n=14$ , 58.3%). Cápsula ( $n=13$ , 54.2%), invasão perineural ( $n=18$ , 75.0%) e linfovascular ( $n=13$ , 54.2%) foram observados na maior parte da amostra. Todos os pacientes foram submetidos a ressecção cirúrgica e a maioria ( $n=17$ , 70.8%) à radioterapia adjuvante. O padrão sólido apresentou menor expressão para MSH2 ( $p=0.039$ ), significativo desbalanceio na imunexpressão de MSH2/MSH6 foi observado em todos os padrões histológicos ( $p < 0.001$ ), e desbalanceio na imunexpressão de PMS2/MLH1 foi observado no padrão cribiforme ( $p=0.011$ ). A presença de cápsula foi associada com alta expressão de MSH6 ( $p=0.019$ ), MLH1 ( $p=0.045$ ) e PMS2 ( $p=0.009$ ). A ausência de padrão cribiforme ( $p=0.002$ ) e de cápsula ( $p=0.025$ ),

bem como a baixa expressão para MSH6 (p=0.006) e PMS2 (p=0.037) foram associadas a menor sobrevida global. Em análise multivariada a baixa imunexpressão de MSH2 (p=0.039) e MLH1 (p=0.017) foram significativamente associadas a pior sobrevida global. O CAC de glândulas salivares apresenta notável desbalanceio do complexo MMR e perda da expressão de seus componentes se associa com a sobrevida global desses pacientes.

**Palavras-chave:** Carcinoma Adenóide Cístico, Imunohistoquímica, MSH2, MSH6, PMS2, MLH1.

## INTRODUÇÃO

O genoma de cada célula do corpo humano está em constante ameaça tanto de fatores endógenos quanto exógenos e a preservação da integridade genômica é um mecanismo crucial para a transmissão da informação genética e perpetuação das espécies<sup>1</sup>. As vias de reparo a danos no DNA têm como objetivo proteger as células contra essas possíveis mutações epigenéticas. O sistema de reparo de incompatibilidade (*Mismatch Repair System* – MMR) codifica uma série de proteínas de correção de mutações do material genético. A MMR exerce sua função corrigindo nucleotídeos incompatíveis causados por erros de incorporação da polimerase, recombinação entre DNAs e danos químicos ou físicos. Sua principal função é exercida no processo de replicação do material genético, identificando erros espontâneos de base-base e pequenos *loops* de inserções-deleções<sup>2</sup>.

As proteínas que compõe esse sistema atuam de maneira conjunta, formando os heterodímeros homólogos MutS e MutL. Estes, por sua vez, podem ser subdivididos de acordo com as proteínas que os compõem. O complexo MutS subdivido em MutS $\alpha$  (hMSH2 + hMSH6) e MutS $\beta$  (hMSH2 + hMSH3) e o MutL em hMutL $\alpha$  (MLH1 + PMS2), hMutL $\beta$  (MLH1 + PMS1) e hMutL $\gamma$  (MLH1 + MLH3)<sup>2,3,4</sup>. Vilar e Gruber et al. 2010<sup>5</sup> estudaram as possíveis alterações funcionais da via, associando-as a mutações germinativas ou somáticas nos genes de reparo (MLH1, MSH2, MSH3, MSH6 e PMS2) ou através do silenciamento epigenético da proteína MLH1. O comprometimento dessa via será caracterizado pelo acúmulo de mutações *frameshift* e

*missense* em diversos locus, induzindo a formação de um fenótipo mutador chamado de Instabilidade de Microssatélites (MSI). Diversos estudos já evidenciaram a influência desse fenótipo na patogênese de tumores malignos, onde se observa que sua presença poderá resultar em inativação de proteínas importantes para supressão tumoral e na produção de peptídeos *frameshift*<sup>6,7,8</sup>.

A via MMR tem sido investigada em diversos tumores de cabeça e pescoço. Decker et al. 2021<sup>9</sup> descreveu que a imunexpressão aumentada de PMS2 está diretamente associada a pior sobrevida global em pacientes com carcinoma de células escamosas oral jovens e de Oliveira Filho et al. 2021<sup>10</sup> avaliando casos de carcinoma de células escamosas da orofaringe observou que a superexpressão de MSH2, MSH6 e MLH1 são potentes indicadores de prognóstico em tumores p16+. Interessantemente, Castrilli et al. 2002<sup>11</sup> observaram que a imunexpressão para MSH2 difere significativamente de tumores malignos das glândulas salivares em comparação a tumores benignos de glândulas salivares, demonstrando que essa via também parece estar associada aos tumores malignos das glândulas salivares.

Os tumores de glândulas salivares correspondem a menos de 5% dos tumores de e dentro deles o Carcinoma Adenoide Cístico (CAC) corresponde à aproximadamente 10% dos tumores de glândulas salivares e apenas 1% de todos os tumores de cabeça e pescoço<sup>12</sup>, apresentando uma maior prevalência em adultos de meia idade e do sexo feminino<sup>13,14,15</sup>. A etiologia do CAC não está bem definida na literatura, entretanto, Cantù et al. 2021<sup>16</sup> ressaltou como principais fatores associados ao desenvolvimento desse tumor os seguintes tópicos: exposição à radiação ionizante, baixa ingestão de vitamina C e mulheres previamente tratadas para câncer de mama.

Frente a essa ausência de aspectos clínicos patognomônicos, o diagnóstico do CAC geralmente é estabelecido de maneira tardia e o paciente apresenta um estágio avançado da doença quando busca tratamento<sup>15,17</sup>. Esta entidade é caracterizada pela sua progressão lenta e indolente, com invasão local e perineural, recidiva local e ocorrência de metástases a distância tardias, principalmente nos pulmões, ossos e fígado<sup>14</sup>. Diante dessas características clínico patológicas inespecíficas, a ressecção cirúrgica completa da neoplasia ainda é a primeira linha de tratamento e não existem marcadores prognósticos significativos.

O tipo histológico do tumor tem sido considerado um dos poucos preditores do comportamento biológico dos CAC de glândulas salivares. Os padrões cribiforme e tubular são frequentemente associados a tumores menos agressivos, enquanto o padrão sólido está associado ao mais agressivo, com presença de pleomorfismo celular, mitoses e focos necróticos<sup>18</sup>. Porém, estudos de biologia molecular precisam ser realizados já que o comportamento biológico mesmo avaliando os diferentes padrões microscópicos do CAC de glândulas salivares ainda é imprevisível.

Tendo em vista que a via MMR se apresenta como potencial preditora de prognóstico em tumores de cabeça e pescoço e sendo o CAC um tumor de prognóstico sombrio que ainda não apresenta biomarcadores diagnósticos e prognósticos importantes, é objetivo do presente estudo avaliar a imunexpressão das proteínas do complexo MMR em CAC de glândulas salivares e sua influência nas características clínico-patológicas e prognóstico.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### ***Desenho do Estudo***

Foi realizado um estudo quantitativo, de natureza retrospectiva, observacional e corte transversal, sendo coletados dados de pacientes diagnosticados/tratados com CAC de glândulas salivares, no período de 1º de janeiro de 2010 a 31 de dezembro de 2021, no Hospital Haroldo Juaçaba/Instituto do Câncer do Ceará (HHJ/ICC), um Centro de Assistência de Alta Complexidade em Oncologia (CACON) no Nordeste Brasileiro.

Esse estudo foi construído com base no delineamento proposto pela *STROBE-checklist*<sup>19</sup>, e foi aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital Haroldo Juaçaba com o número de protocolo é 2.251.564 (ANEXO I). Todas as fases do estudo serão realizadas em consonância com a lei 466/12 da legislação de ética em pesquisa, sendo garantido o sigilo das informações oriundas dos prontuários dos pacientes e guarda das mesmas até o fim do estudo.

### ***Delineamento amostral***

Para seleção da amostra de CAC, foi realizado um cálculo amostral com base no estudo de Castrilli et al. 2002<sup>11</sup>, que evidenciaram que a imunexpressão para MSH2 difere significativamente de tumores malignos das glândulas salivares em comparação a tumores benignos de glândulas salivares (56.1±31.5% versus 31.1±22.6%), estimando-se ser necessário avaliar 20 espécimes a fim de obter uma amostra que represente com 80% de poder e 95% de confiança a hipótese alternativa dessa pesquisa (teste t de Student)<sup>11</sup>. Tendo em vista a possibilidade de perda amostral acresceu-se 20% sobre esta, totalizando 24 pacientes.

### ***Crítérios de inclusão e exclusão e coleta de dados***

Foram incluídas lâminas histológicas de CAC do Laboratório de Patologia do ICC e um patologista com experiência (>10 anos de patologia oral) selecionou uma lâmina de cada caso que apresentasse área tumoral com pelo menos um dos padrões histológicos desse tumor. Após essa avaliação, os blocos parafinados foram avaliados quanto a quantidade de material disponível para confecção de novas lâminas para imuno-histoquímica e foram excluídos os blocos que não apresentavam material suficiente para realização da imunohistoquímica, restando 24 casos de blocos contendo tumor histologicamente detectável e material suficiente para realização dos experimentos. Os tumores foram então reclassificados por esse patologista, após avaliação do grau de concordância intraexaminador (coeficiente kappa = 0.892), conforme última atualização proposta pela OMS<sup>20</sup>.

### ***Coleta de dados sociodemográficos e clínicos***

Dados sociodemográficos como idade e sexo foram levantados, assim como dados clínico-patológicos como variante histológica do tumor, localização primária, TNM, estadiamento tumoral e tratamento realizado, dados estes fornecidos através dos prontuários dos pacientes.

A localização do tumor primário foi re-classificada conforme recomendado pela OMS pela classificação internacional das doenças CID-0 em: glândulas salivares maiores: glândula parótida,

glândula submandibular, glândula sublingual e outras glândulas salivares maiores, glândulas salivares menores, lábio, língua, palato, assoalho de boca e outras partes e partes não identificadas na boca<sup>21</sup>. O pTNM do tumor foi definido conforme as novas diretrizes propostas pelo *American Joint Committee on x' Cancer* (AJCC), que determina TNM sendo T referente ao tamanho do tumor, N ao acometimento linfonodal e M relacionado a metástases a distância<sup>22</sup>. Adicionalmente, foi calculada a sobrevida global por meio de diferença entre a data da remoção cirúrgica do tumor (dia, mês e ano) e a data do óbito (dia, mês e ano) ou do último final do *follow up*<sup>23</sup>.

### ***Processamento Imuno-histoquímico***

Foram feitos 4 cortes para reação de imuno-histoquímica e um para coloração por hematoxilina-eosina, e a reação de imuno-histoquímica foi realizada através da técnica da estreptavidina-biotina-peroxidase. Foi realizada recuperação antigênica com solução de 0,1M de tris-EDTA pH 9,0 em banho maria a 97°C durante 30 minutos. Em seguida, bloqueio da peroxidase endógena com peróxido de hidrogênio 3% diluído em PBS, e incubação por uma hora com seguintes anticorpos primários prontos-para-uso: MSH2 (FE11, Dako®), MSH6 (EP49, Dako®), PMS2 (EP51, Dako®) e MLH1 (ES05, Dako®).

Após incubação com o anticorpo primário por tempo determinado pelo fabricante, as lâminas foram lavadas (PBS) e incubadas com anticorpo biotilado por 30 minutos e, após lavagem, incubadas com conjugado de peroxidase avidina-biotina ou sistema Envision® por 30 minutos. A revelação foi realizada por meio de incubação com 3,3'-Diamino-benzidina (DAB) (Abcam®) e a contracoloração com hematoxilina de Harris 7% por 10 segundos. Após coloração e contracoloração, as lâminas lavadas em água corrente, desidratadas, diafanizadas e montadas com Entellam®.

### ***Análise imuno-histoquímica***

A análise da imunocoloração foi realizada de maneira quantitativa, tendo como parâmetro a presença da coloração marrom acastanhado no núcleo da célula tumoral. Para avaliação

microscópica, dez campos (*hot spots*) foram fotografados por corte histológico de cada padrão tumoral (cribiforme, sólido e tubular) em um aumento de 400x, utilizando um microscópio com câmera acoplada (Leica DM 2000®). As imagens foram exportadas para o *software* Image J® no qual as células positivas e negativas foram contadas para avaliação do percentual de imunomarcação. A média dos 30 campos por paciente foi utilizado como unidade amostral.

### ***Análise estatística***

Os dados clínicos foram expressos em forma de frequência absoluta e percentual e os dados de imunexpressão dos marcadores do complexo MMR foram expressos em forma de média e desvio-padrão, comparados entre padrões por meio dos testes de Wilcoxon e Friedman/Dunn e com as demais variáveis clínico-patológicas por meio dos testes de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis/Dunn. Foram construídas curvas ROC para estimativa de ponto de corte de cada marcador tendo como desfecho o óbito e após isso curvas de Kaplan-Meier de sobrevida global com todas as características clínico-patológicas e imuno-histoquímicas as quais foram comparadas utilizando o teste de Log-Rank Mantel-Cox. Adicionalmente, modelo de regressão de Cox (análise multivariada) foi utilizado com as variáveis significativas e os marcadores do complexo MMR para análise dos fatores preditores de prognóstico.

## **RESULTADOS**

### ***Caracterização clínico-patológica dos casos de CAC de glândulas salivares***

Nossa amostra foi composta por 24 pacientes com diagnóstico de Carcinoma Adenoide Cístico. Quanto a caracterização clínico patológica, a maioria dos pacientes foram do sexo feminino (15; 62,5%), com até 60 anos de idade (14; 58,3%) com uma média de idade de  $56,2 \pm 15,2$  variando de 15 a 82 anos, e todos foram submetidos a ressecção cirúrgica da lesão, sendo três pacientes (12,5%) submetidos ao procedimento de esvaziamento cervical. Dos tratamentos

adjuvantes realizados a 17 (70,8%) pacientes foram submetidos a radioterapia e cinco (20,8%) à quimioterapia adjuvante.

A localização mais comum da lesão foi em glândula parótida (11; 45,8%), seguido de glândulas salivares menores (9; 37,5%) e glândula submandibular (4;16,7%). A maior parte da amostra apresentava em seu perfil histológico a presença dos três padrões, sendo o padrão cribiforme (23; 95,8%) o padrão histológico mais frequente, seguido do sólido (23; 95,8%) e tubular (21; 87,5%). Dos padrões histológicos predominantes, o padrão predominantemente cribiforme foi o mais frequente (14; 58,3%), seguido pelo sólido (6; 25%) e tubular (4; 16,7%). Ainda sobre as características histológicas, 18 (75%) casos apresentaram IPN, 13 (54,2%) apresentaram cápsula e 13 (54,2%) apresentaram ILV.

Tabela 1. Perfil clínico-patológico de pacientes com CAC de glândulas salivares diagnosticados e tratados no HHJ/ICC. IPN: Invasão Perineural. ILV: Invasão linfovascular. RT: Radioterapia. QT: Quimioterapia. pT: estadiamento patológico T. pN: estadiamento patológico N.

	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>Idade (56,2±15,2; 15-82)</b>		
Até 60	14	58,3
>60	10	41,7
<b>Sexo</b>		
Feminino	15	62,5
Masculino	9	37,5
<b>Localização</b>		
Parótida	11	45,8
Submandibular	4	16,7
Gl. sal. menores	9	37,5
<b>Padrão predominante</b>		
Cribiforme	14	58,3
Tubular	4	16,7
Sólido	6	25,0
<b>Presença de padrão</b>		



Padrão cribiforme	23	95,8
Padrão tubular	21	87,5
Padrão sólido	23	95,8
<b>Características histológicas</b>		
Cápsula	13	54,2
IPN	18	75,0
ILV	13	54,2
<b>pT</b>		
1	1	5,9
2	8	47,1
3	2	11,8
4	6	35,3
<b>pN</b>		
0	15	88,2
1	0	0,0
2	2	11,8
<b>Ressecção cirúrgica</b>	24	100,0
<b>Esvaziamento cervical</b>	3	12,5
<b>RT adjuvante</b>	17	70,8
<b>QT adjuvante</b>	5	20,8

Dados expressos em forma de frequência absoluta e percentual.

A área sob a curva da imunexpressão média para MSH2 ( $p=0.779$ ;  $0.458\pm 0.150$  (0.164-0.753) não demonstrou capacidade preditiva significativa, mas a área sob a curva da imunexpressão média para MSH6 ( $p=0.002$ ,  $0.958\pm 0.043$  (IC95% = 0.650-1.000), MLH1 ( $p=0.049$ ,  $0.792\pm 0.114$  (IC95% = 0.548-1.000) e PMS2 ( $p=0.039$ ,  $0.806\pm 0.140$  (IC95% = 0.654-1.000) apresentaram capacidade preditiva significativa para a identificação do desfecho óbito. Os pontos de corte foram, respectivamente 25%, 85%, 65% e 75% células imunopositivas.

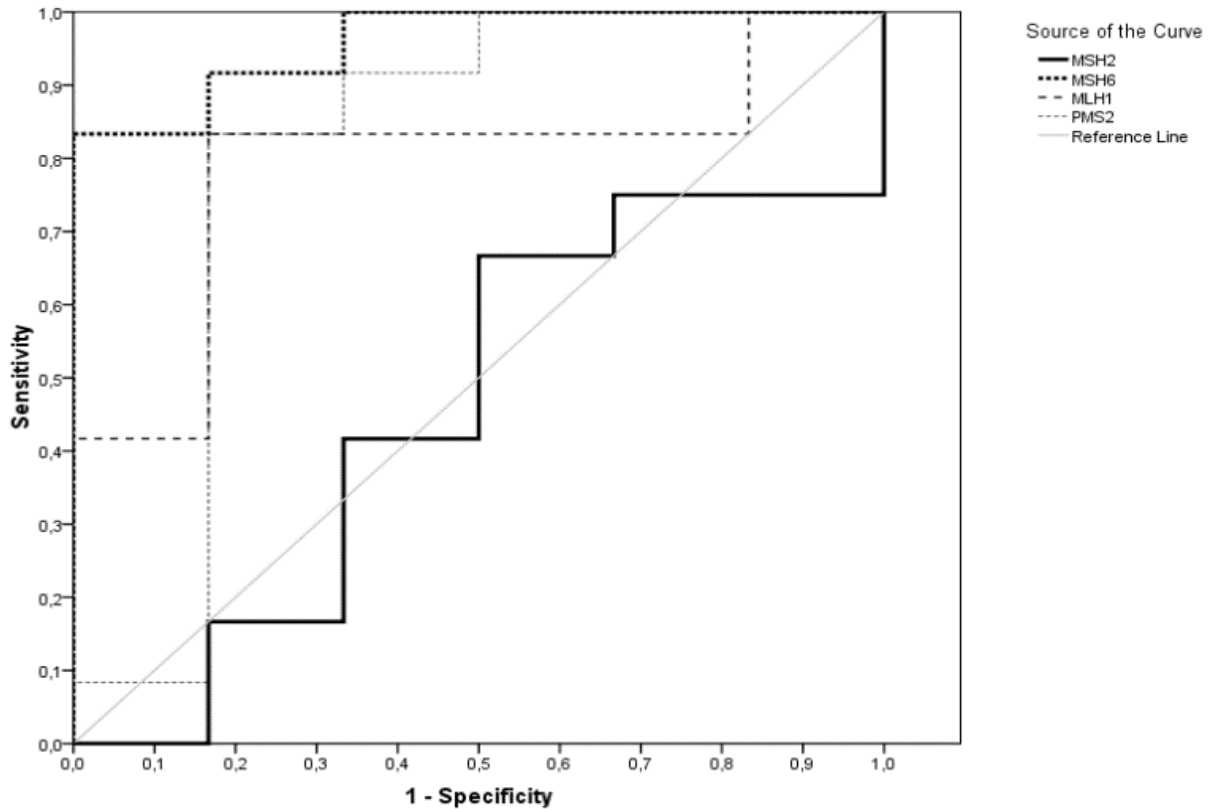


Figura 2. Curvas ROC para imunexpressão médias de MSH2, MSH6, PMS2 e MLH1 como preditores de prognóstico em carcinomas adenoides císticos das glândulas salivares.

***Perfil de imunexpressão para MutSa e MutLa e influência das características clínico-patológicas dos CAC de glândulas salivares***

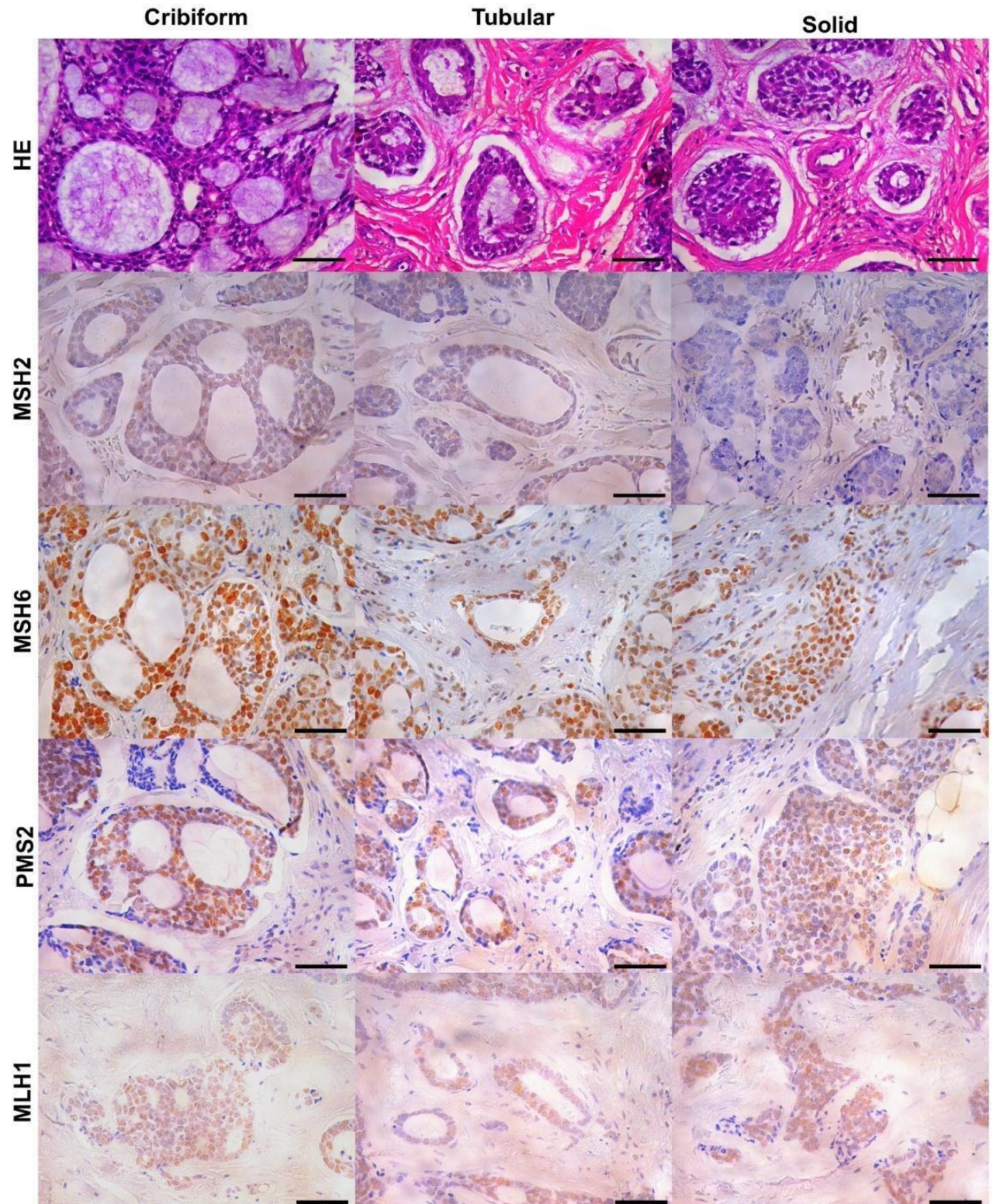
Na análise do complexo MutSa foi observada uma maior média na expressão do MSH6 quando comparado ao MSH2 ( $p < 0.001$ ), sendo a expressão do MSH6 significativamente maior nos três padrões histológicos: cribiforme ( $p = 0.001$ ), tubular ( $p < 0.001$ ) e sólido ( $p = 0.001$ ). Foi observada uma maior expressão do MSH6 no padrão sólido ( $p = 0.039$ ), quando comparado aos demais padrões.

No complexo MutL $\alpha$  foi observada uma maior média na expressão do PMS2 quando comparado ao MLH1 (p=0.039), apesar de a marcação ter tido diferença significativa somente no padrão cribiforme p=(0.011). Nos demais padrões, não houve diferença significativa entre MLH1 e PMS2 (tubular: p=0.196; sólido: p=0.078).

Tabela 2. Perfil de imunexpressão para as proteínas do complexo MMR em pacientes com CAC de glândulas salivares diagnosticados e tratados no HHJ/ICC.

	Padrão histológico			P-Valor <sup>a</sup>	Média
	Cribiforme	Tubular	Sólido		
<b>MutSa</b>					
MSH2	35.84±26.38	32.82±22.83	16.94±14.37*†	<b>0.039</b>	26.39±22.14
MSH6	79.71±24.08	77.69±23.11	78.65±24.05	0.742	79.59±22.87
<b>p-Valor<sup>b</sup></b>	<b>0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>0.001</b>		<b>&lt;0.001</b>
<b>MutL<math>\alpha</math></b>					
MLH1	62.01±23.56	64.94±33.30	59.53±27.91	0.463	63.12±25.67
PMS2	73.84±24.13	73.83±25.24	73.95±34.88	0.200	74.53±25.71
<b>p-Valor<sup>b</sup></b>	<b>0.011</b>	0.196	0.078		<b>0.039</b>

\*p<0,05, versus padrão cribiforme; p<0,05 versus padrão tubular; <sup>a</sup>Teste de Friedman/Dunn; <sup>b</sup>Teste de Wilcoxon (média±DP).



**Figura 3:** Perfil de imunexpressão para as proteínas do complexo MMR em pacientes com CAC de glândulas salivares diagnosticados e tratados no HHJ/ICC. Barra horizontal = 50 µm (400x); HE = hematoxilina-eosina; IHQ = Imuno-histoquímica (DAB-hematoxilina).

Não houve diferença significativa no perfil de imunexpressão para as proteínas do complexo MMR considerando as variáveis clínico patológicas estudadas (Tabela 3), porém, maior imunexpressão para MSH6 ( $p=0.019$ ), MLH1 ( $p=0.045$ ) e PMS2 ( $p=0.009$ ) foram observadas nos tumores que apresentavam cápsula.

Tabela 3. Influência do perfil clínico-patológico de pacientes com CAC de glândulas salivares diagnosticados e tratados no HHJ/ICC na imunexpressão das proteínas do complexo MMR.

	MutS $\alpha$		MutL $\alpha$	
	MSH2	MSH6	MLH1	PMS2
<b>Idade</b>				
Até 60	24.79±17.15	80.58±17.11	66.75±25.68	73.42±28.26
>60	28.79±29.27	78.26±30.02	57.67±26.38	76.42±22.64
<i>p-Valor<sup>a</sup></i>	0.703	0.824	0.453	0.814
<b>Sexo</b>				
Feminino	27.57±25.97	79.05±25.74	64.37±31.36	78.24±27.01
Masculino	24.19±13.92	80.46±18.88	60.80±10.49	66.48±22.71
<i>p-Valor<sup>a</sup></i>	0.754	0.895	0.775	0.369
<b>Localização</b>				
Parótida	21.86±19.26	71.13±29.80	53.63±15.53	61.36±19.04
Submandibular	37.25±19.74	85.62±16.16	62.05±43.08	67.80±45.23
Gl. sal. menores	26.01±27.43	88.22±7.09	73.15±23.10	89.40±7.76
<i>p-Valor<sup>b</sup></i>	0.536	0.279	0.331	0.084
<b>Padrão predominante</b>				
Cribiforme	30.02±23.20	74.58±29.51	65.87±20.85	76.11±21.49



Tubular	25.78±4.21	92.85±1.85	51.71±17.94	78.01±13.71
Sólido	18.03±26.68	79.93±12.32	66.30±45.17	67.16±45.32
<i>p-Valor<sup>b</sup></i>	0.620	0.412	0.635	0.824
<b>Cápsula</b>				
Não	23.64±24.16	67.71±28.43	50.58±26.76	57.50±31.25
Sim	29.14±20.84	90.39±6.98	73.38±20.54	86.90±10.30
<i>p-Valor<sup>a</sup></i>	0.592	<b>0.019</b>	<b>0.045</b>	<b>0.009</b>
<b>Invasão perineural</b>				
Não	20.59±15.76	86.49±9.83	79.11±10.70	89.41±5.24
Sim	28.87±24.47	76.83±26.15	57.79±27.20	69.21±28.13
<i>p-Valor<sup>a</sup></i>	0.458	0.396	0.109	0.135
<b>Invasão linfovascular</b>				
Não	22.58±20.75	79.66±30.59	66.58±24.22	87.67±12.95
Sim	28.44±23.40	79.54±16.43	60.81±27.40	66.86±28.57
<i>p-Valor<sup>a</sup></i>	0.586	0.991	0.636	0.089
<b>pT</b>				
pT1-2	30.23±16.56	89.78±5.54	59.46±20.81	75.94±19.37
pT3-4	37.16±31.11	78.78±34.84	72.64±26.01	87.63±14.50
<i>p-Valor<sup>a</sup></i>	0.618	0.392	0.296	0.240
<b>pN</b>				
N0	30.96±22.75	83.93±25.54	64.01±23.53	80.24±18.39
N+	63.03±0.00	89.27±8.47	88.06±0.00	90.10±0.00
<i>p-Valor<sup>a</sup></i>	0.203	0.780	0.341	0.615
<b>Esvaziamento cervical</b>				
Não	24.27±22.16	77.13±23.87	61.21±27.16	73.42±27.44
Sim	38.39±21.74	94.33±1.93	73.97±12.23	80.40±15.50
<i>p-Valor<sup>a</sup></i>	0.321	0.237	0.442	0.679
<b>Radioterapia adjuvante</b>				
Não	32.87±25.13	89.10±7.63	78.26±10.07	86.75±11.91
Sim	22.90±20.55	74.83±26.54	54.97±28.05	67.40±29.22

<i>p-Valor<sup>a</sup></i>	0.350	0.184	0.052	0.116
<b>Quimioterapia adjuvante</b>				
Não	25.43±23.91	82.91±15.27	61.50±25.92	76.19±27.15
Sim	30.21±14.89	65.45±43.74	69.61±27.29	68.28±21.46
<i>p-Valor<sup>a</sup></i>	0.710	0.175	0.586	0.599

\*p<0,05, <sup>a</sup>Teste Mann-Whitney; <sup>b</sup>Teste Kruskal-Wallis/Dunn (média±DP)

***Análise de sobrevida global: influência do perfil clínico-patológico e de imunoexpressão para MutSa e MutLa nos CAC de glândulas salivares***

A Sobrevida global mediana foi de 65 (IC95% = 45.66-84.34) meses e média de 79.63±14.32 (IC95% = 51.56-107.71) meses tendo 13 (54.2%) pacientes sobrevivido ao final do *follow up* desse estudo. Após associações, a presença do padrão cribiforme (p=0.002) e de capsula (p=0.025) foram diretamente associadas a melhor prognóstico. As demais variáveis não influenciaram significativamente nesse parâmetro.

Tabela 4. Influência do perfil clínico-patológico e da imunoexpressão das proteínas do complexo MMR na sobrevida global de pacientes com CAC de glândulas salivares diagnosticados e tratados no HHJ/ICC.

	SG-12 anos (%)	Sobrevida global (meses)		p- Valor
		Média±EPM (IC95%)	Mediana (IC95%)	
<b>Total</b>	<b>13 (54.2%)</b>	<b>79.63±14.32 (51.56-107.71)</b>	<b>65 (45.66-84.34)</b>	-
<b>Idade</b>				
Até 60	9 (64.3%)	92.66±20.99 (51.52-133.80)	NC	0.602
>60	4 (40.0%)	73.35±19.44 (35.25-111.45)	65 (7.98-122.02)	
<b>Sexo</b>				
Feminino	10 (66.7%)	89.60±19.49 (51.41-127.79)	71 (43.54-98.46)	0.269
Masculino	3 (33.3%)	68.00±22.86 (23.19-112.81)	65 (0.00-173.99)	

**Localização**

Parótida	3 (27.3%)	53.38±18.44 (17.24-89.52)	27 (0.00-69.85)	0.124
Submandibular	3 (75.0%)	57.00±0.00 (57.00-57.00)	57	
Gl. sal. menores	7 (77.8%)	112.37±23.47 (66.38-158.37)	NC	

**Padrão predominante**

Cribiforme	7 (50.0%)	62.94±18.13 (27.41-98.48)	65 (0.00-135.46)	0.184
Tubular	3 (75.0%)	140.00±0.00 (140.00-140.00)	140	
Sólido	3 (50.0%)	44.50±9.36 (26.15-62.85)	57	

**Padrão cribiforme**

Não	0 (0.0%)	7.00±0.00 (7.00-7.00)	7	<b>0.002</b>
Sim	13 (56.5%)	82.95±14.59 (54.36-111.54)	65 (45.90-84.10)	

**Padrão tubular**

Não	1 (33.3%)	49.67±24.63 (1.38-97.95)	71	0.662
Sim	12 (57.1%)	82.87±15.94 (51.62-114.12)	65 (33.79-96.21)	

**Padrão sólido**

Não	0 (0.0%)	71.00±0.00 (71.00-71.00)	71	0.906
Sim	13 (56.5%)	82.48±15.34 (52.41-112.56)	65 (32.87-97.13)	

**Cápsula**

Não	2 (18.2%)	52.46±16.24 (20.64-84.29)	42 (0.00-90.25)	<b>0.025</b>
Sim	11 (84.6%)	69.77±5.25 (59.49-80.05)	NC	

**Invasão perineural**

Não	5 (83.3%)	116.00±30.21 (56.79-175.21)	NC	0.160
Sim	8 (44.4%)	68.71±15.55 (38.23-99.18)	65 (9.99-120.01)	

**Invasão linfovascular**

Não	6 (54.5%)	84.63±21.14 (43.20-126.05)	71 (13.14-128.86)	0.595
Sim	7 (53.8%)	49.30±8.58 (32.48-66.12)	65 (6.90-123.10)	

**pT**

pT1-2	7 (77.8%)	64.75±8.23 (48.62-80.88)	NC	0.518
-------	-----------	--------------------------	----	-------



pT3-4	4 (50.0%)	75.89±27.44 (22.11-129.67)	71 (4.13-137.87)	
<b>pN</b>				
N0	10 (66.7%)	95.45±18.63 (58.94-131.97)	71 (28.02-113.98)	0.110
N+	1 (50.0%)	8.00±0.71 (6.61-9.39)	7	
<b>Esvaziamento cervical</b>				
Não	10 (47.6%)	NC	NC	0.229
Sim	3 (100.0%)	NC	NC	
<b>Radioterapia adjuvante</b>				
Não	6 (85.7%)	132.00±19.44 (93.89-170.11)	NC	0.094
Sim	7 (41.2%)	63.19±14.90 (33.98-92.40)	57 (27.16-86.84)	
<b>Quimioterapia adjuvante</b>				
Não	11 (57.9%)	88.36±16.77 (55.49-121.24)	140 (36.01-243.99)	0.783
Sim	2 (40.0%)	59.80±9.22 (41.73-77.87)	65 (9.76-120.24)	
<b>MSH2</b>				
Até 25%	6 (54.5%)	67.20±23.01 (22.11-112.29)	57 (26.43-87.57)	0.544
>25%	6 (66.7%)	57.56±9.90 (38.16-76.96)	NC	
<b>MSH6</b>				
Até 85%	1 (12.5%)	34.88±8.80 (17.63-52.12)	27 (0.00-71.35)	<b>0.003</b>
>85%	11 (84.6%)	135.69±11.22 (113.71-157.68)	140	
<b>MLH1</b>				
Até 65%	3 (33.3%)	70.50±21.21 (28.94-112.06)	57 (11.86-102.14)	0.081
>65%	10 (90.9%)	139.64±12.74 (114.66-164.61)	NC	
<b>PMS2</b>				
Até 75%	2 (28.6%)	41.00±10.86 (19.71-62.29)	27 (0.00-83.41)	<b>0.037</b>
>75%	11 (91.7%)	140.75±11.73 (117.76-163.74)	NC	

\*p<0,05, teste Log-Rank Mantel-Cox; EPM = erro padrão da média; IC95% = Intervalo de confiança 95%; NC = não computado. Médias e medianas de sobrevida global calculadas com base em curvas de Kaplan-Meier.

A alta expressão dos marcadores MSH6 ( $p=0.003$ ) e PMS2 ( $p=0.037$ ) foram significativamente associadas ao maior tempo médio de sobrevida global. Os demais marcadores não influenciaram significativamente nesse parâmetro.

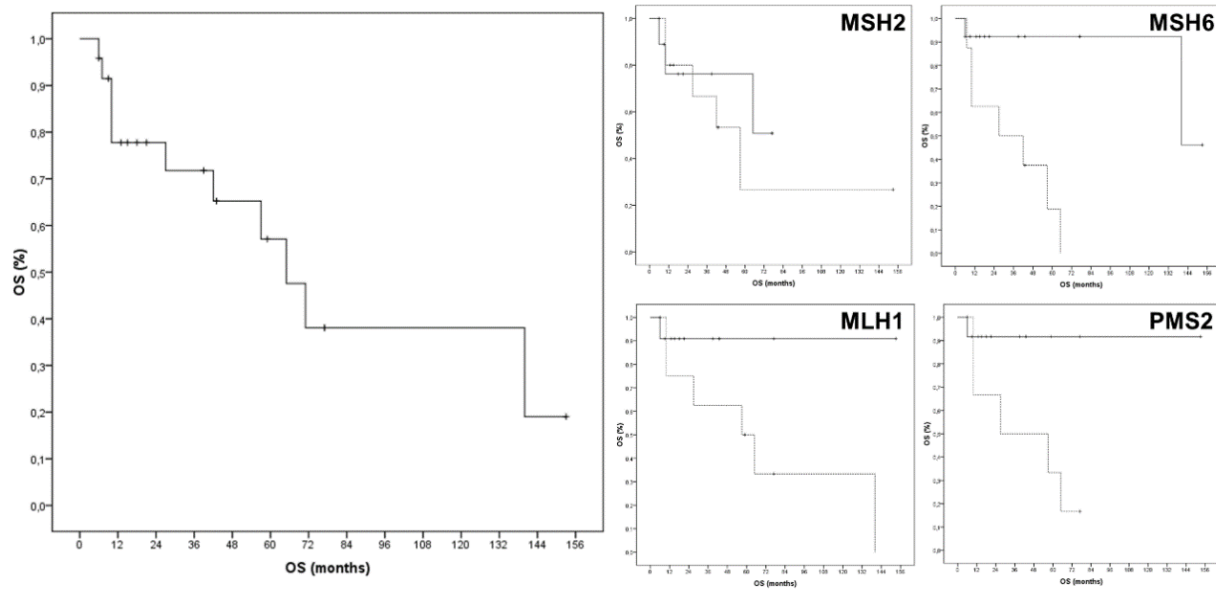


Figura 4. Curvas de Kaplan-Meier de sobrevida global em pacientes com CAC de glândulas salivares. Linha contínua = alta expressão; Linha tracejada = baixa expressão.

Em análise multivariada alta imunexpressão do MSH2 (p=0.039) e MSH6 (p=0.017) diminuiriam 0.91 (IC95% = 0.82-0.99) e 0.95 (IC95% = 0.90-0.99) vezes, respectivamente, o risco de morte dos pacientes.

Tabela 5: Análise multivariada de fatores prognósticos na sobrevida global de pacientes com CAC de glândulas salivares diagnosticados e tratados no HHJ/ICC

	<b>HR ajustada</b>	<b>CI95%</b>
<b>Sobrevida global</b>		
Cápsula	0.938	0.13 (0.02-7.77)
Padrão cribiforme	1.000	0.51 (0.04-3.12)
MSH2	<b>*0.039</b>	<b>0.91 (0.82-0.99)</b>
MSH6	<b>*0.017</b>	<b>0.95 (0.90-0.99)</b>
MLH1	0.989	1.00 (0.93-1.07)
PMS2	0.528	0.98 (0.93-1.04)

\*p<0,05, regressão de Cox; HR = hazard risk; CI95% = Intervalo de confiança 95% da HR ajustada.

## DISCUSSÃO

Alterações no complexo de proteínas que participam da via de reparo de incompatibilidades do DNA (MMR) são alvo de pesquisas para melhor compreensão da patogênese de inúmeras neoplasias malignas, sendo consideradas um importante preditor para avaliação do prognóstico de diversas lesões. Já está bem estabelecido na literatura a influência de alterações, seja a perda de expressão seja a superexpressão dessas proteínas que compõem a via MMR no câncer colorretal, de endométrio, mama, próstata, tireoide, dentre outros<sup>24</sup>. Todavia, o Carcinoma Adenoide Cístico (CAC) é considerado um tumor maligno raro, com características histopatológicas complexas que dificultam o seu correto diagnóstico e que contribuem para uma baixa taxa de sobrevida. Nesse contexto, avaliamos a imunexpressão das proteínas dos

complexos MutS $\alpha$  (hMSH2+hMSH6) e MutL $\alpha$  (hMLH1+hPMS2) em amostras de pacientes diagnosticados com CAC.

Em nosso estudo, observamos maior prevalência de pacientes de CAC do sexo feminino, com até 60 anos de idade e todos foram submetidos ao procedimento de ressecção cirúrgica da lesão, associado ou não à tratamento adjuvante, principalmente a radioterapia. Morita et al. 2021<sup>25</sup> em um estudo retrospectivo de 195 casos de CAC com perfil clínico patológico similar aos encontrados em nosso estudo. Essa neoplasia apresenta altas taxas de recorrência local e metástase à distância, sendo indicado por diversos autores como tratamento padrão ouro a ressecção cirúrgica da lesão, associada a radioterapia<sup>26,27</sup> e em nosso estudo observamos igualmente uma taxa de sobrevida em 12 anos de 54.2% com apenas 65 meses de sobrevida mediana.

O CAC pode se originar em localizações anatômicas diversas, sendo mais comum em glândulas salivares menores, principalmente na região do palato e, quando originado em glândulas salivares maiores, há uma maior prevalência na glândula submandibular seguida da parótida<sup>27,28,29</sup>. Esse achado diverge do encontrado em nosso estudo, onde o local de maior acometimento do tumor foi na glândula parótida, seguida de glândulas salivares menores e glândula submandibular.

A invasão perineural foi observada em três quartos da amostra estudada e esse parâmetro tem sido fortemente associado a presença de recidiva pior prognóstico<sup>13</sup>. A IPN ocorre quando as células tumorais invadem a bainha do nervo, podendo migrar ao longo dos axônios desse nervo, sendo, portanto, uma importante via de disseminação tumoral. Em tumores malignos de pâncreas<sup>30</sup>, cólon<sup>31</sup>, próstata<sup>32</sup> dentre outros, esse fenômeno é considerado como uma importante característica patológica associada ao mau prognóstico e a redução da sobrevida. Apesar de mais da metade da nossa amostra apresentar IPN, essa variável não foi significativamente associada ao prognóstico e sobrevida global dos nossos pacientes.

Com relação às demais características microscópicas, o padrão cribiforme e a presença de cápsula foram os únicos parâmetros histológicos que mostraram associação com a sobrevida global dos pacientes com CAC. Em outros tumores epiteliais malignos, como carcinoma de tireoide<sup>33,34</sup> e renal<sup>35</sup>, a presença de capsula é uma característica importante para definição de menores índices recidiva e melhor prognóstico do paciente. Já nos adenomas pleomórficos de

glândulas salivares as ausências ou fenestração capsulares são fortemente relacionadas as recidiva e transformação maligna nesses tumores benignos<sup>36,37</sup>.

No estudo imuno-histoquímico em nossa amostra demonstrou grande desbalanceio (razão entre a imunexpressão percentual dos heterodímeros) de MSH6 quando comparada a MSH2, em todos os padrões histológicos. Além disso, observamos uma menor expressão da hMSH2 no padrão sólido. do Amaral-Silva, GK et al. 2022<sup>38</sup> avaliando a expressão de MSH2, MSH3 e MSH6 em tumores benignos e malignos de glândulas salivares observou que o CAC apresenta aumento na expressão de MSH2 e redução na expressão de MSH3 e MSH6 em comparação a glândulas salivares sem alterações microscópicas. Esse desbalanceio foi igualmente em nosso estudo por meio da diferença significativa da imunexpressão dos pares de heterodímeros.

Analisando a interassociação entre as características microscópicas e a imunexpressão para as proteínas do MMR, pôde-se observar que a presença de padrão cribiforme e de cápsula foram associados a maior imunexpressão das proteínas do complexo MMR, com a presença de cápsula sendo associada a maior imunexpressão para MSH6, MLH1 e PMS2. A perda de cápsula é um preditor é um indicador de prognóstico de tumores de glândulas salivares<sup>36,37</sup> e o aumento da imunexpressão de MMR tem sido fortemente descrita como marcadores de mau prognóstico em tumores de cabeça e pescoço<sup>9,10</sup>.

Outro achado importante foi a perda de expressão de MSH2 no padrão sólido dos CAC avaliados. HE, Shizhi et al. 2017<sup>39</sup> avaliando 130 casos de CAC, observou pior sobrevida global e sobrevida livre de recidiva em CAC com padrão histológico predominantemente sólido, o mesmo padrão cuja perda de expressão de hMSH2 foi observada. Porém, em nossa análise multivariada, a baixa imuno-expressão de proteínas do complexo MMR foi o preditor mais fortemente associada a pior sobrevida global. Essas associações têm sido descritas em tumores de próstata<sup>40</sup>, pâncreas<sup>41</sup>, ovário<sup>42</sup>, mama<sup>43</sup> e em carcinomas uroteliais<sup>44</sup>. Interessantemente, todos esses tumores têm um componente glandular, mostrando a clara participação da via MMR na carcinogênese e progressão de inúmeros tumores malignos.

A maior limitação do nosso estudo é a quantidade limitada de casos, dado a raridade dos CAC de glândulas salivares, compensada por um longo *follow up*, e a impossibilidade de

realização de instabilidade microssatélite por PCR. No entanto, estudos demonstram que a perda imuno-histoquímica para as proteínas do complexo MMR apresenta sensibilidade adequada na predição de instabilidade microssatélite<sup>45</sup>.

Porque foi impossibilitado o pcr?

## CONCLUSÃO

Apesar dessas limitações, esse estudo mostrou que a perda de expressão de MSH2 está associada a um padrão histológico mais agressivo do CAC de glândulas salivares (padrão sólido) e que a perda de expressão de proteínas do complexo MMR está associada a menor sobrevida global nesses pacientes.

## REFERÊNCIAS

1. Reinhardt HC, Schumacher B. The p53 network: cellular and systemic DNA damage responses in aging and cancer. *Trends Genet.* 2012;28(3):128-136. doi:10.1016/j.tig.2011.12.002.
2. Pećina-Šlaus N, Kafka A, Salamon I, Bukovac A. Mismatch Repair Pathway, Genome Stability and Cancer. *Front Mol Biosci.* 2020;7:122. Published 2020 Jun 26. doi:10.3389/fmolb.2020.00122
3. Jiang M, Jia K, Wang L, et al. Alterations of DNA damage response pathway: Biomarker and therapeutic strategy for cancer immunotherapy. *Acta Pharm Sin B.* 2021;11(10):2983-2994. doi:10.1016/j.apsb.2021.01.003
4. Cilona M, Locatello LG, Novelli L, Gallo O. The Mismatch Repair System (MMR) in Head and Neck Carcinogenesis and Its Role in Modulating the Response to Immunotherapy: A Critical Review. *Cancers (Basel).* 2020;12(10):3006. Published 2020 Oct 16. doi:10.3390/cancers12103006
5. Vilar E, Gruber SB. Microsatellite instability in colorectal cancer-the stable evidence. *Nat Rev Clin Oncol.* 2010;7(3):153-162. doi:10.1038/nrclinonc.2009.237

6. Fassan M, Scarpa A, Remo A, et al. Current prognostic and predictive biomarkers for gastrointestinal tumors in clinical practice. *Pathologica*. 2020;112(3):248-259. doi:10.32074/1591-951X-158
7. Li K, Luo H, Huang L, Luo H, Zhu X. Microsatellite instability: a review of what the oncologist should know. *Cancer Cell Int*. 2020;20:16. Published 2020 Jan 13. doi:10.1186/s12935-019-1091-8
8. Evrard C, Tachon G, Randrian V, Karayan-Tapon L, Tougeron D. Microsatellite Instability: Diagnosis, Heterogeneity, Discordance, and Clinical Impact in Colorectal Cancer. *Cancers (Basel)*. 2019;11(10):1567. Published 2019 Oct 15. doi:10.3390/cancers11101567
9. Decker JM, Filho OV, Freitas MO, et al. PMS2: a potential prognostic protein marker in oral squamous cell carcinoma. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2021;26(4):e451-e458. Published 2021 Jul 1. doi:10.4317/medoral.24303
10. de Oliveira Filho OV, Dantas TS, de Lima Silva-Fernandes IJ, et al. Mismatch Repair Proteins in Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma: A Retrospective Observational Study. *Head Neck Pathol*. 2021;15(3):803-816. doi:10.1007/s12105-021-01286-9
11. Castrilli G, Fabiano A, La Torre G, et al. Expression of hMSH2 and hMLH1 proteins of the human DNA mismatch repair system in salivary gland tumors. *J Oral Pathol Med*. 2002;31(4):234-238. doi:10.1034/j.1600-0714.2002.310407.x
12. Singaraju M, Singaraju S, Patel S, Sharma S. Adenoid cystic carcinoma: A case report and review of literature. *J Oral Maxillofac Pathol*. 2022;26(Suppl 1):S26-S29. doi:10.4103/jomfp.jomfp\_458\_20
13. Dantas AN, Morais EF, Macedo RA, Tinôco JM, Morais Mde L. Clinicopathological characteristics and perineural invasion in adenoid cystic carcinoma: a systematic review. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2015;81(3):329-335. doi:10.1016/j.bjorl.2014.07.016
14. Tasoulas J, Divaris K, Theocharis S, et al. Impact of Tumor Site and Adjuvant Radiotherapy on Survival of Patients with Adenoid Cystic Carcinoma: A SEER Database Analysis. *Cancers (Basel)*. 2021;13(4):589. Published 2021 Feb 3. doi:10.3390/cancers13040589
15. Sahara S, Herzog AE, Nör JE. Systemic therapies for salivary gland adenoid cystic carcinoma. *Am J Cancer Res*. 2021;11(9):4092-4110. Published 2021 Sep 15.

16. Cantù G. Adenoid cystic carcinoma. An indolent but aggressive tumour. Part A: from aetiopathogenesis to diagnosis. *Acta Otorhinolaryngol Ital.* 2021;41(3):206-214. doi:10.14639/0392-100X-N1379
17. Suton P, Luksic I. Analysis of the clinicopathological characteristics and prognosis of adenoid cystic carcinoma of the intraoral minor salivary glands: a retrospective study of 40 cases. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2021;50(8):1120-1121. doi:10.1016/j.ijom.2020.11.009
18. da Cruz Perez DE, de Abreu Alves F, Nobuko Nishimoto I, de Almeida OP, Kowalski LP. Prognostic factors in head and neck adenoid cystic carcinoma. *Oral Oncol.* 2006;42(2):139-146. doi:10.1016/j.oraloncology.2005.06.024
19. Malta, Monica, et al. "Iniciativa STROBE: subsídios para a comunicação de estudos observacionais." *Revista de Saúde Pública* 44 (2010): 559-565.
20. Seethala RR, Stenman G. Update from the 4th Edition of the World Health Organization Classification of Head and Neck Tumours: Tumors of the Salivary Gland. *Head Neck Pathol.* 2017;11(1):55-67. doi:10.1007/s12105-017-0795-0
21. Facina, Taís. "Estimativa 2014–incidência de câncer no brasil." *Revista Brasileira de Cancerologia* 60.1 (2014): 63-63.
22. Lydiatt WM, Patel SG, O'Sullivan B, et al. Head and Neck cancers-major changes in the American Joint Committee on cancer eighth edition cancer staging manual. *CA Cancer J Clin.* 2017;67(2):122-137. doi:10.3322/caac.21389
23. Dantas TS, de Barros Silva PG, Sousa EF, et al. Influence of Educational Level, Stage, and Histological Type on Survival of Oral Cancer in a Brazilian Population: A Retrospective Study of 10 Years Observation. *Medicine (Baltimore).* 2016;95(3):e2314. doi:10.1097/MD.0000000000002314
24. Amaral-Silva GK, Martins MD, Pontes HA, et al. Mismatch repair system proteins in oral benign and malignant lesions. *J Oral Pathol Med.* 2017;46(4):241-245. doi:10.1111/jop.12484
25. Morita N, Murase T, Ueda K, et al. Pathological evaluation of tumor grade for salivary adenoid cystic carcinoma: A proposal of an objective grading system. *Cancer Sci.* 2021;112(3):1184-1195. doi:10.1111/cas.14790



26. Choi Y, Kim SB, Yoon DH, Kim JY, Lee SW, Cho KJ. Clinical characteristics and prognostic factors of adenoid cystic carcinoma of the head and neck. *Laryngoscope*. 2013;123(6):1430-1438. doi:10.1002/lary.23976
27. He JF, Lin Y, Wang B, Zhu WY, Wei D, Zhu HY. Analysis of the clinicopathological characteristics and prognosis of adenoid cystic carcinoma of the intraoral minor salivary glands: a retrospective study of 40 cases. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2021;50(4):444-450. doi:10.1016/j.ijom.2020.07.031
28. Coca-Pelaz A, Rodrigo JP, Bradley PJ, et al. Adenoid cystic carcinoma of the head and neck--An update. *Oral Oncol*. 2015;51(7):652-661. doi:10.1016/j.oraloncology.2015.04.005
29. Shum JW, Chatzistefanou I, Qaisi M, Lubek JE, Ord RA. Adenoid cystic carcinoma of the minor salivary glands: a retrospective series of 29 cases and review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2016;121(3):210-214. doi:10.1016/j.oooo.2015.10.003
30. Lee G, Sung YN, Kim SJ, et al. Large tumor size, lymphovascular invasion, and synchronous metastasis are associated with the recurrence of solid pseudopapillary neoplasms of the pancreas. *HPB (Oxford)*. 2021;23(2):220-230. doi:10.1016/j.hpb.2020.05.015
31. Chen K, Collins G, Wang H, Toh JWT. Pathological Features and Prognostication in Colorectal Cancer. *Curr Oncol*. 2021;28(6):5356-5383. Published 2021 Dec 13. doi:10.3390/curroncol28060447
32. Niu Y, Förster S, Muders M. The Role of Perineural Invasion in Prostate Cancer and Its Prognostic Significance. *Cancers (Basel)*. 2022;14(17):4065. Published 2022 Aug 23. doi:10.3390/cancers14174065
33. Giani C, Torregrossa L, Piaggi P, et al. Outcome of classical (CVPTC) and follicular (FVPTC) variants of papillary thyroid cancer: 15 years of follow-up. *Endocrine*. 2020;68(3):607-616. doi:10.1007/s12020-020-02229-0
34. Giani C, Torregrossa L, Ramone T, et al. Whole Tumor Capsule Is Prognostic of Very Good Outcome in the Classical Variant of Papillary Thyroid Cancer. *J Clin Endocrinol Metab*. 2021;106(10):e4072-e4083. doi:10.1210/clinem/dgab396

35. Minervini A, Rosaria Raspollini M, Tuccio A, et al. Pathological characteristics and prognostic effect of peritumoral capsule penetration in renal cell carcinoma after tumor enucleation. *Urol Oncol.* 2014;32(1):50.e15-50.e5.0E22. doi:10.1016/j.urolonc.2013.07.018
36. Malard O, Wagner R, Joubert M, et al. Prognostic factors for secondary recurrence of pleomorphic adenoma: a 20-year, retrospective study. *J Laryngol Otol.* 2013;127(9):902-907. doi:10.1017/S0022215113001801
37. Lai CC, Lin CT, Lin YH. Cellularity and its relation with capsular characteristics as an influencing factor for operative strategies of pleomorphic adenoma. La celularidad y su relación con las características capsulares como factor influyente en las estrategias operatorias del adenoma pleomorfo. *Cir Cir.* 2022;90(4):439-446. doi:10.24875/CIRU.21000626
38. Amaral-Silva GK, Dias LM, Mariz BA, et al. MutSa expression predicts a lower disease-free survival in malignant salivary gland tumors: an immunohistochemical study. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2022;27(2):e164-e173. Published 2022 Mar 1. doi:10.4317/medoral.25138
39. He S, Li P, Zhong Q, et al. Clinicopathologic and prognostic factors in adenoid cystic carcinoma of head and neck minor salivary glands: A clinical analysis of 130 cases. *Am J Otolaryngol.* 2017;38(2):157-162. doi:10.1016/j.amjoto.2016.11.014
40. Wilczak W, Rashed S, Hube-Magg C, et al. Up-regulation of mismatch repair genes MSH6, PMS2 and MLH1 parallels development of genetic instability and is linked to tumor aggressiveness and early PSA recurrence in prostate cancer. *Carcinogenesis.* 2017;38(1):19-27. doi:10.1093/carcin/bgw116
41. Mousavi M, Goodarzi MT, Kassae SM, Jafari Heidarloo A, Fathi M. Clinicopathological, Immunohistochemical, and PMS2 Gene Expression Profiling of Patients with Sporadic Colorectal Cancer. *Arch Iran Med.* 2021;24(2):86-93. Published 2021 Feb 1. doi:10.34172/aim.2021.13
42. Leskela S, Romero I, Cristobal E, et al. Mismatch Repair Deficiency in Ovarian Carcinoma: Frequency, Causes, and Consequences. *Am J Surg Pathol.* 2020;44(5):649-656. doi:10.1097/PAS.0000000000001432

43. Malik SS, Masood N, Asif M, Ahmed P, Shah ZU, Khan JS. Expressional analysis of MLH1 and MSH2 in breast cancer. *Curr Probl Cancer*. 2019;43(2):97-105. doi:10.1016/j.currproblcancer.2018.08.001
44. Schneider B, Glass Ä, Jagdmann S, et al. Loss of Mismatch-repair Protein Expression and Microsatellite Instability in Upper Tract Urothelial Carcinoma and Clinicopathologic Implications. *Clin Genitourin Cancer*. 2020;18(5):e563-e572. doi:10.1016/j.clgc.2020.03.006
45. Guyot D'Asnières De Salins A, Tachon G, Cohen R, et al. Discordance between immunochemistry of mismatch repair proteins and molecular testing of microsatellite instability in colorectal cancer. *ESMO Open*. 2021;6(3):100120. doi:10.1016/j.esmoop.2021.100120

## **5. CONCLUSÃO GERAL**

Esse estudo mostrou que a perda de expressão de MSH2 está associada a um padrão histológico mais agressivo do CAC de glândulas salivares (padrão sólido) e que a perda de expressão de proteínas do complexo MMR está associada a menor sobrevida global nesses pacientes.

## 6. REFERÊNCIAS

AMARAL-SILVA, Gleyson Kleber do et al. Mismatch repair system proteins in oral benign and malignant lesions. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, v. 46, n. 4, p. 241-245, 2017.

CANTÙ, Giulio. Adenoid cystic carcinoma. An indolent but aggressive tumour. Part A: from aetiopathogenesis to diagnosis. **Acta Otorhinolaryngologica Italica**, v. 41, n. 3, p. 206, 2021.

CANTÙ, Giulio. Adenoid cystic carcinoma. An indolent but aggressive tumour. Part A: from aetiopathogenesis to diagnosis. **Acta Otorhinolaryngologica Italica**, v. 41, n. 3, p. 206, 2021.

CASTRILLI, Graziella *et al.* Expression of hMSH2 and hMLH1 proteins of the human DNA mismatch repair system in salivary gland tumors. **Journal of oral pathology & medicine**, v. 31, n. 4, p. 234-238, 2002.

CHANG, Chin-Fang et al. Adenoid cystic carcinoma of head and neck: A retrospective clinical analysis of a single institution. **Auris Nasus Larynx**, v. 45, n. 4, p. 831-837, 2018.

CHEN, Kabytto et al. Pathological Features and Prognostication in Colorectal Cancer. **Current Oncology**, v. 28, n. 6, p. 5356-5383, 2021.

CHOI, Yunsuk et al. Clinical characteristics and prognostic factors of adenoid cystic carcinoma of the head and neck. **The Laryngoscope**, v. 123, n. 6, p. 1430-1438, 2013.

CILONA, Maria et al. The mismatch repair system (MMR) in head and neck carcinogenesis and its role in modulating the response to immunotherapy: a critical review. **Cancers**, v. 12, n. 10, p. 3006, 2020.

CILONA, Maria et al. The mismatch repair system (MMR) in head and neck carcinogenesis and its role in modulating the response to immunotherapy: a critical review. **Cancers**, v. 12, n. 10, p. 3006, 2020.

COCA-PELAZ, Andrés et al. Adenoid cystic carcinoma of the head and neck—An update. **Oral oncology**, v. 51, n. 7, p. 652-661, 2015.

COCA-PELAZ, Andrés et al. Adenoid cystic carcinoma of the head and neck—An update. **Oral oncology**, v. 51, n. 7, p. 652-661, 2015.

DA CRUZ PEREZ, Danyel Elias et al. Prognostic factors in head and neck adenoid cystic carcinoma. **Oral oncology**, v. 42, n. 2, p. 139-146, 2006.

DA CRUZ PEREZ, Danyel Elias et al. Prognostic factors in head and neck adenoid cystic carcinoma. **Oral oncology**, v. 42, n. 2, p. 139-146, 2006.

DANTAS, Afonso Nóbrega et al. Clinicopathological characteristics and perineural invasion in adenoid cystic carcinoma: a systematic review. **Brazilian journal of otorhinolaryngology**, v. 81, p. 329-335, 2015.

DANTAS, Afonso Nóbrega et al. Clinicopathological characteristics and perineural invasion in adenoid cystic carcinoma: a systematic review. **Brazilian journal of otorhinolaryngology**, v. 81, p. 329-335, 2015.

DANTAS, Thinali Sousa *et al.* Influence of educational level, stage, and histological type on survival of oral cancer in a Brazilian population: a retrospective study of 10 years observation. **Medicine**, v. 95, n. 3, 2016.

DE OLIVEIRA FILHO, Osias Vieira et al. Mismatch repair proteins in oropharyngeal squamous cell carcinoma: A retrospective observational study. **Head and Neck Pathology**, v. 15, n. 3, p. 803-816, 2021.

DE OLIVEIRA FILHO, Osias Vieira et al. Mismatch repair proteins in oropharyngeal squamous cell carcinoma: A retrospective observational study. **Head and Neck Pathology**, v. 15, n. 3, p. 803-816, 2021.

DECKER, Jordana Medeiros Lira et al. PMS2: a potential prognostic protein marker in oral squamous cell carcinoma. **Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal**, v. 26, n. 4, p. e451, 2021.

DECKER, Jordana Medeiros Lira et al. PMS2: a potential prognostic protein marker in oral squamous cell carcinoma. **Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal**, v. 26, n. 4, p. e451, 2021.

DILLON, Patrick M. et al. Adenoid cystic carcinoma: a review of recent advances, molecular targets, and clinical trials. **Head & neck**, v. 38, n. 4, p. 620-627, 2016.

DO AMARAL-SILVA, Gleyson Kleber et al. MutS $\alpha$  expression predicts a lower disease-free survival in malignant salivary gland tumors: an immunohistochemical study. **Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal**, v. 27, n. 2, p. e164, 2022.

EVRARD, Camille et al. Microsatellite instability: diagnosis, heterogeneity, discordance, and clinical impact in colorectal cancer. **Cancers**, v. 11, n. 10, p. 1567, 2019.

EVRARD, Camille et al. Microsatellite instability: diagnosis, heterogeneity, discordance, and clinical impact in colorectal cancer. **Cancers**, v. 11, n. 10, p. 1567, 2019.

FACINA, Taís. Estimativa 2014–incidência de câncer no brasil. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 60, n. 1, p. 63-63, 2014.

FASSAN, Matteo et al. Current prognostic and predictive biomarkers for gastrointestinal tumors in clinical practice. **Pathologica**, v. 112, n. 3, p. 248, 2020.

FASSAN, Matteo et al. Current prognostic and predictive biomarkers for gastrointestinal tumors in clinical practice. **Pathologica**, v. 112, n. 3, p. 248, 2020.

FERRAROTTO, Renata et al. Proteogenomic analysis of salivary adenoid cystic carcinomas defines molecular subtypes and identifies therapeutic targets. **Clinical Cancer Research**, v. 27, n. 3, p. 852-864, 2021.

GIANI, C. et al. Outcome of classical (CVPTC) and follicular (FVPTC) variants of papillary thyroid cancer: 15 years of follow-up. **Endocrine**, v. 68, n. 3, p. 607-616, 2020.

GIANI, Carlotta et al. Whole Tumor Capsule Is Prognostic of Very Good Outcome in the Classical Variant of Papillary Thyroid Cancer. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 106, n. 10, p. e4072-e4083, 2021.

DE SALINS, A. Guyot D.'Asnières et al. Discordance between immunochemistry of mismatch repair proteins and molecular testing of microsatellite instability in colorectal cancer. **ESMO open**, v. 6, n. 3, p. 100120, 2021.

HE, J.-f et al. Analysis of the clinicopathological characteristics and prognosis of adenoid cystic carcinoma of the intraoral minor salivary glands: a retrospective study of 40 cases. **International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 50, n. 4, p. 444-450, 2021.

HE, Shizhi et al. Clinicopathologic and prognostic factors in adenoid cystic carcinoma of head and neck minor salivary glands: a clinical analysis of 130 cases. **American journal of otolaryngology**, v. 38, n. 2, p. 157-162, 2017.

HE, Yuchen et al. The role of DNA mismatch repair in immunotherapy of human cancer. **International Journal of Biological Sciences**, v. 18, n. 7, p. 2821, 2022.

IKAWA, Hiroaki et al. Prognostic factors of adenoid cystic carcinoma of the head and neck in carbon-ion radiotherapy: The impact of histological subtypes. **Radiotherapy and oncology**, v. 123, n. 3, p. 387-393, 2017.

JIANG, Minlin et al. Alterations of DNA damage response pathway: Biomarker and therapeutic strategy for cancer immunotherapy. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 11, n. 10, p. 2983-2994, 2021.

JIANG, Minlin et al. Alterations of DNA damage response pathway: Biomarker and therapeutic strategy for cancer immunotherapy. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 11, n. 10, p. 2983-2994, 2021.

LAI, Chun-Cheng; LIN, Che-Tong; LIN, Yun-Ho. Cellularity and its relation with capsular characteristics as an influencing factor for operative strategies of pleomorphic adenoma. **Cirugía y cirujanos**, v. 90, n. 4, p. 439-446, 2022.



LEE, Goeun et al. Large tumor size, lymphovascular invasion, and synchronous metastasis are associated with the recurrence of solid pseudopapillary neoplasms of the pancreas. **HPB**, v. 23, n. 2, p. 220-230, 2021.

LESKELA, Susanna et al. Mismatch repair deficiency in ovarian carcinoma: frequency, causes, and consequences. **The American Journal of Surgical Pathology**, v. 44, n. 5, p. 649-656, 2020.

LI, Kai et al. Microsatellite instability: a review of what the oncologist should know. **Cancer cell international**, v. 20, n. 1, p. 1-13, 2020.

LI, Kai et al. Microsatellite instability: a review of what the oncologist should know. **Cancer cell international**, v. 20, n. 1, p. 1-13, 2020.

LYDIATT, William M. *et al.* Head and neck cancers—major changes in the American Joint Committee on cancer eighth edition cancer staging manual. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 67, n. 2, p. 122-137, 2017.

MALARD, O. et al. Prognostic factors for secondary recurrence of pleomorphic adenoma: a 20-year, retrospective study. **The Journal of Laryngology & Otology**, v. 127, n. 9, p. 902-907, 2013.

MALIK, Saima Shakil et al. Expressional analysis of MLH1 and MSH2 in breast cancer. **Current Problems in Cancer**, v. 43, n. 2, p. 97-105, 2019.

MALTA, Monica *et al.* Iniciativa STROBE: subsídios para a comunicação de estudos observacionais. **Revista de Saúde Pública**, v. 44, p. 559-565, 2010.

MIHAYLOVA, Valia T. et al. Decreased expression of the DNA mismatch repair gene Mlh1 under hypoxic stress in mammalian cells. **Molecular and cellular biology**, v. 23, n. 9, p. 3265-3273, 2003.

MINERVINI, Andrea et al. Pathological characteristics and prognostic effect of peritumoral capsule penetration in renal cell carcinoma after tumor enucleation. In: **Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations**. Elsevier, 2014. p. 50. e15-50. e22.

MORITA, Naruhiko et al. Pathological evaluation of tumor grade for salivary adenoid cystic carcinoma: A proposal of an objective grading system. **Cancer science**, v. 112, n. 3, p. 1184-1195, 2021.

MOUSAVI, Maryam et al. Clinicopathological, immunohistochemical, and PMS2 gene expression profiling of patients with sporadic colorectal cancer. **Archives of Iranian Medicine**, v. 24, n. 2, p. 86-93, 2021.

NIU, Yuequn; FÖRSTER, Sarah; MUDERS, Michael. The Role of Perineural Invasion in Prostate Cancer and Its Prognostic Significance. **Cancers**, v. 14, n. 17, p. 4065, 2022.

PEĆINA-ŠLAUS, Nives et al. Mismatch repair pathway, genome stability and cancer. **Frontiers in molecular biosciences**, p. 122, 2020.

PEĆINA-ŠLAUS, Nives et al. Mismatch repair pathway, genome stability and cancer. **Frontiers in molecular biosciences**, p. 122, 2020.

REINHARDT, H. Christian; SCHUMACHER, Björn. The p53 network: cellular and systemic DNA damage responses in aging and cancer. **Trends in Genetics**, v. 28, n. 3, p. 128-136, 2012.

REINHARDT, H. Christian; SCHUMACHER, Björn. The p53 network: cellular and systemic DNA damage responses in aging and cancer. **Trends in Genetics**, v. 28, n. 3, p. 128-136, 2012.

SAHARA, Sosuke; HERZOG, Alexandra E.; NÖR, Jacques E. Systemic therapies for salivary gland adenoid cystic carcinoma. **American Journal of Cancer Research**, v. 11, n. 9, p. 4092, 2021.

SAHARA, Sosuke; HERZOG, Alexandra E.; NÖR, Jacques E. Systemic therapies for salivary gland adenoid cystic carcinoma. **American Journal of Cancer Research**, v. 11, n. 9, p. 4092, 2021.

SCHNEIDER, Björn et al. Loss of mismatch-repair protein expression and microsatellite instability in upper tract urothelial carcinoma and clinicopathologic implications. **Clinical Genitourinary Cancer**, v. 18, n. 5, p. e563-e572, 2020.

SEETHALA, Raja R.; STENMAN, Göran. Update from the 4th edition of the World Health Organization classification of head and neck tumours: tumors of the salivary gland. **Head and neck pathology**, v. 11, n. 1, p. 55-67, 2017.

SHUM, Jonathan W. et al. Adenoid cystic carcinoma of the minor salivary glands: a retrospective series of 29 cases and review of the literature. **Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology**, v. 121, n. 3, p. 210-214, 2016.

SINGARAJU, Medhini et al. Adenoid cystic carcinoma: A case report and review of literature. **Journal of Oral and Maxillofacial Pathology: JOMFP**, v. 26, n. Suppl 1, p. S26, 2022.

SINGARAJU, Medhini et al. Adenoid cystic carcinoma: A case report and review of literature. **Journal of Oral and Maxillofacial Pathology: JOMFP**, v. 26, n. Suppl 1, p. S26, 2022.

SUTON, Petar; LUKSIC, I. Analysis of the clinicopathological characteristics and prognosis of adenoid cystic carcinoma of the intraoral minor salivary glands: a retrospective study of 40 cases. **International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 50, n. 8, p. 1120-1121, 2021.

SUTON, Petar; LUKSIC, I. Analysis of the clinicopathological characteristics and prognosis of adenoid cystic carcinoma of the intraoral minor salivary glands: a retrospective study of 40 cases. **International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 50, n. 8, p. 1120-1121, 2021.

TASOULAS, Jason et al. Impact of tumor site and adjuvant radiotherapy on survival of patients with adenoid cystic carcinoma: a SEER database analysis. **Cancers**, v. 13, n. 4, p. 589, 2021.

TASOULAS, Jason et al. Impact of tumor site and adjuvant radiotherapy on survival of patients with adenoid cystic carcinoma: a SEER database analysis. **Cancers**, v. 13, n. 4, p. 589, 2021.

UEDA, Kaori et al. Central pathology review of salivary gland adenoid cystic carcinoma. **Head & neck**, v. 42, n. 8, p. 1721-1727, 2020

VILAR, Eduardo; GRUBER, Stephen B. Microsatellite instability in colorectal cancer—the stable evidence. **Nature reviews Clinical oncology**, v. 7, n. 3, p. 153-162, 2010.

VILAR, Eduardo; GRUBER, Stephen B. Microsatellite instability in colorectal cancer—the stable evidence. **Nature reviews Clinical oncology**, v. 7, n. 3, p. 153-162, 2010.

WILCZAK, Waldemar et al. Up-regulation of mismatch repair genes MSH6, PMS2 and MLH1 parallels development of genetic instability and is linked to tumor aggressiveness and early PSA recurrence in prostate cancer. **Carcinogenesis**, v. 38, n. 1, p. 19-27, 2017.

## 7. ANEXO 1



INSTITUTO DO CÂNCER DO  
CEARA - ICC



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Influência da imunexpressão de proteínas de reparo do DNA no prognóstico e sobrevida de pacientes com câncer de glândulas salivares

**Pesquisador:** Paulo Goberlânio de Barros Silva

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 72877117.0.0000.5528

**Instituição Proponente:** Instituto do Cancer do Ceara

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 2.251.564

#### Apresentação do Projeto:

Estudo quantitativo, observacional de corte transversal, no qual serão selecionados os dados dos pacientes que se submeteram, no período de 01 de janeiro de 2008 a 31 de dezembro de 2014, a cirurgia de ressecção de cânceres de glândulas salivares sem tratamentos neoadjuvantes, no Hospital Haroldo Juaçaba/Instituto do Câncer do Ceará, com estimativa de inclusão de 80 pacientes (HHJ/ICC)

#### Objetivo da Pesquisa:

Avaliar a influência da imunexpressão das proteínas do reparo de DNA no prognóstico e sobrevida de pacientes com cânceres de glândulas salivares por imunohistoquímica ( MSH2, MSH6, MLH1, PMS2, PCNA e RFC) e marcadores de proliferação celular (ciclina D1 e Ki-67) e relação com sobrevida e fatores prognósticos

#### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos relacionados ao manuseio de informações confidenciais do paciente; benefícios através do conhecimento científico agregado

#### Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa trará conhecimento científico acerca das neoplasias de glândula salivar em um centro

**Endereço:** PAPI JÚNIOR, 1222

**Bairro:** RODOLFO TEÓFILO

**CEP:** 60.430-230

**UF:** CE **Município:** FORTALEZA

**Telefone:** (85)3288-4653

**Fax:** (85)3228-4653

**E-mail:** eco@icc.org.br



Continuação do Parecer: 2.251.564

referência em oncologia no Nordeste Brasileiro

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Termos presentes e adequados

**Recomendações:**

Sem recomendações

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Aprovado

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Projeto aprovado pelo CEP, sem quaisquer pendências, acompanhando o parecer relatado.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_973152.pdf	04/08/2017 13:20:38		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.docx	04/08/2017 13:19:13	Paulo Goberlânio de Barros Silva	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TFD.pdf	04/08/2017 13:18:37	Paulo Goberlânio de Barros Silva	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Parecer.pdf	04/08/2017 13:18:03	Paulo Goberlânio de Barros Silva	Aceito
Folha de Rosto	FolhaRosto.pdf	04/08/2017 13:17:08	Paulo Goberlânio de Barros Silva	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

Endereço: PAPI JÚNIOR, 1222

Bairro: RODOLFO TEÓFILO

CEP: 60.430-230

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3288-4653

Fax: (85)3228-4653

E-mail: [eco@icc.org.br](mailto:eco@icc.org.br)



INSTITUTO DO CÂNCER DO  
CEARA - ICC



Continuação do Parecer: 2.251.564

FORTALEZA, 31 de Agosto de 2017

---

**Assinado por:**  
**Marcelo Gurgel Carlos da Silva**  
**(Coordenador)**

Endereço: PAPI JÚNIOR, 1222

Bairro: RODOLFO TEÓFILO

CEP: 60.430-230

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3288-4653

Fax: (85)3228-4653

E-mail: [eco@icc.org.br](mailto:eco@icc.org.br)