UNIVERSIDADE CHRISTUS
CURSO DE ODONTOLOGIA
CAMPUS PARQUE ECOLÓGICO

ANTÔNIO LUCAS DA SILVA MOREIRA

ANÁLISE DA IMUNOEXPRESSÃO DAS ISOFORMAS DO ÓXIDO NÍTRICO SINTASE (NOS) NO PROGNÓSTICO DO CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS ORAL

FORTALEZA
2026

ANTÔNIO LUCAS DA SILVA MOREIRA

ANÁLISE DA IMUNOEXPRESSÃO DAS ISOFORMAS DO ÓXIDO NÍTRICO SINTASE (NOS) NO PROGNÓSTICO DO CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS ORAL

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado ao curso de Odontologia da Universidade Christus, como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Odontologia.

Orientadora: Prof.ª Dr.ª Karine Cestaro Mesquita

FORTALEZA
2026

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

M835a Moreira, Antônio Lucas da Silva.
ANÁLISE DA IMUNOEXPRESSÃO DAS ISOFORMAS DO ÓXIDO NÍTRICO SINTASE (NOS) NO PROGNÓSTICO DO CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS ORAL / Antônio Lucas da Silva Moreira. - 2026.
50 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Christus - Unichristus, Curso de Odontologia, Fortaleza, 2026.
Orientação: Profa. Dra. Karine Cestaro Mesquita.

1. carcinoma de células escamosas oral. 2. óxido nítrico sintase. 3. imuno-histoquímica. 4. prognóstico. I. Título.

CDD 617.6

ANTÔNIO LUCAS DA SILVA MOREIRA

ANÁLISE DA IMUNOEXPRESSÃO DAS ISOFORMAS DO ÓXIDO NÍTRICO SINTASE (NOS) NO PROGNÓSTICO DO CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS ORAL

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado ao curso de Odontologia da Universidade Christus, como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Odontologia.

Orientadora: Prof.ª Dr.ª Karine Cestaro Mesquita

Aprovado em: __/__/_____

BANCA EXAMINADORA

_____

Prof.ª Dr.ª Karine Cestaro Mesquita
Universidade Christus (UNICHRISTUS)

_____

Prof. Dr. Paulo Goberlânio de Barros Silva
Universidade Christus (UNICHRISTUS)

_____

Dr.ª Sofia Guedes Nascimento de Araújo
Universidade Christus (UNICHRISTUS)

À minha mãe, Maria Elisângela, que suportou o sol para que eu pudesse desfrutar da sombra dos meus sonhos. Ao meu irmão, Antônio Júnior, *in memoriam*, que acreditou em mim antes mesmo de eu acreditar e cuja memória permanece viva em cada conquista alcançada.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a **Deus** por se fazer presente em cada etapa desta caminhada, por me sustentar nos dias difíceis e permitir que este sonho se tornasse realidade. Por vezes, quando me faltaram forças, foi na fé que encontrei coragem para continuar. À **Nossa Senhora de Fátima**, minha Mãe do Céu e fiel intercessora, agradeço por seu amor, sua proteção e por acolher tantas orações silenciosas. Entrego a vocês esta conquista, com a certeza de que nunca caminhei sozinho.

Aos meus pais, por não medirem esforços para que eu pudesse chegar até aqui. À minha mãe, **Maria Elisângela**, agradeço por todo amor, pelas renúncias e por acreditar em mim até mesmo nos momentos em que duvidei da minha própria capacidade. Sei que, por trás desta conquista, existem muitos esforços seus que jamais conseguirei retribuir por completo. Espero que este diploma seja também motivo de orgulho para você, pois carrega muito do que fez por mim. Ao meu pai, **Valdenildo Bertoldo**, agradeço por fazer parte da minha história e da construção de quem sou. Esta conquista também pertence a vocês!

Ao meu irmão, **Antônio Júnior**, *in memoriam*, a quem eu gostaria tanto de poder abraçar neste momento. É difícil concluir uma etapa tão importante sem a sua presença, sem compartilhar essa conquista e sem ouvir suas palavras mais uma vez. Você acreditava em mim e dizia que eu iria longe, hoje, carrego essa lembrança como uma das minhas maiores forças. **Eu consegui, meu irmão!** Queria tanto que você estivesse aqui para ver. Espero ser, ao menos, um terço do profissional que você foi e honrar tudo o que você representou para mim. Esta conquista também é sua, e você estará para sempre presente em cada uma das minhas vitórias.

Ao meu namorado, **Felipe Anastácio**, agradeço pelo amor, companheirismo e acolhimento ao longo dessa caminhada. Obrigado por compreender minhas ausências, acreditar em mim mesmo quando duvidei e tornar os dias difíceis mais leves. Sou grato a Deus por ter cruzado nossos caminhos e por poder compartilhar a vida e minhas conquistas com você. Que possamos continuar crescendo juntos e celebrando muitos sonhos realizados.

À minha dupla, **Keyliane Martins**, agradeço pela parceria, pelo companheirismo e por dividir comigo tantos desafios e aprendizados desde o início da graduação. Obrigado por compartilhar as preocupações, as responsabilidades e também as alegrias que fizeram parte dessa trajetória. Foi um privilégio ter você ao meu lado nessa etapa tão importante da minha formação.

Ao **João Mikael**, agradeço pela companhia ao longo dessa trajetória, pelas conversas, pelas risadas, pelos estresses e por tantos momentos que tornaram a caminhada mais divertida. Obrigado por todas as merendas na padaria e por ter feito parte de uma fase tão importante da minha vida. Tive sorte de ter encontrado a sua amizade.

Aos meus amigos da graduação e em breve colegas de profissão, **Amanda Portela, Eduarda Magalhães, Eduarda Tavares, Keyliane Martins, Letícia Menezes, Mirela Mesquita, Thaís Magalhães, João Mikael, Alexandre Filho, Lúcio Noronha, Laís Almeida, Giovana Maria, Letícia Brito,** agradeço por tornarem a graduação muito mais especial. Obrigado pelas conversas, pelas risadas, pelo apoio e por todos os momentos que fizeram desses anos uma parte tão bonita da minha história.

À **Cássia Maria e Bruna Larissa**, entre desafios, descobertas e dias difíceis, compartilhamos muito mais do que a experiência da pesquisa, dividimos momentos que levarei comigo com carinho. Sou grato a Deus por ter cruzado nossos caminhos e por ter encontrado em vocês companhia, apoio e amizade em uma etapa tão importante da minha formação.

À **Klara Ludimila**, minha amiga de vida desde o ensino médio, agradeço por permanecer ao meu lado ao longo de tantos anos e por continuar fazendo parte da minha história. Obrigado por me receber nas noites de segunda-feira com tanto carinho e por nunca recusar uma pizza e um brigadeiro. São esses pequenos momentos, tão simples e tão nossos, que tornam a nossa amizade especial e que levarei comigo com muito carinho.

À **Jornada Odontológica da Unichristus (JOU)**, por me proporcionar uma das experiências mais marcantes da minha formação, que levarei sempre com muito orgulho e carinho. Às professoras **Raquel Bastos e Rebeca Bastos**, pela cumplicidade e à **Luana Prado**, por ser meu apoio em cada desafio e a melhor vice-presidente que eu poderia ter ao meu lado. Sou muito feliz por ter vivido essa história com vocês!

À minha orientadora de iniciação científica, **Thinali Dantas**, agradeço pela confiança e pela oportunidade de desenvolver esta pesquisa, que representa uma etapa tão importante da minha trajetória científica.

À minha orientadora **Karine Mesquita**, agradeço pela disponibilidade, pelo acolhimento e pelo compromisso com a continuidade deste trabalho. Sou muito grato pela confiança que me foi confiada desde a patologia bucal. Obrigado por sempre ser tão solícita e por toda ajuda para que esta pesquisa chegasse à sua conclusão.

Ao professor **Paulo Goberlânio**, pela generosidade em compartilhar seus conhecimentos, pela atenção a cada dúvida e por nunca deixar de ensinar, mostrando que nenhuma pergunta é pequena quando existe vontade de aprender.

À **Sofia Guedes**, pela disponibilidade e por aceitar fazer parte de um momento tão importante da minha formação, contribuindo para o encerramento de mais uma etapa da minha trajetória acadêmica.

Ao **Hospital da Polícia Militar**, por me permitir estagiar e vivenciar, na prática, tantos casos que antes conhecia apenas pelos livros. Agradeço pelos ensinamentos, pelas experiências e por contribuir tão significativamente para minha formação profissional.

À **Universidade Christus**, por ter me acolhido e ter sido minha casa durante esses anos, por me proporcionar tantos conhecimentos, oportunidades e amizades que levarei para a vida.

Por fim, **agradeço a mim mesmo**. Ao menino que saiu de Icó e chegou a Fortaleza ainda tão jovem, cheio de sonhos e sem imaginar tudo o que precisaria enfrentar para realizá-los. Ao que sentiu saudade de casa, enfrentou dificuldades, viveu perdas e, mesmo nos dias mais difíceis, encontrou forças para continuar. Nem sempre reconheci minha própria capacidade, pois muitas vezes fui meu crítico mais severo, mas hoje me permito olhar para trás com orgulho de tudo o que precisei superar. Este diploma representa muito mais do que a conclusão de uma graduação, representa cada recomeço, cada renúncia e cada vez que escolhi não desistir.

“Nada te perturbe, nada te espante, tudo passa, a paciência tudo alcança. A quem tem Deus nada falta. Só Deus basta.”

– Santa Teresa D'Ávila.

RESUMO

O carcinoma de células escamosas oral (CEC) é a neoplasia maligna mais frequente da cavidade oral, apresentando prognóstico frequentemente desfavorável, especialmente em estágios avançados. O óxido nítrico (NO), produzido pelas isoformas neuronal (nNOS), endotelial (eNOS) e induzível (iNOS) da enzima óxido nítrico sintase (NOS), tem sido associado à progressão tumoral e ao comportamento biológico do CEC. Este estudo teve como objetivo analisar a imunoexpressão das isoformas de NOS no CEC, avaliando sua correlação com parâmetros clinicopatológicos e seu potencial valor prognóstico. Trata-se de um estudo observacional, quantitativo, retrospectivo e de corte transversal, no qual foram analisados 72 blocos de parafina de pacientes submetidos a tratamento cirúrgico no Hospital Haroldo Juaçaba – Instituto do Câncer do Ceará, por meio da técnica de Tissue Microarray (TMA) e imuno-histoquímica. A expressão de nNOS associou-se significativamente ao estadiamento clínico ($p=0,045$). A iNOS apresentou associação significativa com comprometimento linfonodal ($p=0,037$), sobrevida ($p=0,011$), tabagismo ($p=0,042$) e nível de escolaridade ($p=0,001$). A eNOS não apresentou associação estatisticamente significativa com nenhuma das variáveis avaliadas. Os resultados evidenciam um comportamento isoforma-dependente do NO na carcinogênese oral, destacando a iNOS como a principal isoforma associada à progressão tumoral e ao pior prognóstico, podendo representar um potencial biomarcador complementar na avaliação prognóstica de pacientes com CEC.

Palavras-chave: carcinoma de células escamosas oral; óxido nítrico sintase; imuno-histoquímica; prognóstico.

ABSTRACT

Oral squamous cell carcinoma (OSCC) is the most frequent malignant neoplasm of the oral cavity, often presenting an unfavorable prognosis, especially in advanced stages. Nitric oxide (NO), produced by the neuronal (nNOS), endothelial (eNOS), and inducible (iNOS) isoforms of nitric oxide synthase (NOS), has been associated with tumor progression and the biological behavior of OSCC. This study aimed to analyze the immunoexpression of NOS isoforms in OSCC, assessing their correlation with clinicopathological parameters and their potential prognostic value. This is an observational, quantitative, retrospective, cross-sectional study, in which 72 paraffin blocks from patients who underwent surgical treatment at Hospital Haroldo Juaçaba – Instituto do Câncer do Ceará were analyzed using the Tissue Microarray (TMA) technique and immunohistochemistry. nNOS expression was significantly associated with clinical staging ($p=0.045$). iNOS showed significant associations with lymph node involvement ($p=0.037$), survival ($p=0.011$), smoking history ($p=0.042$), and educational level ($p=0.001$). eNOS showed no statistically significant association with any of the variables evaluated. The results indicate an isoform-dependent behavior of NO in oral carcinogenesis, highlighting iNOS as the main isoform associated with tumor progression and poor prognosis, representing a potential complementary biomarker in the prognostic evaluation of patients with OSCC.

Keywords: oral squamous cell carcinoma; nitric oxide synthase; immunohistochemistry; prognosis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Representação da distribuição dos fragmentos de área tumoral, de epitélio não lesional e controle guia 25
Figura 2 – Imunoexpressão para nNOS em carcinoma de células escamosas oral 28
Figura 3 – Imunoexpressão para eNOS em carcinoma de células escamosas oral 29
Figura 4 – Imunoexpressão para iNOS em carcinoma de células escamosas oral 29
Quadro 1 – Anticorpos utilizados para imuno-histoquímica 25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Associação entre a imunoexpressão de nNOS e as variáveis clinicopatológicas e sociodemográficas 30
Tabela 2 – Associação entre a imunoexpressão de eNOS e as variáveis clinicopatológicas e sociodemográficas 32
Tabela 3 – Associação entre a imunoexpressão de iNOS e as variáveis clinicopatológicas e sociodemográficas 35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Sigla	Significado
CEC	Carcinoma de Células Escamosas
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CID-O	Classificação Internacional de Doenças para Oncologia
DAB	3,3'-Diaminobenzidina
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
eNOS	Óxido Nítrico Sintase Endotelial
GLOBOCAN	Global Cancer Observatory
HPV	Papilomavírus Humano
INCA	Instituto Nacional de Câncer
iNOS	Óxido Nítrico Sintase Induzível
nNOS	Óxido Nítrico Sintase Neuronal
NO	Óxido Nítrico
NOS	Óxido Nítrico Sintase
OMS	Organização Mundial da Saúde
PBS	Tampão Fosfato-Salino (*Phosphate-Buffered Saline*)
PI3K/AKT	Via de Sinalização Fosfatidilinositol 3-Quinase/Proteína Quinase B
SPSS	*Statistical Package for the Social Sciences*
SUS	Sistema Único de Saúde
TMA	*Tissue Microarray*
TNM	Tumor, Linfonodo, Metástase (sistema de estadiamento)
VEGF	Fator de Crescimento do Endotélio Vascular (*Vascular Endothelial Growth Factor*)

LISTA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Significado
%	Porcentagem
O_2^-	Ânion superóxido
µm	Micrômetro
º	Grau (unidade de temperatura, ex.: 97ºC)
p	Valor de significância estatística (p-valor)
n	Número de casos/amostra
>	Maior que
≤	Menor ou igual a

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....16
2 OBJETIVOS.....18
2.1 Objetivo geral.....18
2.2 Objetivos específicos.....18
3 REFERENCIAL TEÓRICO.....19
3.1 Carcinoma de Células Escamosas Oral.....19
3.2 Óxido Nítrico Sintase (NOS).....21
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....23
4.1 Abordagem Ética.....23
4.2 Delineamento do Estudo.....23
4.3 Cálculo Amostral.....23
4.4 Amostra e Dados Analisados.....23
4.5 Técnica do Tissue Microarray (TMA) e Processamento imuno-histoquímico.....24
4.6 Análise Imuno-histoquímica.....26
4.7 Análise Estatística.....26
5 RESULTADOS.....27
6 DISCUSSÃO.....38
7 CONCLUSÃO.....41
REFERÊNCIAS.....42
ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa.....46

1 INTRODUÇÃO

O carcinoma de células escamosas oral (CEC) representa a neoplasia maligna mais frequente da cavidade oral, sendo um importante problema de saúde pública em nível global, com impacto significativo na morbidade, mortalidade e qualidade de vida dos pacientes. Apesar dos avanços nas abordagens terapêuticas, o tratamento do câncer oral ainda está associado a elevada morbidade e custos, além de prognóstico frequentemente desfavorável, especialmente quando diagnosticado em estágios avançados (Ferreira *et al.*, 2021).

A progressão do CEC está diretamente relacionada a fatores clínico-patológicos, como estadiamento tumoral, grau de diferenciação celular e presença de invasão tecidual, os quais influenciam significativamente a sobrevida dos pacientes. Esses parâmetros são tradicionalmente obtidos por meio da análise histopatológica, sendo fundamentais para o planejamento terapêutico (Morais *et al.,* 2017).

Entretanto, apesar de sua relevância, os critérios histopatológicos apresentam limitações na predição precisa do comportamento biológico tumoral, evidenciando a necessidade de identificação de marcadores moleculares capazes de complementar essas análises e fornecer informações mais específicas sobre a progressão da doença. Nesse contexto, mediadores inflamatórios têm sido amplamente investigados devido ao seu papel na carcinogênese e na modulação do microambiente tumoral. Entre eles, destaca-se o Óxido Nítrico (NO), molécula sinalizadora envolvida em processos fisiológicos e patológicos, como regulação vascular, resposta imune e controle da proliferação celular (Ambe *et al.,* 2016).

O NO é produzido a partir da L-arginina pelas enzimas óxido nítrico sintase (NOS), que incluem as isoformas neuronal (nNOS), endotelial (eNOS) e induzível (iNOS) (Brennan *et al.,* 2001). No ambiente tumoral, essa molécula apresenta comportamento dual, podendo exercer efeitos tanto pró-tumorais quanto antitumorais, dependendo de sua concentração e condições do microambiente celular (Yang *et al.,* 2015).

A isoforma induzível (iNOS), em particular, tem sido associada à produção sustentada de NO em contextos inflamatórios, contribuindo para processos como dano ao DNA, angiogênese, invasão tumoral e modulação da resposta imune, com efeitos que variam conforme o compartimento tumoral ou estromal envolvido e o contexto do microambiente (Vannini; Kashfi; Nath, 2015; Xu *et al.*, 2002). Evidências indicam que sua superexpressão

está relacionada à maior agressividade tumoral e pior prognóstico em diferentes neoplasias, incluindo o carcinoma oral (Carkic *et al.,* 2020).

Dessa forma, a investigação da expressão das isoformas da óxido nítrico sintase no carcinoma de células escamosas oral torna-se relevante para a compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos na progressão tumoral, podendo contribuir para a identificação de biomarcadores prognósticos e para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais eficazes.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Analisar a imunoexpressão das isoformas do Óxido Nítrico Sintase (iNOS, eNOS e nNOS) no carcinoma de células escamosas oral, avaliando sua correlação com parâmetros clinicopatológicos e seu potencial valor prognóstico.

2.2 Objetivos específicos

- Caracterizar o padrão de imunoexpressão das isoformas da NOS (nNOS, iNOS e eNOS) nas células neoplásicas do CEC;
- Avaliar a associação entre a marcação das NOS e os desfechos clínicos dos pacientes com fatores prognósticos, incluindo estadiamento tumoral e sobrevida.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Carcinoma de Células Escamosas Oral

O Carcinoma de Células Escamosas Oral (CEC), também conhecido como Carcinoma Espinocelular, representa a principal e mais prevalente neoplasia maligna da cavidade bucal, sendo responsável pela maioria dos tumores que acometem essa região anatômica. Trata-se de uma neoplasia de origem epitelial, derivada das células escamosas da mucosa oral, com comportamento biológico variável, podendo apresentar desde crescimento local controlado até formas altamente invasivas e metastáticas. Em razão de sua elevada incidência e dos desfechos clínicos frequentemente desfavoráveis, o CEC configura-se como um importante problema de saúde pública em escala global (Chamoli *et al.,* 2021).

A relevância dessa patologia ultrapassa os indicadores epidemiológicos, refletindo-se diretamente no impacto funcional, psicológico e social sobre os indivíduos acometidos. As sequelas decorrentes tanto da progressão tumoral quanto das abordagens terapêuticas como cirurgia, radioterapia e quimioterapia podem comprometer funções essenciais, incluindo mastigação, deglutição e fala, resultando em prejuízos significativos à qualidade de vida. Além disso, a elevada taxa de mortalidade associada aos casos diagnosticados em estágios avançados reforça a necessidade de estratégias eficazes de detecção precoce (Chamoli *et al.*, 2021; Rivera *et al.*, 2014).

A magnitude epidemiológica do câncer de lábio e cavidade oral é evidenciada por dados globais expressivos. Segundo as estimativas mais recentes do Global Cancer Observatory (GLOBOCAN), foram registrados 389.846 novos casos de câncer de lábio e cavidade oral em todo o mundo em 2022, com a cavidade oral representando isoladamente cerca de 42% dos casos de câncer de lábio, cavidade oral e faringe combinados. Esses números refletem, em parte, desigualdades no acesso ao diagnóstico e ao tratamento, além da persistência de fatores de risco modificáveis na população (Rumgay *et al.*, 2026).

No Brasil, o cenário acompanha a tendência global. As projeções do Instituto Nacional de Câncer (INCA) para o triênio 2023–2025 estimam cerca de 15.100 novos casos por ano, com risco aproximado de 6,99 casos por 100 mil habitantes. Observa-se uma predominância significativa no sexo masculino, o que sugere associação direta com hábitos de risco mais prevalentes nesse grupo, como o consumo de tabaco e álcool (INCA, 2022).

Do ponto de vista molecular, a carcinogênese do CEC é um processo complexo, multifatorial e progressivo, caracterizado pelo acúmulo de alterações genéticas e epigenéticas ao longo do tempo. Essas alterações incluem mutações em genes supressores tumorais,

ativação de oncogenes e desregulação de mecanismos de reparo do DNA, culminando na perda do controle do ciclo celular e na proliferação desordenada (Morais *et al.,* 2017).

Essas modificações moleculares também favorecem a aquisição de características fundamentais do fenótipo maligno, como resistência à apoptose, capacidade de angiogênese sustentada e potencial invasivo. A interação dinâmica entre as células tumorais e o microambiente tumoral, composto por células inflamatórias, matriz extracelular e mediadores químicos, desempenha papel determinante na progressão tumoral e na evasão imunológica (Alves *et al.*, 2021).

A etiologia do CEC é amplamente reconhecida como multifatorial, envolvendo a interação entre fatores ambientais, comportamentais e biológicos. O tabagismo e o consumo de álcool permanecem como os principais fatores de risco, atuando de forma sinérgica na indução de danos celulares. Compostos carcinogênicos presentes no tabaco promovem mutações diretas no DNA, enquanto o álcool facilita a penetração dessas substâncias na mucosa oral e gera metabólitos tóxicos, como o acetaldeído (Chamoli *et al.,* 2021).

Além disso, o estresse oxidativo desempenha papel central na carcinogênese, por meio da produção de espécies reativas de oxigênio, que contribuem para a instabilidade genômica e ativação de vias pró-tumorais. Esse ambiente favorece o acúmulo progressivo de danos celulares e a transformação maligna (Ferreira *et al.,* 2021).

Paralelamente, a infecção persistente pelo papilomavírus humano (HPV), especialmente os subtipos de alto risco, tem sido reconhecida como um importante fator etiológico, principalmente em tumores de orofaringe. O HPV interfere diretamente em proteínas reguladoras do ciclo celular, como p53 e pRb, por meio de suas oncoproteínas virais, estabelecendo uma via carcinogênica distinta (Lechner *et al.,* 2022).

Do ponto de vista clínico, o CEC apresenta grande heterogeneidade em sua manifestação. As lesões podem acometer diferentes sítios da cavidade oral, como língua, assoalho bucal, mucosa jugal e gengiva, com apresentações clínicas variadas, incluindo úlceras persistentes, placas leucoplásicas ou eritroplásicas e lesões exofíticas. Frequentemente, essas alterações são assintomáticas em estágios iniciais, o que contribui para o diagnóstico tardio (Oliveira *et al.*, 2015; Santos *et al.*, 2010).

O prognóstico do CEC está diretamente relacionado a fatores clínicos e histopatológicos. O estadiamento clínico no momento do diagnóstico é um dos principais determinantes de sobrevida, sendo que tumores em estágios iniciais apresentam melhores resultados terapêuticos. A profundidade de invasão tumoral também é um importante indicador prognóstico, associando-se ao risco de disseminação (Morais *et al.,* 2017).

A presença de metástases linfonodais regionais é considerada um dos fatores prognósticos mais críticos, estando associada à redução significativa da sobrevida. Esse achado indica maior agressividade tumoral e capacidade de disseminação sistêmica, reforçando a importância do diagnóstico precoce e da abordagem terapêutica adequada (Oliveira *et al.*, 2015; Santos *et al.*, 2010).

3.2 Óxido Nítrico Sintase (NOS)

As enzimas de óxido nítrico sintase (NOS) são responsáveis pela produção do óxido nítrico (NO), uma molécula gasosa biologicamente ativa que exerce papel fundamental na regulação de diversos processos fisiológicos na cavidade oral. O NO é sintetizado a partir da L-arginina, em uma reação que gera L-citrulina como subproduto, sendo dependente de oxigênio e cofatores específicos. Na mucosa oral, essa molécula participa da manutenção da homeostase tecidual, atuando na defesa antimicrobiana, na modulação da resposta inflamatória e na regulação do fluxo sanguíneo local (Ambe *et al.,* 2016).

A família da NOS é composta por três isoformas principais: a neuronal (nNOS ou NOS1), a endotelial (eNOS ou NOS3) e a induzível (iNOS ou NOS2), cada uma com características funcionais distintas. As isoformas constitutivas, nNOS e eNOS, são dependentes de cálcio e produzem pequenas quantidades de NO de forma transitória, estando relacionadas a funções fisiológicas (Flora Filho; Zilberstein, 2000; Xu *et al.*, 2002). Em contrapartida, a iNOS é expressa principalmente em resposta a estímulos inflamatórios e é capaz de produzir grandes quantidades de NO de maneira sustentada, estando frequentemente associada a condições patológicas (Xu *et al.,* 2002).

No contexto da carcinogênese, o NO apresenta um comportamento dual, podendo exercer tanto efeitos citotóxicos quanto promover a progressão tumoral, dependendo de sua concentração, do tempo de exposição e do contexto microambiental (Servato *et al.*, 2019; Xu *et al.*, 2002). Evidências da biologia química do NO demonstram que diferentes faixas de concentração são capazes de modular vias de sinalização celular distintas, resultando em respostas biológicas específicas (Ridnour *et al.*, 2008; Thomas *et al.*, 2008).

Em níveis mais baixos, o NO está associado à ativação de vias relacionadas à homeostase celular e pode contribuir para processos pró-angiogênicos, especialmente quando associado à atividade da eNOS e à regulação de fatores como o fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF), favorecendo a formação de novos vasos sanguíneos no microambiente tumoral (Shang; Li, 2005).

Em concentrações intermediárias, o NO pode ativar vias intracelulares de sobrevivência celular, como a via fosfatidilinositol 3-quinase/proteína quinase B (PI3K/AKT), promovendo a fosforilação de proteínas reguladoras da apoptose, como a BAD, reduzindo sua atividade pró-apoptótica e favorecendo a manutenção da viabilidade celular (Ridnour *et al.,* 2008).

Por outro lado, em concentrações elevadas, o NO passa a exercer efeitos citotóxicos. Nessas condições, pode reagir com espécies reativas, como o superóxido (O_2^-), formando peroxinitrito, uma molécula altamente reativa capaz de induzir danos oxidativos severos, incluindo a inibição de complexos mitocondriais contendo ferro-enxofre (Fe-S), comprometendo a função celular e levando à morte celular (Ridnour *et al.,* 2008).

No carcinoma de células escamosas oral, a isoforma iNOS tem sido amplamente investigada devido à sua forte associação com processos inflamatórios crônicos e com a progressão tumoral. A superexpressão dessa enzima está relacionada ao aumento da produção de NO no microambiente tumoral, favorecendo a invasão celular, a angiogênese e a modulação da resposta imune (Servato *et al.,* 2019).

Corroborando com esse achado, estudo prévio demonstrou que a expressão de iNOS estava presente em 41% das amostras de carcinoma espinocelular oral, contra apenas 8% das lesões displásicas, sugerindo papel relevante da enzima na transição de lesões potencialmente malignas para a doença invasiva (Connelly *et al.,* 2005).

Embora a iNOS e a eNOS sejam mais frequentemente associadas à progressão tumoral, a isoforma neuronal (nNOS) também desempenha papel relevante na regulação do microambiente tumoral. A nNOS é constitutivamente expressa e dependente de cálcio, estando envolvida na produção basal de NO e na modulação da sinalização intracelular. No contexto tumoral, sua atuação tem sido relacionada a processos como proliferação celular, diferenciação e interação célula-matriz extracelular, especialmente em fases iniciais da carcinogênese (Thomas *et al.*, 2008; Xu *et al.*, 2002).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Abordagem Ética

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital Haroldo Juaçaba – Instituto do Câncer do Ceará, estando registrado sob o número de parecer 1.618.057 (Anexo A), em conformidade com as diretrizes da Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde, que trata sobre pesquisas envolvendo seres humanos.

4.2 Delineamento do Estudo

Estudo observacional, quantitativo, de caráter retrospectivo e de corte transversal.

4.3 Cálculo Amostral

O tamanho amostral foi calculado a partir dos achados de Servato *et al.* (2019), que observaram maior imunoexpressão de iNOS em tumores avançados do que em tumores iniciais (70% versus 39%). Adotando poder estatístico de 90% e nível de confiança de 95% para rejeitar a hipótese nula, estimou-se a necessidade de 60 tumores. Para compensar possíveis perdas por inadequação do material, acrescentou-se uma margem de 20%, o que resultou em 72 casos.

4.4 Amostra e Dados Analisados

Dessa forma, foram selecionados 72 blocos de parafina contendo amostras de carcinoma de células escamosas de cavidade oral, previamente diagnosticadas e submetidas a procedimento cirúrgico no Hospital Haroldo Juaçaba – Instituto do Câncer do Ceará. Foram coletados dados sociodemográficos (idade, sexo, nível de escolaridade, raça/cor, tipo de ingresso no hospital (convênio, particular ou Sistema Único de Saúde – SUS) e procedência (de Fortaleza ou interior), bem como informações clínico-patológicas (subtipo histológico do tumor, localização primária, estadiamento Tumor, Linfonodo, Metástase (TNM), tratamento instituído), conforme disponíveis nos prontuários médicos e laudos histopatológicos.

A localização anatômica do tumor primário foi classificada de acordo com a Classificação Internacional de Doenças para Oncologia (CID-O), conforme orientação da Organização Mundial da Saúde (OMS), abrangendo as seguintes regiões: lábio, gengiva, terço anterior da língua, palato duro, assoalho da boca, outras partes da cavidade oral e áreas não especificadas (OMS, 2005).

Para o estadiamento, foi utilizado o sistema TNM, com reavaliação e classificação de todos os casos segundo os critérios do *American Joint Committee on Cancer*, conforme estabelecido no Manual de Estadiamento do Câncer (Lydiatt *et al.,* 2017).

Após a seleção da amostra, as lâminas histológicas das biópsias excisionais foram revisadas por um patologista experiente para reclassificação do grau de diferenciação tumoral. A graduação foi feita de acordo com os critérios de Barnes *et al.* (2005), categorizando os tumores como bem diferenciados, moderadamente diferenciados ou pouco diferenciados. Amostras com qualidade técnica ou quantidade de tecido insuficiente foram excluídas.

Concluída a revisão histológica, os blocos de parafina correspondentes foram selecionados para a realização das técnicas de imuno-histoquímica e montagem do Tissue Microarray (TMA). Blocos que apresentaram qualidade insatisfatória ou material inadequado também foram excluídos, conforme avaliação do patologista responsável.

4.5 Técnica do Tissue Microarray (TMA) e Processamento imuno-histoquímico

Após a triagem dos pacientes, solicitou-se à patologista do Hospital Haroldo Juaçaba/ Instituto do Câncer do Ceará que identificasse, nas lâminas histológicas, áreas representativas da peça cirúrgica com microambiente tumoral adequado, contemplando de forma satisfatória todo o tumor. Também foram demarcadas regiões de epitélio escamoso sem lesão, situadas além da margem de cancerização.

Nos casos com comprometimento linfonodal, selecionou-se ainda uma lâmina que representasse a metástase. Com as lâminas devidamente escolhidas e marcadas, seus respectivos blocos (blocos doadores) foram recuperados para a construção do bloco de TMA (bloco receptor).

Para a confecção do TMA, utilizou-se um equipamento específico denominado “tissue microarrayer” (Quick-Ray UNITMA®). Esse dispositivo permite a retirada de cilindros de tecido com 2 mm de diâmetro das áreas mais representativas do bloco doador, que são então organizados e inseridos no bloco receptor, previamente estruturado em uma matriz com espaçamento padronizado.

Cada bloco de TMA foi composto por 36 amostras de tecido, incluindo um fragmento guia (vazio), além de fragmentos tumorais e de epitélio escamoso não lesional, conforme ilustrado na Figura 1. Em uma única etapa, o bloco receptor foi submetido a cortes seriados de 3 μm de espessura, posteriormente acomodados em lâminas de vidro silanizadas, destinadas tanto à coloração convencional por hematoxilina-eosina quanto às análises de imuno-histoquímica.

Figura 1 – Representação da distribuição dos fragmentos de área tumoral, de epitélio não lesional e controle guia.



Fonte: Dados da pesquisa (2026).

A imuno-histoquímica foi realizada por meio da técnica de estreptavidina-biotina-peroxidase. Inicialmente, as lâminas passaram por desparafinização e reidratação, seguidas de recuperação antigênica em banho-maria a 97 ºC por 45 minutos, utilizando solução de citrato em pH 6. Em seguida, realizou-se o bloqueio da peroxidase endógena com peróxido de hidrogênio a 3%, lavagem com tampão fosfato (PBS) e incubação overnight com os anticorpos primários descritos no Quadro 1, após testes preliminares com diferentes diluições para definição da concentração ideal.

Quadro 1 – Anticorpos utilizados para imuno-histoquímica.

Anticorpo	Fabricante	Diluição	pH	Controle Positivo
Anti-nNOS	Abcam®	1:300	Baixo	Granuloma Piogênico
Anti-eNOS	Abcam®	1:300	Baixo	Granuloma Piogênico
Anti-iNOS	Abcam®	1:200	Alto	Granuloma Piogênico

Fonte: Dados da pesquisa (2026).

Após o período de incubação com o anticorpo primário, conforme recomendado pelo fabricante, as lâminas foram novamente lavadas em PBS e incubadas com anticorpo secundário biotinilado por 30 minutos. Posteriormente, após nova lavagem, realizou-se incubação com o complexo avidina-biotina-peroxidase ou sistema DAKO® por igual período.

A etapa de revelação foi conduzida com 3,3’-diaminobenzidina (DAB) (Abcam®), seguida de contra-coloração com hematoxilina de Harris (10 segundos) ou

solução blue (10 segundos), no caso dos anticorpos anti-eNOS, anti-nNOS e anti-iNOS. Ao final do processo, as lâminas foram montadas para análise microscópica.

Também foram incluídos controles positivos, utilizando cortes histológicos convencionais, conforme descrito no quadro 1. Para os controles negativos, empregaram-se lâminas convencionais e de TMA submetidas ao mesmo protocolo de imuno-histoquímica, porém sem a etapa de incubação com o anticorpo primário.

4.6 Análise Imuno-histoquímica

A avaliação da imunoexpressão foi conduzida por meio da captura de imagens de cinco campos de cada corte histológico, em áreas de tumor reconhecidas como *hotspots*, utilizando aumento de 400x em microscópio equipado com câmera acoplada (Leica DM 2000®). As amostras foram submetidas à análise quantitativa por meio de contagem celular assistida por software, considerando a proporção de células marcadas em relação ao total de células avaliadas no campo.

Para a quantificação, as imagens obtidas foram transferidas para o software ImageJ®, no qual, com o auxílio da ferramenta *cell counter*, foi calculada a proporção de células tumorais positivas e negativas em regiões representativas do parênquima tumoral. De forma semelhante, também foi determinada a porcentagem de células epiteliais marcadas e não marcadas em áreas de epitélio não lesional.

4.7 Análise Estatística

As taxas de sobrevida em cinco anos foram apresentadas em frequência absoluta e relativa, sendo analisadas por meio dos testes do qui-quadrado ou exato de Fisher. O tempo médio de sobrevida foi descrito em termos de média e desvio-padrão, com comparação realizada pelo teste de Log-Rank (Mantel-Cox).

As análises estatísticas foram conduzidas com o software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS), adotando-se nível de confiança de 95% em todas as avaliações.

Para a análise de sobrevida, empregou-se o teste de Log-Rank (Mantel-Cox), considerando os casos de forma dicotômica (positivos e negativos), além de variáveis clínico-patológicas e epidemiológicas, a fim de investigar fatores associados à sobrevida, bem como às taxas de recidiva, metástase linfonodal e metástase à distância.

Aplicou-se o modelo de regressão de Cox para identificar os fatores que, de maneira independente, exerceram influência sobre a sobrevida e a ocorrência de recidivas nos pacientes.

5 RESULTADOS

A análise da imunoexpressão das isoformas da enzima óxido nítrico sintase (NOS) demonstrou diferentes padrões de associação com as variáveis clinicopatológicas avaliadas.

No que se refere à nNOS, não foram observadas associações estatisticamente significativas com a maioria das variáveis analisadas (Tabela 1). Em relação à localização tumoral, observou-se a predominância de tumores no assoalho bucal, seguidos pela língua e outras regiões da cavidade oral, como área retromolar e rebordo alveolar, sem associação com os níveis de expressão (p=0,220). Quanto à gradação histológica, a maioria dos tumores foi classificada como bem ou moderadamente diferenciada, sem associação com a expressão de nNOS (p=0,607).

Em relação às variáveis sociodemográficas, não foram observadas associações significativas quanto ao sexo (p=0,662), faixa etária (p=0,372), procedência (p=0,592) e estado civil (p=0,379).

Quanto às variáveis clínicas, observou-se maior frequência de tumores classificados como T3/T4 em comparação a T1/T2, sem associação com a expressão de nNOS (p=0,303). O comprometimento linfonodal apresentou distribuição entre N0/N1 e N2/N3, também sem associação estatisticamente significativa (p=0,361).

Foi observada associação estatisticamente significativa entre a expressão de nNOS e o estadiamento clínico, com maior frequência de casos em estádios III/IV em comparação aos estádios I/II entre os pacientes com maior expressão do marcador (p=0,045). Não foram observadas associações com o tipo de tratamento (p=0,389) e sobrevida (p=0,058).

Em relação à iNOS, foram observadas associações estatisticamente significativas com o comprometimento linfonodal e com a sobrevida (Tabela 3). Pacientes com menor expressão apresentaram maior frequência de N0/N1, enquanto aqueles com maior expressão apresentaram maior proporção de N2/N3 (p=0,037). Quanto à sobrevida, a maioria dos pacientes com menor expressão encontrava-se viva (n=35; 97,2%), enquanto no grupo com maior expressão essa proporção foi de 77,5% (n=31), com registro de óbitos em 22,5% (n=9) dos casos (p=0,011).

Observou-se ainda associação estatisticamente significativa entre a expressão de iNOS e o nível de escolaridade dos pacientes, com maior expressão entre os analfabetos ou com 1º grau incompleto (p=0,001). Da mesma forma, verificou-se associação significativa entre a expressão de iNOS e o histórico de tabagismo, com maior proporção de fumantes

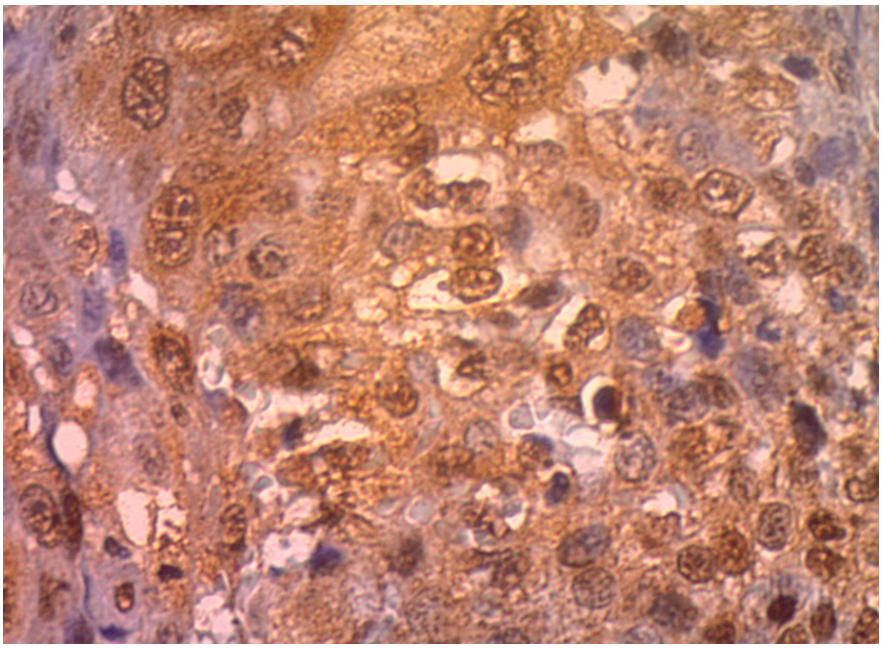
entre os pacientes com maior expressão do marcador em comparação aos não fumantes (p=0,042).

Não foram observadas associações estatisticamente significativas entre a expressão de iNOS e as variáveis localização tumoral, gradação histológica, sexo, faixa etária, procedência, estado civil, tamanho tumoral, estadiamento clínico e tipo de tratamento (p>0,05).

Quanto à eNOS, não foram observadas associações estatisticamente significativas entre a expressão de eNOS e as variáveis localização tumoral, gradação histológica, sexo, faixa etária, procedência, estado civil, tamanho tumoral, comprometimento linfonodal, estadiamento clínico, tipo de tratamento e sobrevida (p>0,05) (Tabela 2).

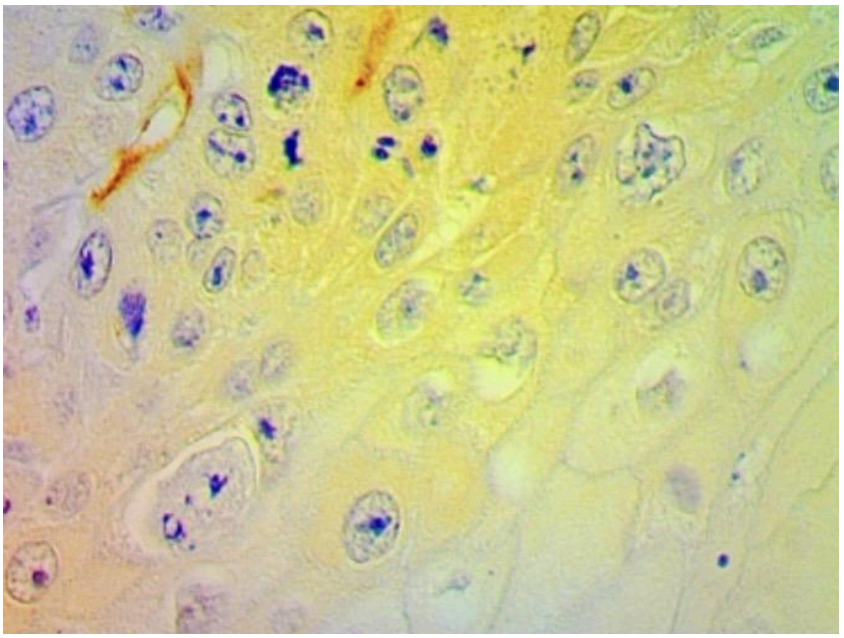
Os perfis histológicos observados da imunoexpressão para nNOS, eNOS e iNOS são, respectivamente, ilustrados nas imagens histológicas a seguir (Figuras 2, 3 e 4), em aumento de 400x.

Figura 2 – Imunoexpressão para nNOS em carcinoma de células escamosas oral



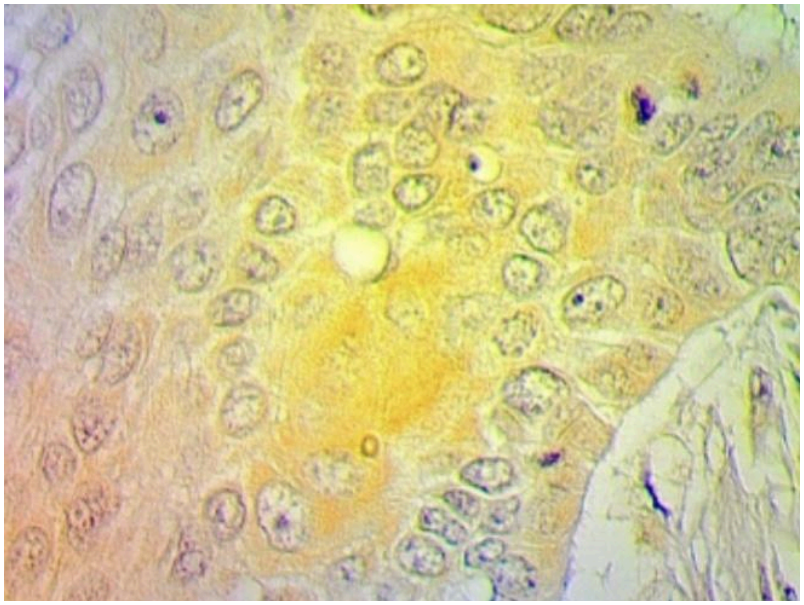
Fonte: Dados da pesquisa (2026).

Figura 3 – Imunoexpressão para eNOS em carcinoma de células escamosas oral



Fonte: Dados da pesquisa (2026).

Figura 4 – Imunoexpressão para iNOS em carcinoma de células escamosas oral



Fonte: Dados da pesquisa (2026).

Tabela 1 – Associação entre a imunoexpressão de nNOS no tumor e as variáveis clinicopatológicas e sociodemográficas

Variável	Total	nNOS (tumor)		p
		Até 75%	>75%	
Localização				
Assoalho de boca	20 (47,6%)	9 (40,9%)	11 (55,0%)	0,252
Língua	16 (38,1%)	11 (50,0%)	5 (25,0%)	
Lábio	4 (9,5%)	1 (4,5%)	3 (15,0%)	
Área retromolar	1 (2,4%)	1 (4,5%)	0 (0,0%)	
Rebordo alveolar	1 (2,4%)	0 (0,0%)	1 (5,0%)	
Localização				
Assoalho bucal	20 (47,6%)	9 (40,9%)	11 (55,0%)	0,220
Língua	16 (38,1%)	11 (50,0%)	5 (25,0%)	
Outros	6 (14,3%)	2 (9,1%)	4 (20,0%)	
Gradação histológica				
Bem/moderadamente diferenciado	39 (92,9%)	20 (90,9%)	19 (95,0%)	0,607
Pobremente diferenciado	3 (7,1%)	2 (9,1%)	1 (5,0%)	
Convênio				
SUS	39 (92,9%)	19 (86,4%)	20 (100,0%)	0,087
Plano de saúde/privado	3 (7,1%)	3 (13,6%)	0 (0,0%)	
T				
T1/2	16 (38,1%)	10 (45,5%)	6 (30,0%)	0,303
T3/4	26 (61,9%)	12 (54,5%)	14 (70,0%)	
N				
N0/1	22 (52,4%)	13 (59,1%)	9 (45,0%)	0,361
N2/3	20 (47,6%)	9 (40,9%)	11 (55,0%)	
Estádio				
Estádio 1 e 2	10 (23,8%)	**8 (36,4%)***	2 (10,0%)	**0,045**
Estádio 3 e 4	32 (76,2%)	14 (63,6%)	**18 (90,0%)***	
Sexo				
Masculino	28 (66,7%)	14 (63,6%)	14 (70,0%)	0,662
Feminino	14 (33,3%)	8 (36,4%)	6 (30,0%)	
Cor				
Pardo	34 (81,0%)	18 (81,8%)	16 (80,0%)	0,881
Não pardo	8 (19,0%)	4 (18,2%)	4 (20,0%)	
Procedência				
Capital	11 (26,2%)	5 (22,7%)	6 (30,0%)	0,592
Interior	31 (73,8%)	17 (77,3%)	14 (70,0%)	
Estado civil				
Com vínculo matrimonial	30 (71,4%)	17 (77,3%)	13 (65,0%)	0,379
Sem vínculo matrimonial	12 (28,6%)	5 (22,7%)	7 (35,0%)	
Hábitos				
Fuma	17 (40,5%)	7 (31,8%)	10 (50,0%)	0,258
Fuma e bebe	11 (26,2%)	8 (36,4%)	3 (15,0%)	
Não fuma/não bebe	14 (33,3%)	7 (31,8%)	7 (35,0%)	
Fuma				
Não	14 (33,3%)	7 (31,8%)	7 (35,0%)	0,827
Sim	28 (66,7%)	15 (68,2%)	13 (65,0%)	

Variável	Total	nNOS (tumor)		p
		Até 75%	>75%	
Bebe				
Não	31 (73,8%)	14 (63,6%)	17 (85,0%)	0,116
Sim	11 (26,2%)	8 (36,4%)	3 (15,0%)	
Idade (60 anos)				
Até 60 anos	24 (57,1%)	14 (63,6%)	10 (50,0%)	0,372
Mais de 60 anos	18 (42,9%)	8 (36,4%)	10 (50,0%)	
Instrução				
Analfabeto/1º grau incompleto	22 (52,4%)	9 (40,9%)	13 (65,0%)	0,118
1º grau incompleto/2º grau/superior	20 (47,6%)	13 (59,1%)	7 (35,0%)	
Tratamento realizado				
Cirurgia	5 (12,2%)	4 (19,0%)	1 (5,0%)	0,389
Cirurgia + RT	17 (41,5%)	8 (38,1%)	9 (45,0%)	
Cirurgia + RT + QT	19 (46,3%)	9 (42,9%)	10 (50,0%)	
Vivo/morto				
Vivo	36 (85,7%)	21 (95,5%)	15 (75,0%)	0,058
Morto	6 (14,3%)	1 (4,5%)	5 (25,0%)	

Fonte: Dados da pesquisa (2026).
*p<0,05, teste exato de Fisher ou qui-quadrado de Pearson (n, %).

Tabela 2 – Associação entre a imunoexpressão de eNOS no tumor e no estroma e as variáveis clinicopatológicas e sociodemográficas

		eNOS tumor			eNOS estroma		
Variável	**Total**	**Até 300**	**>300**	**p**	**Até 180**	**>180**	**p**
Localização							
Assoalho de boca	20 (47,6%)	17 (50,0%)	18 (42,9%)	0,642	22 (52,4%)	7 (33,3%)	0,105
Língua	16 (38,1%)	12 (35,3%)	14 (33,3%)		16 (38,1%)	8 (38,1%)	
Lábio	4 (9,5%)	2 (5,9%)	6 (14,3%)		2 (4,8%)	4 (19,0%)	
Área retromolar	1 (2,4%)	1 (2,9%)	1 (2,4%)		0 (0,0%)	1 (4,8%)	
Rebordo alveolar	1 (2,4%)	1 (2,9%)	3 (7,1%)		2 (4,8%)	0 (0,0%)	
Localização							
Assoalho bucal	20 (47,6%)	17 (50,0%)	18 (42,9%)	0,601	22 (52,4%)	7 (33,3%)	0,116
Língua	16 (38,1%)	12 (35,3%)	14 (33,3%)		16 (38,1%)	8 (38,1%)	
Outros	6 (14,3%)	5 (14,7%)	10 (23,8%)		4 (9,5%)	6 (28,6%)	
Gradação histológica							
Bem/moderadamente diferenciado	39 (92,9%)	33 (97,1%)	38 (90,5%)	0,250	38 (90,5%)	21 (100,0%)	0,144
Pobremente diferenciado	3 (7,1%)	1 (2,9%)	4 (9,5%)		4 (9,5%)	0 (0,0%)	
Convênio							
SUS	39 (92,9%)	33 (97,1%)	40 (95,2%)	0,685	41 (97,6%)	20 (95,2%)	0,611
Plano de saúde/privado	3 (7,1%)	1 (2,9%)	2 (4,8%)		1 (2,4%)	1 (4,8%)	
T							
T1/2	16 (38,1%)	16 (47,1%)	13 (31,0%)	0,151	19 (45,2%)	7 (33,3%)	0,366
T3/4	26 (61,9%)	18 (52,9%)	29 (69,0%)		23 (54,8%)	14 (66,7%)	
N							
N0/1	22 (52,4%)	21 (61,8%)	29 (69,0%)	0,506	29 (69,0%)	13 (61,9%)	0,571
N2/3	20 (47,6%)	13 (38,2%)	13 (31,0%)		13 (31,0%)	8 (38,1%)	
Estádio							
Estádio 1 e 2	10 (23,8%)	5 (14,7%)	11 (26,2%)	0,222	9 (21,4%)	6 (28,6%)	0,530
Estádio 3 e 4	32 (76,2%)	29 (85,3%)	31 (73,8%)		33 (78,6%)	15 (71,4%)	
Sexo							
Masculino	28 (66,7%)	21 (61,8%)	29 (69,0%)	0,506	26 (61,9%)	13 (61,9%)	1,000
Feminino	14 (33,3%)	13 (38,2%)	13 (31,0%)		16 (38,1%)	8 (38,1%)	

Variável	Total	eNOS tumor		p	eNOS estroma		p
		Até 300	>300		Até 180	>180	
Cor							
Pardo	34 (81,0%)	27 (79,4%)	34 (81,0%)	0,867	34 (81,0%)	19 (90,5%)	0,329
Não pardo	8 (19,0%)	7 (20,6%)	8 (19,0%)		8 (19,0%)	2 (9,5%)	
Procedência							
Capital	11 (26,2%)	9 (26,5%)	16 (38,1%)	0,283	16 (38,1%)	5 (23,8%)	0,257
Interior	31 (73,8%)	25 (73,5%)	26 (61,9%)		26 (61,9%)	16 (76,2%)	
Estado civil							
Com vínculo matrimonial	30 (71,4%)	27 (79,4%)	28 (66,7%)	0,217	29 (69,0%)	15 (71,4%)	0,846
Sem vínculo matrimonial	12 (28,6%)	7 (20,6%)	14 (33,3%)		13 (31,0%)	6 (28,6%)	
Hábitos							
Fuma	17 (40,5%)	11 (32,4%)	19 (45,2%)	0,349	15 (35,7%)	9 (42,9%)	0,632
Fuma e bebe	11 (26,2%)	12 (35,3%)	9 (21,4%)		12 (28,6%)	7 (33,3%)	
Não fuma/não bebe	14 (33,3%)	11 (32,4%)	14 (33,3%)		15 (35,7%)	5 (23,8%)	
Fuma							
Não	14 (33,3%)	11 (32,4%)	14 (33,3%)	0,928	15 (35,7%)	5 (23,8%)	0,339
Sim	28 (66,7%)	23 (67,6%)	28 (66,7%)		27 (64,3%)	16 (76,2%)	
Bebe							
Não	31 (73,8%)	22 (64,7%)	33 (78,6%)	0,179	30 (71,4%)	14 (66,7%)	0,698
Sim	11 (26,2%)	12 (35,3%)	9 (21,4%)		12 (28,6%)	7 (33,3%)	
Idade (60 anos)							
Até 60 anos	24 (57,1%)	20 (58,8%)	23 (54,8%)	0,722	22 (52,4%)	15 (71,4%)	0,148
Mais de 60 anos	18 (42,9%)	14 (41,2%)	19 (45,2%)		20 (47,6%)	6 (28,6%)	
Instrução							
Analfabeto/1º grau incompleto	22 (52,4%)	18 (52,9%)	21 (50,0%)	0,799	25 (59,5%)	10 (47,6%)	0,370
1º grau incompleto/2º grau/superior	20 (47,6%)	16 (47,1%)	21 (50,0%)		17 (40,5%)	11 (52,4%)	
Tratamento realizado							
Cirurgia	5 (12,2%)	3 (8,8%)	7 (17,5%)	0,252	4 (9,8%)	4 (20,0%)	0,300

Variável	Total	eNOS tumor		p	eNOS estroma		p
		Até 300	>300		Até 180	>180	
Cirurgia + RT	17 (41,5%)	13 (38,2%)	19 (47,5%)		20 (48,8%)	6 (30,0%)	
Cirurgia + RT + QT	19 (46,3%)	18 (52,9%)	14 (35,0%)		17 (41,5%)	10 (50,0%)	
Vivo/morto							
Vivo	36 (85,7%)	32 (94,1%)	34 (81,0%)	0,091	36 (85,7%)	19 (90,5%)	0,593
Morto	6 (14,3%)	2 (5,9%)	8 (19,0%)		6 (14,3%)	2 (9,5%)	

Fonte: Dados da pesquisa (2026).
*p<0,05, teste exato de Fisher ou qui-quadrado de Pearson (n, %).

Tabela 3 – Associação entre a imunoexpressão de iNOS no tumor e no estroma e as variáveis clinicopatológicas e sociodemográficas

		iNOS tumor			iNOS estroma		
Variável	**Total**	**Até 200**	**>200**	**p**	**Até 80**	**>80**	**p**
Localização							
Assoalho de boca	20 (47,6%)	15 (41,7%)	20 (50,0%)	0,531	9 (30,0%)	20 (54,1%)	0,194
Língua	16 (38,1%)	11 (30,6%)	15 (37,5%)		14 (46,7%)	11 (29,7%)	
Lábio	4 (9,5%)	6 (16,7%)	2 (5,0%)		5 (16,7%)	3 (8,1%)	
Área retromolar	1 (2,4%)	1 (2,8%)	1 (2,5%)		0 (0,0%)	2 (5,4%)	
Rebordo alveolar	1 (2,4%)	2 (5,6%)	2 (5,0%)		1 (3,3%)	1 (2,7%)	
Localização							
Assoalho bucal	20 (47,6%)	15 (41,7%)	20 (50,0%)	0,247	9 (30,0%)	20 (54,1%)	0,141
Língua	16 (38,1%)	11 (30,6%)	15 (37,5%)		14 (46,7%)	11 (29,7%)	
Outros	6 (14,3%)	10 (27,8%)	5 (12,5%)		7 (23,3%)	6 (16,2%)	
Gradação histológica							
Bem/moderadamente diferenciado	39 (92,9%)	34 (94,4%)	37 (92,5%)	0,733	26 (86,7%)	36 (97,3%)	0,100
Pobremente diferenciado	3 (7,1%)	2 (5,6%)	3 (7,5%)		4 (13,3%)	1 (2,7%)	
Convênio							
SUS	39 (92,9%)	33 (91,7%)	40 (100,0%)	0,062	29 (96,7%)	35 (94,6%)	0,683
Plano de saúde/privado	3 (7,1%)	3 (8,3%)	0 (0,0%)		1 (3,3%)	2 (5,4%)	
T							
T1/2	16 (38,1%)	16 (44,4%)	13 (32,5%)	0,284	12 (40,0%)	16 (43,2%)	0,789
T3/4	26 (61,9%)	20 (55,6%)	27 (67,5%)		18 (60,0%)	21 (56,8%)	
N							
N0/1	22 (52,4%)	**28 (77,8%)***	22 (55,0%)	**0,037**	21 (70,0%)	24 (64,9%)	0,656
N2/3	20 (47,6%)	8 (22,2%)	**18 (45,0%)***		9 (30,0%)	13 (35,1%)	
Estádio							
Estádio 1 e 2	10 (23,8%)	9 (25,0%)	7 (17,5%)	0,423	8 (26,7%)	8 (21,6%)	0,630
Estádio 3 e 4	32 (76,2%)	27 (75,0%)	33 (82,5%)		22 (73,3%)	29 (78,4%)	
Sexo							
Masculino	28 (66,7%)	23 (63,9%)	27 (67,5%)	0,740	21 (70,0%)	22 (59,5%)	0,371
Feminino	14 (33,3%)	13 (36,1%)	13 (32,5%)		9 (30,0%)	15 (40,5%)	

Variável	Total	iNOS tumor		p	iNOS estroma		p
		Até 200	>200		Até 80	>80	
Cor							
Pardo	34 (81,0%)	28 (77,8%)	33 (82,5%)	0,606	23 (76,7%)	32 (86,5%)	0,297
Não pardo	8 (19,0%)	8 (22,2%)	7 (17,5%)		7 (23,3%)	5 (13,5%)	
Procedência							
Capital	11 (26,2%)	11 (30,6%)	14 (35,0%)	0,681	12 (40,0%)	11 (29,7%)	0,379
Interior	31 (73,8%)	25 (69,4%)	26 (65,0%)		18 (60,0%)	26 (70,3%)	
Estado civil							
Com vínculo matrimonial	30 (71,4%)	28 (77,8%)	27 (67,5%)	0,317	22 (73,3%)	26 (70,3%)	0,782
Sem vínculo matrimonial	12 (28,6%)	8 (22,2%)	13 (32,5%)		8 (26,7%)	11 (29,7%)	
Hábitos							
Fuma	17 (40,5%)	13 (36,1%)	17 (42,5%)	0,099	10 (33,3%)	16 (43,2%)	0,700
Fuma e bebe	11 (26,2%)	7 (19,4%)	14 (35,0%)		9 (30,0%)	10 (27,0%)	
Não fuma/não bebe	14 (33,3%)	16 (44,4%)	9 (22,5%)		11 (36,7%)	11 (29,7%)	
Fuma							
Não	14 (33,3%)	**16 (44,4%)***	9 (22,5%)	**0,042**	11 (36,7%)	11 (29,7%)	0,548
Sim	28 (66,7%)	20 (55,6%)	**31 (77,5%)***		19 (63,3%)	26 (70,3%)	
Bebe							
Não	31 (73,8%)	29 (80,6%)	26 (65,0%)	0,130	21 (70,0%)	27 (73,0%)	0,788
Sim	11 (26,2%)	7 (19,4%)	14 (35,0%)		9 (30,0%)	10 (27,0%)	
Idade (60 anos)							
Até 60 anos	24 (57,1%)	23 (63,9%)	20 (50,0%)	0,223	18 (60,0%)	20 (54,1%)	0,625
Mais de 60 anos	18 (42,9%)	13 (36,1%)	20 (50,0%)		12 (40,0%)	17 (45,9%)	
Instrução							
Analfabeto/1º grau incompleto	22 (52,4%)	11 (30,6%)	**28 (70,0%)***	**0,001**	16 (53,3%)	18 (48,6%)	0,703
1º grau incompleto/2º grau/superior	20 (47,6%)	**25 (69,4%)***	12 (30,0%)		14 (46,7%)	19 (51,4%)	
Tratamento realizado							
Cirurgia	5 (12,2%)	5 (14,7%)	5 (12,5%)	0,933	6 (20,0%)	4 (11,4%)	0,580

Variável	Total	iNOS tumor		p	iNOS estroma		p
		Até 200	>200		Até 80	>80	
Cirurgia + RT	17 (41,5%)	15 (44,1%)	17 (42,5%)		13 (43,3%)	15 (42,9%)	
Cirurgia + RT + QT	19 (46,3%)	14 (41,2%)	18 (45,0%)		11 (36,7%)	16 (45,7%)	
Vivo/morto							
Vivo	36 (85,7%)	**35 (97,2%)***	31 (77,5%)	**0,011**	25 (83,3%)	34 (91,9%)	0,283
Morto	6 (14,3%)	1 (2,8%)	**9 (22,5%)***		5 (16,7%)	3 (8,1%)	

Fonte: Dados da pesquisa (2026).
*p<0,05, teste exato de Fisher ou qui-quadrado de Pearson (n, %).

6 DISCUSSÃO

Este estudo permitiu avaliar a relação entre a imunoexpressão das isoformas da óxido nítrico sintase (NOS) e a progressão do carcinoma de células escamosas oral (CEC), evidenciando comportamentos distintos entre nNOS, iNOS e eNOS no microambiente tumoral. De forma geral, a nNOS associou-se apenas ao estadiamento clínico, sem repercussão na sobrevida; a iNOS destacou-se como a isoforma de maior relevância prognóstica, associando-se ao comprometimento linfonodal, à sobrevida, ao histórico de tabagismo e ao nível de escolaridade dos pacientes; e a eNOS não apresentou associação com nenhuma das variáveis avaliadas. Esses achados reforçam a natureza multifuncional do óxido nítrico (NO) na carcinogênese, uma vez que sua atuação depende diretamente da isoforma envolvida, da concentração local e do contexto inflamatório, conforme previamente descrito por Ridnour *et al.* (2008) e Thomas *et al.* (2008).

A análise da nNOS demonstrou ausência de associação estatisticamente significativa com a maioria das variáveis clinicopatológicas, incluindo localização tumoral, grau de diferenciação, sexo, idade, procedência, estado civil, tamanho tumoral e comprometimento linfonodal. Esse comportamento sugere participação limitada dessa isoforma na progressão tumoral direta, o que está de acordo com a literatura que descreve a nNOS como isoforma constitutiva, relacionada à produção basal de NO e à regulação fisiológica da sinalização celular (Xu *et al.,* 2002).

Entretanto, observou-se associação significativa entre nNOS e estadiamento clínico (p=0,045), com maior frequência de casos em estádios III/IV entre pacientes com maior expressão. Esse achado sugere possível envolvimento da nNOS em fases mais avançadas da doença, possivelmente relacionado à manutenção de vias de sobrevivência celular mediadas por NO, como a ativação da PI3K/AKT, já descrita na literatura como mecanismo associado à progressão tumoral em contextos específicos de sinalização (Ridnour *et al.,* 2008).

Em contrapartida, a iNOS apresentou associação significativa com comprometimento linfonodal (p=0,037) e sobrevida (p=0,011), sendo que sua maior expressão esteve relacionada à maior frequência de metástases linfonodais e maior taxa de óbitos. Esses achados reforçam fortemente seu papel como marcador de agressividade tumoral, o que está em concordância com estudos que demonstram que a iNOS produz grandes quantidades de NO de forma sustentada em contextos inflamatórios, favorecendo

instabilidade genômica, angiogênese e progressão tumoral (Servato *et al.*, 2019; Shang; Li, 2005).

Servato *et al.* (2019) demonstraram ainda que a expressão de iNOS e de nitrotirosina aumenta progressivamente ao longo da carcinogênese oral, associando-se a variáveis clínico-patológicas como estadiamento, recidiva e sobrevida, corroborando o papel dessa isoforma como marcador de pior prognóstico também neste estudo.

Adicionalmente, observou-se associação entre a expressão de iNOS e o histórico de tabagismo, achado biologicamente coerente com a literatura, uma vez que compostos carcinogênicos presentes no tabaco, como as nitrosaminas, são conhecidos indutores diretos de estresse oxidativo e de resposta inflamatória crônica na mucosa oral, processos diretamente relacionados à indução da enzima iNOS em contextos inflamatórios (Chamoli *et al.,* 2021).

Por outro lado, a associação encontrada entre a expressão de iNOS e o nível de escolaridade também merece atenção. É possível que essa relação não seja de uma via biológica direta, mas sim de uma consequência da desigualdade no acesso à informação e aos serviços de saúde, pois pacientes com menor escolaridade tendem a procurar atendimento mais tardiamente, sendo diagnosticados em estágios mais avançados e biologicamente mais agressivos da doença (Dantas *et al.*, 2016). Nesse sentido, a escolaridade pode não ser apenas uma variável estatística isolada, mas um indicativo de uma barreira real de acesso à informação e ao diagnóstico precoce, reforçando a importância de estratégias de conscientização e rastreamento voltadas a populações mais vulneráveis.

Cabe ressaltar, contudo, que nem todos os estudos da literatura confirmam a associação entre iNOS e desfechos clínicos observada neste trabalho. Pukkila *et al.* (2002), ao avaliarem 118 casos de carcinoma de orofaringe e hipofaringe por meio de imuno-histoquímica, não encontraram relação estatisticamente significativa entre a expressão de iNOS e o estadiamento tumoral, o comprometimento linfonodal ou a sobrevida global, concluindo que a iNOS não apresentou valor prognóstico neste sítio anatômico. Os autores identificaram, no entanto, correlação positiva entre a expressão de iNOS e a expressão de p53, sugerindo que as duas vias possam estar inter-relacionadas na carcinogênese de cabeça e pescoço, embora a relação causal entre elas permaneça não esclarecida. Essa discordância pode estar relacionada a diferenças na localização anatômica do tumor primário, no tamanho amostral e nos métodos de quantificação da imunomarcação empregados entre os estudos, reforçando a necessidade de cautela na generalização do papel prognóstico da iNOS e de investigações adicionais padronizadas metodologicamente.

Já a eNOS não apresentou associação estatisticamente significativa com nenhuma das variáveis clinicopatológicas avaliadas neste estudo, incluindo estadiamento, comprometimento linfonodal e sobrevida. Esse resultado contrasta com o descrito por Shang e Li (2005), que identificaram associação positiva entre a expressão de eNOS e a densidade microvascular tumoral, relacionando essa isoforma ao processo de angiogênese e à progressão do CEC. Essa divergência pode ser atribuída a diferenças metodológicas entre os estudos, como o tamanho amostral, os critérios de positividade adotados na quantificação imuno-histoquímica e as características clínicas da população avaliada. Ainda assim, o papel da eNOS na angiogênese tumoral permanece biologicamente plausível, sugerindo que sua contribuição prognóstica possa depender de fatores locais do microambiente tumoral, como a hipóxia e a concentração de VEGF, não completamente capturados pelas variáveis clínico-patológicas isoladas analisadas neste trabalho.

Além disso, o excesso de NO derivado da iNOS pode reagir com espécies reativas de oxigênio formando peroxinitrito, molécula altamente citotóxica capaz de induzir danos ao DNA e alterações mitocondriais, contribuindo para o fenótipo agressivo observado no CEC. Revisão recente reforça esses mecanismos, discutindo de que forma a iNOS modula o crescimento, a sobrevivência e a capacidade metastática das células tumorais em diferentes tipos de câncer, com ênfase adicional no seu papel na modulação da vigilância imunológica antitumoral (Chen, 2024). Esse comportamento agressivo contrasta diretamente com o das isoformas constitutivas, nNOS e eNOS, por produzirem NO em pequenas quantidades e de forma transitória, ambas estão mais associadas à manutenção da homeostase fisiológica do que à progressão tumoral sustentada, o que ajuda a explicar por que, neste estudo, a eNOS não se associou a nenhuma variável de agressividade, e a nNOS associou-se apenas ao estadiamento, sem repercussão na sobrevida.

De forma geral, os resultados indicam que o papel do NO na carcinogênese oral é isoforma-dependente. Enquanto a nNOS e a eNOS parecem atuar de maneira mais regulatória e dependente do microambiente fisiológico, a iNOS se destaca como a principal isoforma associada à progressão tumoral e ao pior desfecho clínico no CEC. Esse comportamento dual do NO já foi amplamente descrito na literatura, reforçando sua capacidade de atuar tanto como mediador de sobrevivência quanto de citotoxicidade, dependendo do contexto biológico (Ridnour *et al.,* 2008).

7 CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo demonstram que as isoformas da enzima óxido nítrico sintase (NOS) apresentam padrões distintos de expressão e associação com variáveis clinicopatológicas no carcinoma de células escamosas oral (CEC), reforçando o caráter isoforma-dependente da atuação do óxido nítrico (NO) na carcinogênese oral. A nNOS associou-se apenas ao estadiamento clínico, sem associação estatisticamente significativa com a sobrevida. A iNOS destacou-se como a isoforma de maior relevância prognóstica, associando-se ao comprometimento linfonodal, à sobrevida, ao histórico de tabagismo e ao nível de escolaridade dos pacientes. A eNOS, por sua vez, não apresentou relação com nenhuma variável de progressão tumoral ou prognóstico. Dessa forma, a iNOS se destaca como a principal isoforma associada à progressão tumoral e ao pior prognóstico no CEC, podendo representar um potencial biomarcador complementar na avaliação prognóstica desses pacientes, especialmente em pacientes tabagistas. Estudos adicionais, com maior poder amostral, são necessários para aprofundar a compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos.

REFERÊNCIAS

ALVES, A. *et al.* Tumor microenvironment and Oral Squamous Cell Carcinoma: A crosstalk between the inflammatory state and tumor cell migration. **Oral Oncology**, Oxford, v. 112, p. 105038, 2021. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2020.105038. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2020.105038. Acesso em: 2 nov. 2026.

AMBE, K. *et al.* Production and physiological role of NO in the oral cavity. **Japanese Dental Science Review**, Amsterdam, v. 52, n. 1, p. 14-21, 2016. DOI: 10.1016/j.jdsr.2015.08.001. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.jdsr.2015.08.001. Acesso em: 2 nov. 2026.

BARNES, L.; EVESON, J. W.; REICHART, P.; SIDRANSKY, D. (ed.). **World Health Organization Classification of Tumours**: Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours. Lyon: IARC Press, 2005.

BRENNAN, P. A. *et al.* Type II nitric oxide synthase (NOS2) expression correlates with lymph node status in oral squamous cell carcinoma. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, Copenhagen, v. 30, n. 3, p. 129-134, 2001. DOI: 10.1034/j.1600-0714.2001.300301.x. Disponível em: https://doi.org/10.1034/j.1600-0714.2001.300301.x. Acesso em: 2 nov. 2026.

CARKIC, J. *et al.* Endothelial nitric oxide synthase polymorphisms/haplotypes are strong modulators of oral cancer risk in Serbian population. **Journal of Oral Science**, Tokyo, v. 62, n. 3, p. 322-326, 2020. DOI: 10.2334/josnusd.19-0310. Disponível em: https://doi.org/10.2334/josnusd.19-0310. Acesso em: 2 nov. 2026.

CHAMOLI, A. *et al.* Oral squamous cell carcinoma: an overview of risk factors, pathogenesis, and diagnostic approaches. **Oral Oncology**, Oxford, v. 121, p. 105451, 2021. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2021.105451. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2021.105451. Acesso em: 2 nov. 2026.

CHEN, T. Unveiling the significance of inducible nitric oxide synthase: Its impact on cancer progression and clinical implications. **Cancer Letters**, Amsterdam, v. 592, p. 216931, 2024. DOI: 10.1016/j.canlet.2024.216931. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.canlet.2024.216931. Acesso em: 2 nov. 2026.

CONNELLY, S. T. *et al.* Increased nitric oxide levels and iNOS over-expression in oral squamous cell carcinoma. **Oral Oncology**, Oxford, v. 41, n. 3, p. 261-267, 2005. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2004.09.007. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2004.09.007. Acesso em: 2 nov. 2026.

DANTAS, T. S. *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)**, Baltimore, v. 95, n. 3, p. e2314, 2016. DOI: 10.1097/MD.0000000000002314. Disponível em: https://doi.org/10.1097/MD.0000000000002314. Acesso em: 2 nov. 2026.

FERREIRA, A. K. *et al.* Survival and prognostic factors in patients with oral squamous cell carcinoma. **Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal**, Valencia, v. 26, n. 3, p. e387-e392, 2021. DOI: 10.4317/medoral.24242. Disponível em: https://doi.org/10.4317/medoral.24242. Acesso em: 2 nov. 2026.

FLORA FILHO, R.; ZILBERSTEIN, B. Óxido nítrico: o simples mensageiro percorrendo a complexidade. Metabolismo, síntese e funções. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 46, n. 3, p. 265-271, 2000. DOI: 10.1590/S0104-42302000000300012. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S0104-42302000000300012. Acesso em: 2 nov. 2026.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **Estimativa 2023**: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2022. Disponível em: https://www.inca.gov.br/publicacoes/livros/estimativa-2023-incidencia-de-cancer-no-brasil. Acesso em: 2 nov. 2026.

LECHNER, M.; LIU, J.; MASTERSON, L.; FENTON, T. R. HPV-associated oropharyngeal cancer: epidemiology, molecular biology and clinical management. **Nature Reviews Clinical Oncology**, London, v. 19, n. 5, p. 306-327, 2022. DOI: 10.1038/s41571-022-00603-7. Disponível em: https://doi.org/10.1038/s41571-022-00603-7. Acesso em: 2 nov. 2026.

LYDIATT, W. 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**, Hoboken, v. 67, n. 2, p. 122-137, 2017. DOI: 10.3322/caac.21389. Disponível em: https://doi.org/10.3322/caac.21389. Acesso em: 2 nov. 2026.

MORAIS, E. F. *et al.* Prognostic factors of oral squamous cell carcinoma in young patients: a systematic review. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, Philadelphia, v. 75, n. 7, p. 1555-1566, 2017. DOI: 10.1016/j.joms.2016.12.017. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.joms.2016.12.017. Acesso em: 2 nov. 2026.

OLIVEIRA, M. L. C. *et al.* A 10-year analysis of the oral squamous cell carcinoma profile in patients from public health centers in Uruguay. **Brazilian Oral Research**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 1-8, 2015. DOI: 10.1590/1807-3107BOR-2015.vol29.0075. Disponível em: https://doi.org/10.1590/1807-3107BOR-2015.vol29.0075. Acesso em: 2 nov. 2026.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Classificação Internacional de Doenças para Oncologia (CID-O)**. 3. ed. Tradução Fundação Oncocentro de São Paulo. São Paulo: EDUSP, 2005.

PUKKILA, M. J. *et al.* Inducible nitric oxide synthase expression in pharyngeal squamous cell carcinoma: relation to p53 expression, clinicopathological data, and survival. **The Laryngoscope**, Philadelphia, v. 112, n. 6, p. 1084-1088, 2002. DOI: 10.1097/00005537-200206000-00027. Disponível em: https://doi.org/10.1097/00005537-200206000-00027. Acesso em: 2 nov. 2026.

RIDNOUR, L. A. *et al.* Molecular mechanisms for discrete nitric oxide levels in cancer. **Nitric Oxide**, San Diego, v. 19, n. 2, p. 73-76, 2008. DOI: 10.1016/j.niox.2008.04.006. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.niox.2008.04.006. Acesso em: 2 nov. 2026.

RIVERA, C. *et al.* Clinicopathological and immunohistochemical evaluation of oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma in Chilean population. **International Journal of Clinical and Experimental Pathology**, Madison, v. 7, n. 9, p. 5968-5977, 2014. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4203212/. Acesso em: 2 nov. 2026.

RUMGAY, H. *et al.* Global incidence of lip, oral cavity, and pharyngeal cancers by subsite in 2022. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, Hoboken, v. 76, n. 1, p. 1-13, 2026. DOI: 10.3322/caac.70048. Disponível em: https://doi.org/10.3322/caac.70048. Acesso em: 2 nov. 2026.

SANTOS, L. C. O. *et al.* Characterization of cancer diagnostic delay in the state of Alagoas. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, São Paulo, v. 76, n. 4, p. 416-422, 2010. DOI: 10.1590/S1808-86942010000400002. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S1808-86942010000400002. Acesso em: 2 nov. 2026.

SERVATO, J. P. *et al.* The importance of inducible nitric oxide synthase and nitrotyrosine as prognostic markers for oral squamous cell carcinoma. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, Oxford, v. 48, p. 967-975, 2019. DOI: 10.1111/jop.12942. Disponível em: https://doi.org/10.1111/jop.12942. Acesso em: 2 nov. 2026.

SHANG, Z. J.; LI, J. R. Expression of endothelial nitric oxide synthase and vascular endothelial growth factor in oral squamous cell carcinoma: its correlation with angiogenesis and disease progression. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, Oxford, v. 34, n. 3, p. 134-139, 2005. DOI: 10.1111/j.1600-0714.2004.00259.x. Disponível em: https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.2004.00259.x. Acesso em: 2 nov. 2026.

THOMAS, D. D. *et al.* The chemical biology of nitric oxide: implications in cellular signaling. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v. 45, n. 1, p. 18-31, 2008. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2008.03.020. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2008.03.020. Acesso em: 2 nov. 2026.

VANNINI, F.; KASHFI, K.; NATH, N. The dual role of iNOS in cancer. **Redox Biology**, Amsterdam, v. 6, p. 334-343, 2015. DOI: 10.1016/j.redox.2015.08.009. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.08.009. Acesso em: 2 nov. 2026.

XU, W. *et al.* The role of nitric oxide in cancer. **Cell Research**, Shanghai, v. 12, p. 311-320, 2002. DOI: 10.1038/sj.cr.7290133. Disponível em: https://doi.org/10.1038/sj.cr.7290133. Acesso em: 2 nov. 2026.

YANG, L. *et al.* The expression and correlation of iNOS and p53 in oral squamous cell carcinoma. **BioMed Research International**, Cairo, v. 2015, p. 637853, 2015. DOI: 10.1155/2015/637853. Disponível em: https://doi.org/10.1155/2015/637853. Acesso em: 2 nov. 2026.

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

INSTITUTO DO CÂNCER DO CEARA - ICC

Continuação do Parecer: 1.618.057

6, anti-IL-1, anti-IL-18, anti-NF-B, anti-TNF-); 3. Avaliação de morte e proliferação celular (TUNEL e anticorpo anti-ki67).Determina através de extração de DNA e PCR, das biópsias excisionais da primeira fase do estudo, a expressão de receptores opioides Mu (μ), Kappa () e Delta (). Determina através de extração de RNA e qPCR, das biópsias excisionais da segunda fase do estudo, a expressão de receptores opioides Mu (μ), Kappa () e Delta (); marcadores de angiogênese (CD31, VEGF); inflamação (IL6, IL-1, IL-18, NF-B, TNF-) e proliferação celular (ki67). Correlacionar os dados coletados nas análises imuno-histoquímicas e das técnicas moleculares com fatores prognósticos, incluindo sobrevida e qualidade de vida, através de questionários.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos - O primeiro momento da pesquisa (retrospectivo) tem como riscos aqueles associados com a análise e guarda de prontuários (sigilo da informação e coleta dos dados) e o possível desconforto /constrangimento para responder questionário sobre a doença . No segundo momento da pesquisa os riscos estão relacionados com o uso do material de arquivo (blocos de parafina) que podem ser perdidos/extraviados ou exauridos Beneficio - Como beneficio o(a) pesquisador(a) aponta o conhecimento que pode advir do estudo dos receptores opióides em relação com o câncer de boca e orofaringe e marcadores inflamatórios

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa é factível ,já possui aprovação do CEP da UFC e obedece ao que está previsto na Resolução 466/12 do CNS.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados TCLE (corrigido) à pedido do CEP da UFC .Termos de Fiel depositário da amostra e termo de autorização do laboratório de patologia .

Recomendações:

Não se aplica

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O projeto não possui óbices éticos à sua realização.

Considerações Finais a critério do CEP:

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

Endereço: PAPI JUNIOR
Bairro: RODOLFO TEÓFILO **CEP:** 60.441-700
UF: CE **Município:** FORTALEZA
Telefone: (85)3288-4653 **Fax:** (85)3228-4653 **E-mail:** eco@hospcancer-icc.org.br

INSTITUTO DO CÂNCER DO CEARA - ICC

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ESTUDO DA CORRELAÇÃO ENTRE A EXPRESSÃO DE RECEPTORES OPIOIDES, VIAS INFLAMATÓRIAS E MARCADORES DE ANGIOGÊNESE NO CÂNCER DE BOCA E DE OROFARINGE

Pesquisador: Thinali Sousa Dantas

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 51871315.4.3001.5528

Instituição Proponente: Departamento de Clínica Odontológica

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.618.057

Apresentação do Projeto:

O câncer de boca e orofaringe é uma neoplasia de elevada incidência sendo o carcinoma de celulas escamosas o tipo histológico mais frequente . Trata-se de um projeto de pesquisa envolvendo seres humanos com dois momentos : um de de desenho retrospectivo com base em prontuários e em análises de amostras arquivadas em blocos de parafina, e um segundo momento ,prospectivo para avaliar a sobrevida de participantes portadores de câncer de boca e orofaringe diagnosticados no hospital do câncer do ceará e no serviço de odontologia do departamento de clinica odontológica da Ceará .

Objetivo da Pesquisa:

Primário -Avaliar de forma retrospectiva e prospectiva a expressão dos receptores opioides Mu (μ), Kappa () e Delta () correlacionando com fatores prognósticos, marcadores inflamatórios e de angiogênese nos carcinomas de boca e orofaringe de pacientes diagnosticados e operados no Hospital Haroldo Juaçaba (Instituto do Câncer do Ceará.

Secundários -Determinar em biópsias excisionais de carcinomas de boca e orofaringe, através de imuno-histoquímica convencional e tissue microarray (TMA), a expressão de: 1. Receptores opioides Mu (μ), Kappa () e Delta () (Anticorpos anti-Mu, anti-Kappa, anti-Delta e anti-Mup) 2. Marcadores de angiogênese (anticorpos anti-CD31 e anti-VEGF) e inflamação (anticorpos anti-IL-

Endereço: PAPI JUNIOR
Bairro: RODOLFO TEÓFILO **CEP:** 60.441-700
UF: CE **Município:** FORTALEZA
Telefone: (85)3288-4653 **Fax:** (85)3228-4653 **E-mail:** eco@hospcancer-icc.org.br

INSTITUTO DO CÂNCER DO CEARA - ICC



Continuação do Parecer: 1.618.057

Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	02/12/2015 19:02:25	Thinali Sousa Dantas	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	declaracaopatologia.pdf	02/12/2015 19:01:39	Thinali Sousa Dantas	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	declaracaonempi.pdf	02/12/2015 19:01:27	Thinali Sousa Dantas	Aceito
Outros	lattes.pdf	27/11/2015 14:06:10	Thinali Sousa Dantas	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto.pdf	27/11/2015 13:58:43	Thinali Sousa Dantas	Aceito
Orçamento	custo.pdf	27/11/2015 13:57:06	Thinali Sousa Dantas	Aceito
Cronograma	cronograma.pdf	27/11/2015 13:56:15	Thinali Sousa Dantas	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	27/11/2015 13:55:34	Thinali Sousa Dantas	Aceito

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

FORTALEZA, 01 de Julho de 2016

Assinado por:
Marcelo Gurgel Carlos da Silva
(Coordenador)

Endereço: PAPI JUNIOR
Bairro: RODOLFO TEÓFILO **CEP:** 60.441-700
UF: CE **Município:** FORTALEZA
Telefone: (85)3288-4653 **Fax:** (85)3228-4653 **E-mail:** eco@hospcancer-icc.org.br

INSTITUTO DO CÂNCER DO CEARA - ICC



Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_631925.pdf	11/05/2016 21:01:35		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEcorrigido.docx	11/05/2016 21:00:23	Thinali Sousa Dantas	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA.docx	11/05/2016 21:00:11	Thinali Sousa Dantas	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_631925.pdf	29/03/2016 15:49:49		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLECORRIGIDO.pdf	29/03/2016 15:49:31	Thinali Sousa Dantas	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	declaracaopatologiaicc.pdf	29/03/2016 15:12:21	Thinali Sousa Dantas	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	declaracaocbepcicc.pdf	29/03/2016 15:12:01	Thinali Sousa Dantas	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_631925.pdf	22/03/2016 21:20:14		Aceito
Cronograma	cronogramaatualizado.pdf	22/03/2016 21:19:28	Thinali Sousa Dantas	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_631925.pdf	23/02/2016 18:59:06		Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	declaracaocbicc.pdf	23/02/2016 18:58:41	Thinali Sousa Dantas	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	delaracaopatoicc.pdf	23/02/2016 18:48:41	Thinali Sousa Dantas	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_631925.pdf	07/12/2015 19:56:21		Aceito
Outros	fieldepositarioo.jpg	07/12/2015 19:54:08	Thinali Sousa Dantas	Aceito
Outros	fieldepositario.jpg	07/12/2015 19:53:25	Thinali Sousa Dantas	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	declaracaoicc.jpg	07/12/2015 19:52:06	Thinali Sousa Dantas	Aceito
Outros	cartaaocomite.pdf	02/12/2015 19:06:55	Thinali Sousa Dantas	Aceito
Declaração de Pesquisadores	declaracaodeconcordancia.pdf	02/12/2015 19:06:25	Thinali Sousa Dantas	Aceito

Endereço: PAPI JUNIOR
Bairro: RODOLFO TEÓFILO **CEP:** 60.441-700
UF: CE **Município:** FORTALEZA
Telefone: (85)3288-4653 **Fax:** (85)3228-4653 **E-mail:** eco@hospcancer-icc.org.br