



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA
CURSO DE ODONTOLOGIA

Bárbara Azevedo Machado

Imunoexpressão de marcadores de subpopulações de células dendríticas em adenoma pleomórfico e carcinoma ex-adenoma pleomórfico: estudo multicêntrico

Florianópolis

2023

Bárbara Azevedo Machado

Imunoexpressão de marcadores de subpopulações de células dendríticas em adenoma pleomórfico e carcinoma ex-adenoma pleomórfico: estudo multicêntrico

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de Odontologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Cirurgiã Dentista.

Orientador(a): Prof. Dr. Rogério de Oliveira Gondak

Florianópolis

2023

Machado, Barbara Azevedo

Imunoexpressão de marcadores de subpopulações de células dendríticas em adenoma pleomórfico e carcinoma ex-adenoma pleomórfico: estudo multicêntrico / Barbara Azevedo Machado ; orientador, Rogério de Oliveira Gondak, 2023.

47 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Graduação em Odontologia, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Odontologia. 2. glândulas salivares. 3. neoplasias. 4. câncer de cabeça e pescoço. 5. células dendríticas. I. Gondak, Rogério de Oliveira. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Odontologia. III. Título.

Bárbara Azevedo Machado

Imunoexpressão de marcadores de subpopulações de células dendríticas em adenoma pleomórfico e carcinoma ex-adenoma pleomórfico: estudo multicêntrico

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de Cirurgião Dentista e aprovado em sua forma final pelo Curso de Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 26 de outubro de 2023.



Prof. Dra.
Gláucia Santos Zimmermann,
Coordenadora do Curso

Banca examinadora



Prof. Dr. Rogério de Oliveira Gondak
Orientador



Profa. Dra. Elena Riet Correa Rivero
Universidade Federal de Santa Catarina



Msc. Riéli Elis Schulz
Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis, 2023.

Dedico este trabalho à minha mãe, Maria Teresa Azevedo (*in memoriam*), que sempre me incentivou a ser uma mulher forte e independente.

AGRADECIMENTOS

Queridos pais, **Luíz Mario** e **Maria Teresa**, não há palavras que possam expressar adequadamente a profundidade da minha gratidão. Mãe, embora você não esteja mais fisicamente ao meu lado, sinto sua presença e sei que está torcendo por mim de onde estiver. Pai, sua dedicação e apoio incansável são o alicerce desta jornada. Espero um dia poder retribuir todo o amor e sacrifício que vocês fizeram por mim.

Aos meus amados irmãos, **André, Gabriela e Fabrícia**, meu coração transborda de gratidão por todo o apoio que vocês me deram ao longo da minha trajetória acadêmica. Vocês são minha constante fonte de inspiração e resiliência.

Ao meu orientador, **Professor Rogério**, que me acolheu no início da faculdade quando eu ansiava ingressar no mundo da pesquisa. Sem o seu apoio inabalável, orientação e calma, eu não estaria aqui agora, e certamente não teria adquirido todo o conhecimento que tenho sobre pesquisa. Muito obrigada.

Aos amigos que têm sido minha família desde o colégio, **Camilla, Conrado, Victoria, Maria Eduarda, Julia e Carlos**, vocês são minha fortaleza. Obrigada por estarem sempre ao meu lado, apoiando-me incondicionalmente e por terem sempre palavras de apoio e incentivo, amo vocês.

Aos meus outros familiares, especialmente à minha tia **Patricia** às minhas tias avós **Naide e Babá**, e à querida **Cecilia**, vocês foram meu apoio emocional e espiritual. Saibam que esta conquista é tão de vocês quanto minha. Obrigada por tudo.

Aos meus queridos amigos que fiz na universidade, vocês compartilharam comigo diariamente as conquistas, os fracassos e os momentos de felicidade. Saibam que esta conquista também é de vocês: **Kauanne, Lucas** e as minhas queridas duplas **Camila e Luiza**. Agradeço imensamente por todo o apoio e pelos momentos incríveis que compartilhamos. Somente vocês conhecem verdadeiramente os desafios que enfrentei, e sem a presença de vocês, não teria alcançado tantas conquistas.

À **Universidade Federal de Santa Catarina**, meu sincero agradecimento por fornecer o ambiente propício para desenvolver pesquisa, ensino e extensão de qualidade. Esta instituição moldou meu caminho e a pessoa que eu me tornei.

Aos professores da UFSC, em especial, **Profa. Michele, Prof. Daltoé, Prof. Modolo, Profa. Liliane, Prof. Henrique e Profa. Alessandra** vocês foram exemplos de pessoas brilhantes as quais admiro e me inspiro todos os dias. Obrigada pelos ensinamentos e oportunidades durante a graduação

A todos que, de uma forma ou de outra, contribuíram para esta jornada, meu coração transborda de gratidão. Esta conquista é resultado do amor, apoio e dedicação de muitos. Obrigada por fazerem parte deste capítulo importante da minha vida.

“São as nossas escolhas que revelam o que realmente somos, muito mais do que as nossas qualidades”
(Alvo Dumbledore – Harry Potter e a Câmara Secreta)

RESUMO

Tumores de glândula salivar são neoplasias que variam em suas características e comportamentos clínicos, e o uso de biomarcadores representa um avanço crucial no diagnóstico e prognóstico dessas lesões. Eles permitem uma avaliação precisa do prognóstico e a personalização do tratamento, considerando as características moleculares do tumor. Isso possibilita a identificação da agressividade, a resposta a terapias específicas e a previsão de recorrência, melhorando a tomada de decisões clínicas e a eficácia do tratamento para pacientes com esses tumores. Este estudo investigou o carcinoma ex-adenoma pleomórfico (CEXAP) como uma transformação maligna do adenoma pleomórfico (AP) nas glândulas salivares e analisou o papel das células dendríticas (CDs) na resposta imunológica a esse processo. Foram coletadas amostras de tumores das glândulas salivares de três Centros de Patologia Oral e Maxilofacial em um estudo multicêntrico. O estudo utilizou um microarranjo de tecido contendo 41 amostras de CEXPA e 22 amostras de AP, que foram submetidas a reações imuno-histoquímicas para os marcadores CD1a, CD83, CD207 e Ki-67. Os resultados demonstraram diferenças significativas entre AP e CEXPA em relação à densidade de CDs CD207+ ($p = 0,028$) e CDs CD83+ ($p < 0,001$). Além disso, foi observada uma diferença na taxa de proliferação celular entre os grupos usando o marcador Ki-67 ($p = 0,024$). No entanto, não foram encontradas diferenças significativas na população de CDs com base em parâmetros clínicos, como sexo, localização anatômica, tamanho e presença de metástases ($p > 0,06$). Além disso, a análise microscópica revelou que no AP houve uma maior concentração de CDs no compartimento intratumoral, enquanto no CEXPA, houve uma clara diminuição de CDs tanto no compartimento intratumoral quanto no peritumoral. Não foi encontrada uma correlação significativa entre os marcadores de CDs maduras (CD83) e imaturas (CD1a e CD207). A densidade média de células CD1a+ também não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os casos de AP e CEXPA ($p = 0,402$). Essas observações sugerem que a distribuição e presença das CDs podem variar entre os dois tipos de tumores de glândulas salivares, o que pode ser relevante para a diferenciação entre eles. Em resumo, os resultados indicam que a análise das subpopulações de CDs e os marcadores de proliferação celular podem ser valiosos na distinção entre tumores benignos e malignos, bem como na detecção de áreas com transformação maligna inicial em tumores de glândulas salivares.

Palavras-Chave: Glândulas salivares, neoplasia, imuno-histoquímica, células dendríticas, câncer bucal, câncer de cabeça e pescoço.

ABSTRACT

Salivary gland tumors are neoplasms that vary in their characteristics and clinical behaviors, and the use of biomarkers represents a crucial advancement. They enable a precise assessment of prognosis and the customization of treatment, considering the molecular features of the tumor. This allows for the identification of aggressiveness, response to specific therapies, and prediction of recurrence, enhancing clinical decision-making and treatment efficacy for patients with these tumors. This study investigated carcinoma ex-pleomorphic adenoma (CEXPA) as a malignant transformation from pleomorphic adenoma (PA) in salivary glands and analyzed the role of dendritic cells (DCs) in the immune response to this process. Tumor samples from salivary glands were collected from three Oral and Maxillofacial Pathology Centers in a multicenter study. A tissue microarray containing 41 samples of CEXPA and 22 samples of PA was subjected to immunohistochemical reactions for the markers CD1a, CD83, CD207, and Ki-67. The results demonstrated significant differences between PA and CEXPA in terms of the density of CD207+ DCs ($p = 0.028$) and CD83+ DCs ($p < 0.001$). Additionally, a difference in the cell proliferation rate was observed between the groups using the Ki-67 marker ($p = 0.024$). However, no significant differences were found in the DC population based on clinical parameters such as gender, anatomical location, size, and presence of metastases ($p > 0.06$). Furthermore, microscopic analysis revealed that in pleomorphic adenoma (PA), there was a higher concentration of dendritic cells in the intratumoral compartment, whereas in carcinoma ex-pleomorphic adenoma (CEXPA), there was a clear decrease in DCs in both the intratumoral and peritumoral compartments. No significant correlation was found between mature DC markers (CD83) and immature DC markers (CD1a and CD207). The average density of CD1a+ cells also did not show a statistically significant difference between PA and CEXPA cases ($p = 0.402$). These observations suggest that the distribution and presence of DCs may vary between the two types of salivary gland tumors, which could be relevant for their differentiation. In summary, the results indicate that the analysis of DC subpopulations and cell proliferation markers can be valuable in distinguishing between benign and malignant tumors, as well as in detecting areas with early malignant transformation in salivary gland tumors.

Key-Words: Salivary glands, neoplasia, immunohistochemistry, dendritic cells, oral cancer, head and neck cancer.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. A, Aspecto microscópico do adenoma pleomórfico. B, Aspecto microscópico do Carcinoma ex-adenoma pleomórfico	22
Figura 2. Técnica de microarranjo tecidual	23
Figura 3. Análise imuno-histoquímica de células dendríticas (CDs) em carcinoma ex adenoma pleomórfico (CEXPA) e adenoma pleomórfico (AP).....	24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Achados clínico-patológicos de carcinoma ex-adenoma pleomórfico	25
Tabela 2 - Achados clínicos de adenomas pleomórficos	27
Tabela 3 - Comparação entre os achados clinicopatológicos e o número de células dendríticas em pacientes com Carcinoma ex-adenoma pleomórfico	28

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AI- Amplamente Invasivo
AP- Adenoma Pleomórfico
CAEXP -Carcinoma Ex Adenoma Pleomórfico
CDs - Células Dendríticas
CEC – Carcinoma Espinocelular
CL- Células de Langerhans
FCM-UNICAMP – Faculdade de Ciências Médicas - Universidade Estadual de Campinas
H&E- Hematoxilina e Eosina
HPV – *Human Papilloma Virus*
IC – Intracapsular
IH – Imuno-histoquímica
MI – Minimamente invasivo
OMS - Organização Mundial da Saúde
TGS- Tumores de Glândulas Salivares
TMA - Tissue Microarray
TNM - Classificação de Tumores Malignos (Tamanho, linfonodos e metástase)
UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
1.1 ADENOMA PLEOMÓRFICO.....	15
1.2 CARCINOMA EX ADENOMA PLEOMÓRFICO.....	16
1.3 MARCADORES MOLECULARES.....	17
1.3.1 CD1a.....	17
1.3.2 CD83.....	17
1.3.3 CD207.....	18
1.3.4 Ki67.....	18
2 OBJETIVOS.....	19
2.1 OBJETIVO GERAL.....	19
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	19
3 ARTIGO.....	20
3.1 INTRODUÇÃO.....	21
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	22
3.2.1 Análise Histopatológica.....	22
3.2.2 Células Dendríticas.....	23
3.2.3 Análise Estatística.....	25
3.3 RESULTADO.....	25
3.4 DISCUSSÃO.....	29
3.5 CONCLUSÃO.....	31
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	36
REFERÊNCIAS	
ANEXO 1	
ANEXO 2	

1. INTRODUÇÃO

Os tumores de glândulas salivares (TGS) representam uma parcela relativamente pequena, variando de 2% a 6%, de todos os cânceres diagnosticados na região da cabeça e pescoço (LIAO et al., 2020). A incidência mais significativa ocorre em indivíduos em torno da quinta década de vida. Os TGS têm uma tendência a afetar predominantemente as glândulas salivares maiores, com a glândula parótida sendo a mais comumente afetada, com uma taxa variando de 39,3% a 66,9%, dependendo das características epidemiológicas regionais (GOMES et al., 2016).

Neste trabalho, abordaremos especialmente dois tipos de TGS: o carcinoma ex-adenoma pleomórfico (CEXAP) e o adenoma pleomórfico (AP). O AP é a neoplasia mais comum das glândulas salivares, com a maioria dos casos ocorrendo na glândula parótida (85%), seguidos das glândulas salivares menores (10%) e glândulas submandibulares (5%) (ALMESLET, 2020a). Em alguns casos, o AP pode evoluir para uma forma maligna ao longo do tempo, com o risco de malignização aumentando proporcionalmente com a duração da lesão *in situ*, indo de 1,5% nos primeiros cinco anos a até 9,5% após 15 anos (KALWANIYA et al., 2023).

O CEXAP é considerado uma transformação maligna do AP pré-existente (KEY et al., 2022; PARK et al., 2022). Essa lesão apresenta características benignas e malignas na análise histológica e é uma neoplasia rara das glândulas salivares. De acordo com estudos anteriores, a prevalência média do CEXAP é de aproximadamente 12% de todas as neoplasias salivares malignas (UMAR et al., 2022).

O diagnóstico de lesões tumorais como os TGS, quando a análise morfológica não é conclusiva, é realizado por meio de métodos moleculares. A utilização de marcadores celulares facilita a diferenciação entre várias anormalidades teciduais com características semelhantes (KIRAZ et al., 2022; KÖBEL; KANG, 2022). A correlação entre os níveis de marcadores moleculares e os diferentes fenótipos tumorais ajuda a compreender o papel dessas moléculas na transformação celular, no diagnóstico diferencial e, eventualmente, no prognóstico de neoplasias benignas e malignas. Assim, biomarcadores podem ser usados para avaliar riscos, planejar o tratamento e monitorar a progressão da doença (GAMA-CUELLAR et al., 2022; HAYATI; ZULKARNAEN, 2007; SEIGO KASHIMURA et al., 2012).

Marcadores celulares também permitem a identificação de subpopulações de células dendríticas (CDs) consideradas células apresentadoras de antígenos e responsáveis por desencadear respostas imunes específicas. Elas capturam, processam e apresentam antígenos aos linfócitos T (GARDNER; DE MINGO PULIDO; RUFFELL, 2020). As CDs podem ativar outras células do sistema imunológico, como células *natural killer*, células B, macrófagos e eosinófilos, além de induzir tolerância imunológica (LE; SAVERIN; HAND, 2011). As CDs são classificadas como imaturas (CDsi) ou maduras (CDsm) com base em sua morfologia e expressão fenotípica. No estado imaturo, as CDs patrulham os tecidos e liberam eficazmente várias vias quando encontram antígenos. A maturação das CDs permite a apresentação de peptídeos derivados de patógenos às células T CD4⁺ e CD8⁺ nos linfonodos de drenagem.

Os mecanismos imunológicos e o papel das CDs na progressão dos TGS ainda não estão completamente compreendidos. No entanto, estudos recentes apontam que o desequilíbrio na regulação das células imunológicas, incluindo as CDs, desempenha um papel fundamental no desenvolvimento de doenças tumorais.

1.1 Adenoma Pleomórfico

O AP, também conhecido como tumor misto das glândulas salivares, é uma neoplasia de natureza benigna originada nas glândulas salivares. Sua principal característica reside na notável heterogeneidade tecidual, composta por uma variedade de elementos celulares e tecidos, incluindo componentes epiteliais e mesenquimais. Embora benigno, o AP pode manifestar crescimento gradual e apresentar-se clinicamente como uma massa indolor nas regiões anatômicas afetadas (ALMESLET, 2020b; CANUTO et al., 2020).

A localização primordial do AP ocorre nas glândulas salivares, com destaque para as glândulas parótidas e submandibulares. A prevalência desse tumor é notável em indivíduos adultos, com uma faixa etária preponderante situada entre a quarta e a sexta década de vida. A análise histopatológica revela uma proliferação celular composta por células epiteliais que apresentam uma variedade de arranjos celulares, coexistindo com células mesenquimais, resultando na característica formação glandular mista (KALWANIYA et al., 2023; ZOCCALI et al., 2023).

Os fatores etiológicos subjacentes ao desenvolvimento do AP ainda carecem de compreensão definitiva, embora haja suspeita de componentes genéticos. Macroscopicamente, os tumores se apresentam como massas bem definidas, encapsuladas e de consistência firme,

frequentemente móveis sob a pele. Vale ressaltar que, apesar de sua benignidade, os APs podem exibir recorrência após a ressecção cirúrgica e, em raros casos, podem evoluir para formas malignas. Assim, um acompanhamento clínico adequado é imperativo para o manejo eficaz dessa condição (HERNANDEZ-PRERA et al., 2021).

1.2 Carcinoma Ex Adenoma Pleomórfico

O CEXAP é uma neoplasia maligna rara que se origina a partir de um adenoma pleomórfico pré-existente, uma condição benigna das glândulas salivares. Esse carcinoma é caracterizado por ser uma transformação maligna de células epiteliais que anteriormente compunham o AP. Notavelmente, esta condição é conhecida por sua agressividade e potencial de disseminação metastática. Os estudos avaliados, bem como a literatura científica, ressaltam a importância do diagnóstico precoce desse tipo de tumor, uma vez que a progressão para um CEXAP pode resultar em um prognóstico desafiador, em comparação com outras neoplasias malignas das glândulas salivares (GUPTA et al., 2019; KHANNA et al., 2019)

A localização mais comum para o CEXPA é a glândula parótida, embora seja possível ocorrer em outras glândulas salivares. Quanto à faixa etária, a maioria dos pacientes afetados encontra-se na faixa entre 40 e 60 anos, sugerindo uma predisposição que acomete indivíduos de meia-idade (PARK et al., 2022). Do ponto de vista histológico, o CEXPA é caracterizado por uma combinação de áreas benignas de AP e áreas malignas de carcinoma. Isso pode incluir padrões celulares invasivos, como células escamosas, células mioepiteliais ou outras diferenciações epiteliais (SCARINI et al., 2023)

Os fatores de risco associados ao desenvolvimento do CEXPA ainda não estão completamente elucidados, embora a exposição a radiações ionizantes e a transformação maligna dentro de um AP pré-existente sejam considerados fatores de risco potenciais. Clinicamente, as lesões podem variar em sua apresentação, mas frequentemente manifestam-se como massas salivares palpáveis que podem ser assintomáticas ou causar desconforto (SYRNIOTI et al., 2023).

Um diagnóstico preciso é fundamental, geralmente requerendo avaliação histopatológica de biópsias e estudos imuno-histoquímicos para distinguir entre o componente benigno e maligno da lesão. Devido à sua natureza agressiva, o tratamento inclui geralmente uma ressecção cirúrgica completa, frequentemente seguida de radioterapia e, em alguns casos,

quimioterapia. Devido ao risco de recorrência e metástases, um acompanhamento médico rigoroso é imperativo. Portanto, a detecção precoce e o tratamento adequado são essenciais para melhorar o prognóstico dos pacientes com CEXAP (TONDI-RESTA et al., 2023).

1.3 Marcadores moleculares

1.3.1 CD1a

As proteínas CD1 são encontradas na superfície de CDs, células do timo, monócitos ativados e algumas células B. São proteínas transmembrana, glicosiladas, codificadas no cromossomo 1 e agrupadas em cinco subconjuntos (CD1a-e). Uma de suas principais funções está relacionada com reações imunológicas frente a infecções virais e afecções tumorais (HIRAI et al., 2016).

O desencadeamento de um processo inflamatório resulta na liberação de mediadores químicos específicos que recrutam os precursores das células, provenientes da medula óssea, ou seja, CDs. Enquanto isso, as células locais iniciam o processo de maturação, no qual a partir de um estado imaturo cuja superfície expressa elevados níveis de CD1a e langerina passa a apresentar um fenótipo maduro, aumentando a expressão para o imunomarcador CD83 (JARDIM et al., 2018).

É possível que as células imaturas sejam responsáveis pela regulação da cascata imune, uma vez que são encontradas em tecidos contendo processos inflamatórios; da mesma forma, a presença de células maduras nesses mesmos locais funcionaria como apresentadoras de antígenos promovendo um fenômeno reativo inflamatório já conhecido. Assim, o aumento na densidade de CDs, principalmente imaturas, em processos inflamatórios na cavidade oral, tem sido associado à severidade da resposta imune adaptativa (GUEIROS et al., 2012).

1.3.2 CD83

As células CD83⁺ são fundamentais para a geração de células CD4⁺T, além de potencializar a resposta imune antitumorigênica. Quando em condições de imunossupressão, a expressão de CD83 em CD é reduzida, como por exemplo, na presença do vírus HIV. (GIORELLO et al., 2021). As funções das CD83⁺ ainda não estão bem esclarecidas. Na condição de CDs maduras, as CD83⁺ têm sua densidade populacional reduzida nas camadas epiteliais de Carcinoma de Células Escamosas Labiais, assim como células imaturas CD1a⁺. Gomes et al. (2016) sugerem que a depleção de CDs, decorrente da incidência de radiação

ultravioleta em pacientes com câncer labial, possa estar relacionada às primeiras etapas do desenvolvimento neoplásico. Estes biomarcadores podem ser empregados em diagnósticos de doenças inflamatórias como líquen plano e lesões liquenóides orais, bem como em terapias de doenças autoimunes e lesões malignas (HOVAV, 2014).

1.3.3 CD207

O marcador molecular CD207, também conhecido como langerina, é uma proteína de superfície celular expressa em células dendríticas conhecidas como células de Langerhans (CLs) e em algumas células dendríticas intersticiais. Essa proteína tem uma afinidade particular por ligar-se a glicanos complexos presentes na superfície de patógenos, como bactérias e vírus, desempenhando um papel importante na captura e apresentação de antígenos ao sistema imunológico. Em relação aos tumores, estudos prévios como mostram que o marcador CD207 tem aplicações específicas em tumores das glândulas salivares, como no auxílio do diagnóstico de carcinoma adenóides císticos (DA SILVA et al., 2020).

1.3.4 Ki-67

Ki-67 é um marcador para mostrar a síntese de DNA das células antes da mitose. Numerosos estudos demonstraram que as neoplasias geralmente apresentam alta expressão de ki-67 relacionada à alta proliferação celular (ZHANG et al., 2019). Este anticorpo reconhece uma proteína nuclear que está envolvida nas fases pré-mitóticas (G1, S, G2 e M) do ciclo celular. Esta proteína nuclear pode ser usada para estimar o estado de crescimento mostrando o potencial replicativo e de agressividade tumoral (índice de proliferação Ki-67, ou PI).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O objetivo deste projeto foi avaliar a expressão imuno-histoquímica dos marcadores CD1a, CD83, CD207 e Ki-67 em tumores benignos e malignos de glândulas salivares.

2.2 Objetivos Específicos

- Realizar uma busca retrospectiva de dados clínicopatológicos de pacientes diagnosticados com tumores benignos e malignos de glândulas salivares, a partir das fichas de biópsias ou peças cirúrgicas dos Serviços de Patologia Bucal da UFSC, Anatomia Patológica da FCM-UNICAMP e da Universidad Autónoma de Baja California.
- Revisar todas as lâminas histológicas obtidas dos pacientes com a finalidade de diagnóstico da doença de acordo com os critérios da OMS (Organização Mundial da Saúde, 2017);
- Identificar e quantificar as CDs imaturas e maduras, imunomarcadas pelos anticorpos anti-CD1a, anti-CD207 e anti-CD83, nos tumores benignos e malignos de glândulas salivares;
- Comparar o índice de proliferação celular entre APs e CEXAPs utilizando o marcador Ki-67;
- Correlacionar os achados clínicos-patológicos dos TGS com a imuno marcação para CDs.

3. ARTIGO

Artigo a ser submetido na revista *Oral Diseases*

IMUNOEXPRESSÃO DE CÉLULAS DENDRÍTICAS MADURAS E IMATURAS EM CARCINOMA EX-PLEOMÓRFICO ADENOMA: UM ESTUDO MULTICÊNTRICO

RESUMO

O Carcinoma ex-adenoma pleomórfico (CEXPA) representa uma transformação maligna a partir de um adenoma pleomórfico (AP) recorrente ou primário, sendo que a resposta imunológica pode ser essencial nesse processo. Objetivo: Identificar e quantificar subpopulações de células dendríticas (CDs) em CEXPA e AP. Metodologia: Foi realizado um estudo multicêntrico coletando amostras de tumores de glândulas salivares (TGS) de três Centros de Patologia Oral e Maxilofacial. Um microarranjo de tecido contendo 41 amostras de CEXPA e 22 amostras de AP foi incluído neste estudo e submetido a reações imunohistoquímicas contra os anticorpos CD1a, CD83, CD207 e Ki67. Resultados: Houve diferença significativa entre AP e CEXPA em relação à densidade de CDs CD207+ ($p = 0,028$) e DCs CD83+ ($p < 0,001$). Também houve diferença ao comparar o índice de proliferação celular entre os grupos usando o marcador Ki-67 ($p = 0,024$). No entanto, não houve diferença na população de CDs em relação a parâmetros clínicos como sexo, localização anatômica, tamanho e metástases ($p > 0,06$). Conclusão: O perfil imunohistoquímico de subpopulações de CDs e biomarcadores de proliferação celular em TGS pode contribuir como uma ferramenta importante na diferenciação de tumores benignos e malignos ou detecção de áreas iniciais com transformação maligna.

PALAVRAS-CHAVE: Glândulas salivares, neoplasia, imunohistoquímica, células dendríticas, câncer oral, câncer de cabeça e pescoço

3.1 INTRODUÇÃO

Os TGS são lesões heterogêneas com alta diversidade microscópica e clínica. O AP é o TGS mais comum com possibilidade de recorrência e transformação maligna para CEXPA em 1,5% nos primeiros cinco anos e até 9,5% após 15 anos (Key et al., 2022; Park et al., 2022).

CEXPA é responsável por aproximadamente 12% de todos os TGS malignos e pode ser diagnosticado erroneamente como outros TGS benignos e malignos (Berdugo et al., 2019). Esta lesão afeta principalmente a glândula parótida se apresentando como uma massa de rápido crescimento, podendo estar associada à dor, aumento dos gânglios linfáticos, ulceração e paralisia do nervo facial (Lubamba et al., 2020). Microscopicamente, o CEXPA foi classificado em 3 categorias: intracapsular (IC), minimamente invasivo (MI) e amplamente invasivo (AI). A extensão extracapsular demonstra pior prognóstico e aumento da mortalidade (OMS, 2022).

A associação entre os níveis de marcadores relacionados ao sistema imunológico e os diferentes fenótipos tumorais permite a compreensão do papel dessas moléculas na transformação celular (Gama-Cuellar et al., 2022; Kiraz et al., 2022; Köbel & Kang, 2022; Mosconi et al., 2019). Neste contexto, as subpopulações de CDs estão relacionadas com respostas imunes antitumorais e exibem efeitos pró e antitumorigênicos (Anderson & Simon, 2020). Em estado imaturo, as CDs que expressam CD1a e CD207 são capazes de capturar e processar antígenos e, após a ativação, essas células migram para os gânglios linfáticos e baço onde ativam células T não sensibilizadas. Durante esta migração, as CDs passam pelo processo de maturação expressando CD83 e potencializando a resposta imune antitumoral (Gardner et al., 2020; Hubert et al., 2019).

Considerando que o CEXPA é derivada de um AP primária ou recorrente, a compreensão da infiltração de subpopulações de CDs maduras e imaturas nessas duas entidades pode favorecer a compreensão da transformação maligna. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a densidade de CDs em AP e CEXPA, bem como a interferência dessas células imunes nas características clinicopatológicas do tumor.

3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

Estudo transversal, observacional e descritivo, realizado de acordo com a Declaração de Helsinque e aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina (protocolo nº 09840519.6.0000.0121).

Peças cirúrgicas e amostras de biópsias de CEXAP e AP foram coletados para o estudo de 2020 a 2023 no Departamento de Patologia da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil; no Serviço de Anatomia Patológica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade de Campinas, São Paulo, Brasil; e do Serviço de Patologia Bucal da *Universidad Autónoma de Baja California*, Mexicali, México. Os dados clínicos do paciente, como sexo, idade, localização anatômica da lesão, metástase e doenças de base, foram coletados dos prontuários e laudos anatomopatológicos.

3.2.1 Análise histopatológica

Para análise histopatológica, foram realizados cortes de 5 µm de espessura de peças cirúrgicas incluídas em parafina e as lâminas obtidas foram coradas pelo método de hematoxilina e eosina (H&E) para confirmação do diagnóstico e grau de invasão celular (IC, MI e AI) por dois patologistas especialistas (RG, KPD) de acordo com ao diagnóstico de critérios usando a classificação da OMS (2022).

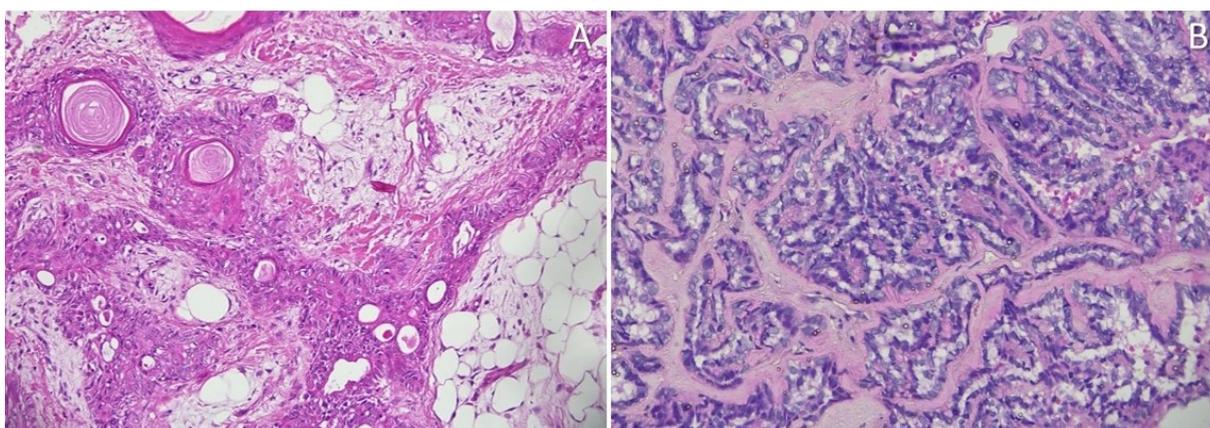


Figura 1. A, Fotomicrografia do adenoma pleomórfico mostrando aspecto misto com áreas de diferenciação escamosa. B, Carcinoma ex-adenoma pleomórfico demonstrando achados de adenocarcinoma em estroma esclerótico. Coloração com hematoxilina e eosina, 200x

3.2.2 Células dendríticas

As amostras de TGS foram fixadas em formalina a 10% por 24 horas. Os anticorpos monoclonais CD1a (010, 1:200; Dako, Glostrup, Dinamarca) e CD207 (EPR15863, 1:200; Abcam, Cambridge, Reino Unido) foram utilizados para identificar CDs imaturas. O anticorpo monoclonal CD83 (1H4b, 1:40; Novocastra, Newcastle, Reino Unido) foi utilizado para identificar CDs maduras. A proliferação celular foi avaliada através do Ki-67 (MIB-1, 1:150; Dako, Califórnia, EUA).

Lâminas coradas com H&E foram utilizadas para identificar as áreas incluídas, circulando as regiões mais representativas da lesão. Utilizando a técnica de *tissue microarray* (Beecher Instrument, Silver Spring, MD, EUA), as áreas tumorais de interesse nos blocos doadores foram removidas com coletores de 1mm e transferidas para os blocos receptores (Figuras 1-2).

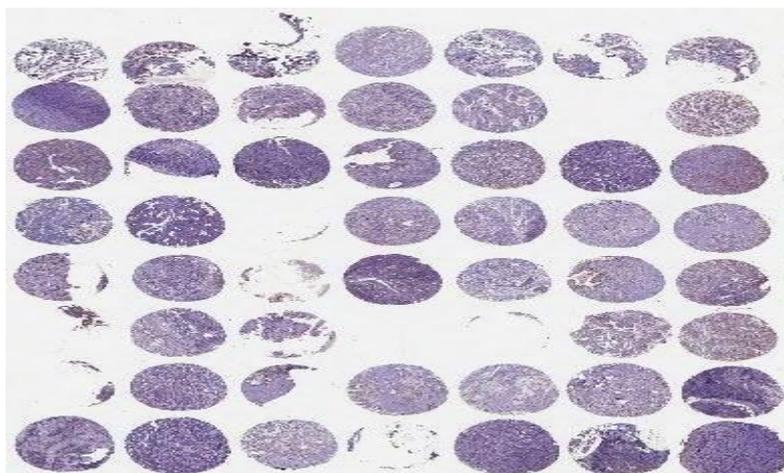


Figura 2. Técnica de microarranjo tecidual após determinação das áreas tumorais mais representativas de adenoma pleomórfico e carcinoma ex-adenoma pleomórfico.

Para IH, foram realizados cortes histológicos de 3 μm de espessura. A recuperação antigênica foi realizada com tampão citrato (pH 6,0) a 96 °C por 45 minutos. As lâminas foram incubadas com anticorpo secundário EnVision Dual Link System-HRP (Dako, Califórnia, EUA) por 60 minutos a 37°C e reveladas com substrato cromogênico (3,3 diaminobenzidina, Sigma, St Louis, MO, EUA). As lâminas foram contrastadas com hematoxilina de Harris. Controles negativos foram realizados para cada reação omitindo os anticorpos primários. Tecido cutâneo normal foi utilizado como controle positivo para anticorpos CD1a e CD207, enquanto amígdala normal como controle positivo para CD83 e Ki-67, de acordo com as recomendações do fabricante.

As seções de tecido foram escaneadas no scanner Aperio AT2 (Leica Biosystems, Tóquio, Japão) e analisadas por dois examinadores calibrados. A quantificação de células CD1a+, CD83+ e CD207+ por mm² de tumor foi realizada em cada seção de tecido utilizando o software Image J 1.53a (National Institutes of Health, EUA) com ampliação de 400x (Figura 3). Para o marcador Ki-67, foram quantificadas células tumorais positivas e negativas para obtenção do índice de proliferação celular (%).

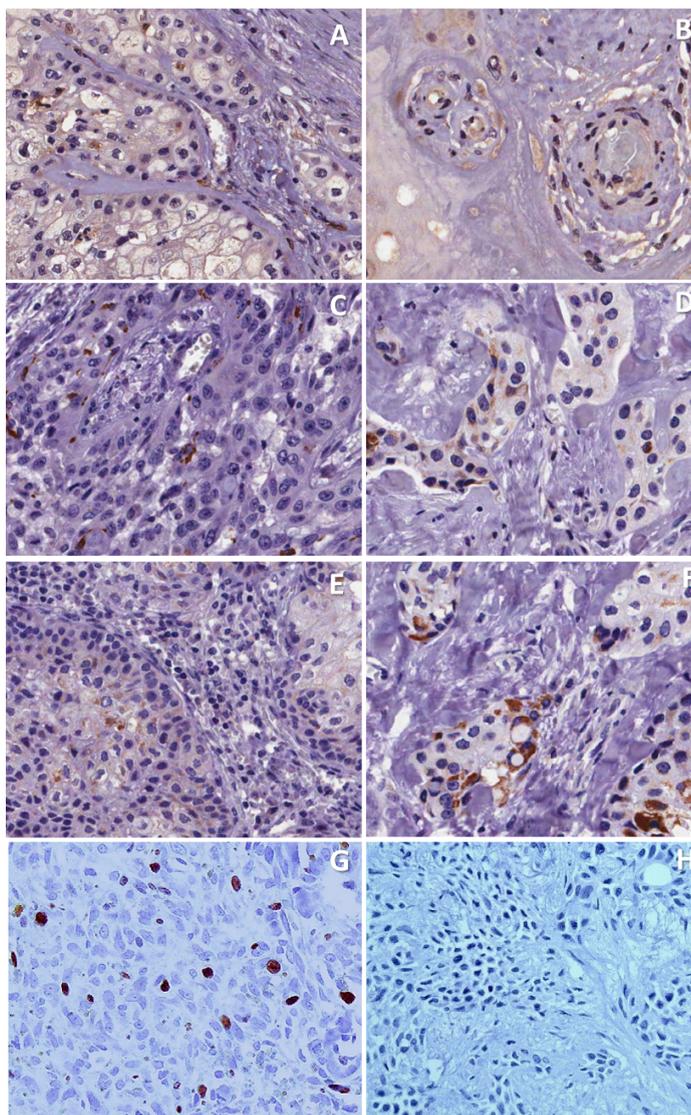


Figura 3. Análise imuno-histoquímica de células dendríticas (CDs) em carcinoma ex adenoma pleomórfico (CEXPA) e adenoma pleomórfico (AP). Células CD1a+ em CEXPA (A) e AP (B). Menor quantificação intratumoral de células CD207+ e CD83+ em CEXPA (C e E, respectivamente) quando comparado com amostra de AP (D e F, respectivamente). Maior taxa de proliferação celular pelo Ki-67 no CEXPA (G) em comparação com o AP (H). Alta a magnificação, 400x.

3.2.3 Análise estatística

Os valores foram expressos como medianas e intervalos interquartis. A comparação das CDs entre os grupos com CEXAP e AP foi realizada utilizando o teste Mann-Whitney (U). Os achados clínicos e microscópicos foram analisados pelo teste Qui-Quadrado de Pearson ou exato de Fisher quando apropriado, para variáveis categóricas, e pelos testes de Mann-Whitney (U) ou teste de Kruskal-Wallis para variáveis contínuas. O teste de Spearman foi utilizado para avaliar a correlação de anticorpos para CDs. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. O software estatístico SPSS versão 28.0 foi utilizado para as análises.

3.3 RESULTADOS

População de pacientes

Houve 41 casos de CEXPA e 22 casos de AP. A média de idade dos pacientes com CEXPA foi de 56,8 anos (variação de 27 a 88). Vinte pacientes (48,8%) eram do sexo masculino e 21 pacientes (51,2%) do sexo feminino. Dos 41 casos, a maioria (58,5%) apresentava subtipo histológico AI e 2 pacientes apresentavam metástase (4,8%) (Tabela 1). Em relação à idade, a média dos pacientes acometidos foi de 41,86 anos (variação de 12 a 68 anos). Dos 22 casos, 15 ocorreram na glândula parótida (68,1%) e o sexo masculino foi mais acometido (54,5%) (Tabela 2).

Tabela 1. Achados clínico-patológicos de carcinoma ex-adenoma pleomórfico.

Caso	Sexo	Idade	Localização	Tipo Histológico	Metástase
01	M	59	Glândula Parótida	IC	M0
02	M	60	Glândula Parótida	IC	M0
03	F	61	Glândula Parótida	IC	M0
04	F	59	Glândula Parótida	IC	M0
05	F	37	Glândula Salivar Menor	IC	M0
06	M	66	Glândula Salivar Menor	IC	M0
07	M	69	Glândula Submandibular	IC	M0
08	M	42	Glândula Parótida	MI	M0
09	F	30	Glândula Parótida	MI	M0
10	M	73	Glândula Parótida	MI	M0

11	F	39	Glândula Submandibular	MI	M0
12	F	57	Glândula Parótida	MI	M0
13	F	57	Glândula Parótida	MI	M0
14	F	88	Glândula Submandibular	MI	M0
15	M	64	Glândula Parótida	MI	M0
16	M	56	Glândula Parótida	MI	M0
17	M	54	Glândula Parótida	MI	M0
18	F	42	Glândula Parótida	AI	M1
19	M	45	Glândula Parótida	AI	M0
20	F	50	Glândula Parótida	AI	M0
21	F	74	Glândula Salivar Menor	AI	M0
22	F	56	Glândula Parótida	AI	M0
23	M	65	Glândula Parótida	AI	M0
24	F	82	Glândula Parótida	AI	M0
25	F	27	Glândula Parótida	AI	M1
26	F	57	Glândula Parótida	AI	M0
27	F	86	Glândula Submandibular	AI	M0
28	F	62	Glândula Submandibular	AI	M0
29	F	66	Glândula Parótida	AI	M0
30	M	64	Glândula Parótida	AI	M0
31	M	58	Glândula Parótida	AI	M0
32	F	56	Glândula Salivar Menor	AI	M0
33	M	72	Glândula Parótida	AI	M0
34	M	66	Glândula Parótida	AI	M0
35	M	54	Glândula Parótida	AI	M0
36	M	48	Glândula Salivar Menor	AI	M0
37	M	56	Glândula Parótida	AI	M0
38	M	41	Glândula Parótida	AI	M0
39	M	51	Glândula Parótida	AI	M0
40	M	41	Glândula Parótida	AI	M0
41	F	39	Glândula Parótida	AI	M0

F, Feminino; M, Masculino; IC, intracapsular; MI, minimamente invasivo; AI, Amplamente invasivo; M0, sem presença de metástase; M1, metástase à distância.

Tabela 2. Achados clínicos de adenomas pleomórficos.

Caso	Sexo	Idade	Localização
01	F	18	Glândula Submandibular
02	M	28	Glândula Parótida
03	F	59	Glândula Parótida
04	M	68	Glândula Parótida
05	M	45	Glândula Salivar Menor
06	F	46	Glândula Submandibular
07	F	47	Glândula Parótida
08	F	54	Glândula Parótida
09	F	50	Glândula Submandibular
10	F	50	Glândula Parótida
11	M	35	Glândula Parótida
12	M	42	Glândula Parótida
13	M	59	Glândula Parótida
14	M	26	Glândula Submandibular
15	M	23	Glândula Submandibular
16	F	44	Glândula Parótida
17	M	53	Glândula Parótida
18	M	12	Glândula Parótida
19	M	24	Glândula Parótida
20	M	34	Glândula Submandibular
21	F	41	Glândula Parótida
22	F	63	Glândula Parótida

Quanto à localização anatômica afetada, não houve diferença estatística entre tumores benignos e malignos ($p = 0,240$). A localização menos afetada em ambos os grupos foram as glândulas salivares menores. Os pacientes com CEXPA eram mais velhos quando comparados aos pacientes com AP ($p < 0,001$). Os tumores CEXPA apresentaram dimensões medianas maiores (eixo maior) que os tumores AP (5 cm versus 3,8 cm, $p =$

0,011). CEXPA classificados como AI apresentaram maior taxa de proliferação celular por Ki-67 do que tumores IC ou MI ($p = 0,008$) (Tabela 3).

Tabela 3. Comparação entre os achados clinicopatológicos e o número de células dendríticas em pacientes com carcinoma ex-adenoma pleomórfico (mediana e intervalo interquartil)

Achado clínico-patológico		CD1a+ células/mm ²	Valor de P	CD207+ células/mm ²	Valor de P	CD83+ células/mm ²	Valor de P	Ki-67 (%)	Valor de P
Idade*	≤ 45	43.00 (47.50)	.271	20.00 (25.50)	.880	2.00 (2.00)	.287	12.08 (13.84)	.833
	> 45	25.00 (35.00)		9.00 (32.00)		4.00 (19.00)		16.92 (26.67)	
Sexo*	Masculino	28.00 (37.00)	.784	9.00 (63.00)	.441	0.00 (15.00)	.396	10.62 (18.18)	.829
	Feminino	25.50 (47.25)		14.50 (28.00)		3.00 (14.50)		12.08 (9.50)	
Localização*	GSMa	27.50 (35.25)	.954	10.00 (28.75)	.923	3.00 (16.50)	.823	12.00 (9.48)	.245
	GSme	21.00 (119.00)		8.00 (21.00)		2.00 (4.00)		10.60 (17.97)	
Tamanho*	≤ 5 cm	37.00 (37.00)	.060	11.00 (28.00)	.205	3.00 (17.00)	.077	10.620 (9.50)	.825
	> 5 cm	10.00 (26.00)		13.00 (33.00)		1.00 (3.00)		12.00 (9.40)	
Tipo**	IC	24.00 (28.50)	.577	23.00 (37.00)	.619	15.00 (20.00)	.530	10.60 (13.33)	.008
	MI	27.50 (53.25)		8.00 (70.75)		3.00 (22.25)		10.62 (1.47)	
	AI	30.00 (50.50)		13.00 (31.00)		0.00 (3.50)		20.10 (4.01)	
Metástase*	M0	27.00 (37.00)	.624	9.00 (29.00)	.585	3.00 (15.00)	.648	12.00 (9.49)	.627
	M1	40.50 (53.00)		25.00 (10.00)		10.00 (16.00)		11.11 (17.90)	

GSMa, Glândula Salivar Maior. GSme, Glândula Salivar Menor. IC, Intracapsular. MI, Minimamente invasivo. AI, Amplamente invasivo.

*Mann-Whitney test. **Kruskal-Wallis test.

Microscopicamente, foi observada maior concentração de CDs no compartimento intratumoral do AP, enquanto no CEXPA foi observada uma evidente diminuição de CDs tanto no compartimento intratumoral quanto no peritumoral. Não houve correlação entre os marcadores de CDs maduras (CD83) e imaturas (CD1a e CD207). Além disso, não houve diferença significativa na densidade média de células CD1a+ entre AP e CEXPA ($p = 0,402$) (Figura 3).

O CEXPA apresentou diminuição significativa nos marcadores celulares CD207 ($p = 0,028$) e CD83 ($p < 0,001$) quando comparado ao AP. Em contrapartida, CEXPA apresentou maior imunomarcagem para Ki-67 do que AP ($p = 0,024$). Também não houve impacto dos parâmetros clínicos pesquisados (sexo, localização anatômica e metástases) na população de CDs. Além disso, não houve diferença estatística no número de CDs entre os casos de

CEXPA classificados em CI, MI e AI [CD1a ($p = 0,577$), CD83 ($p = 0,530$) e CD207 ($p = 0,619$)].

3.4 DISCUSSÃO

Na presente pesquisa, observamos um impacto relevante na redução de CDs maduras e imaturas em tumores malignos de glândulas salivares (CEXPA) quando comparados a tumores benignos (AP), sugerindo que alterações no mecanismo de regulação da resposta imune inata e adquirida podem desempenhar um papel importante na transformação maligna. Houve maior número de células intratumorais positivas para os marcadores CD83 e CD207 no grupo AP em comparação ao CEXPA. Por outro lado, o AP apresentou menor índice proliferativo para o marcador Ki-67 do que o CEXPA.

Um estudo com amostras de carcinoma espinocelular (CEC) de lábio demonstrou que as células CD83+ estavam significativamente reduzidas no CEC em comparação com o epitélio oral normal, enquanto as células CD1a+ estavam significativamente diminuídas no CEC quando comparadas ao epitélio displásico (Gomes et al., 2016). Outro estudo relatou que a densidade de células CD83+ estava inversamente correlacionada com a progressão da neoplasia gástrica e impactava diretamente no prognóstico (Kashimura et al., 2012).

Gama-Cuellar et al. (2022) compararam a densidade de células CD83+ em tumores de orofaringe. Houve menor quantificação de células CD83+ no compartimento peritumoral de pacientes com carcinoma espinocelular de orofaringe em relação ao grupo de orofaringe normal. Pacientes com tumores exibindo números mais baixos de células CD83+ demonstraram rápida progressão da doença. Estudos anteriores mostraram que uma baixa densidade de CDs CD83+ em tecidos tumorais estava associada a um mau prognóstico (McWhirter et al., 2006; Zheng et al., 2012). A baixa densidade de células CD83+ nos TGS malignos prejudica a apresentação do tumor aos antígenos que favorecem a progressão da doença. Estas descobertas indicam que a análise das populações celulares que participam nas respostas imunitárias pode ser uma ferramenta preditiva útil em tumores.

A maioria dos pacientes diagnosticados com CEXPA estava entre a 5ª e a 6ª décadas de vida, com um aumento sutil no envolvimento em mulheres, colaborando com os achados de um estudo anterior (Tokarz et al., 2021). Em geral, a malignidade se desenvolve em 6,2% todos os APs (Di Palma, 2013). Entre os casos de CEXPA, 2 apresentaram metástases à distância, em contraste com o estudo de Olsen & Lewis (2001) que relatou que 44% dos pacientes com CEXPA apresentavam metástases à distância.

Em relação à AP, nosso estudo mostrou que a média de idade dos pacientes acometidos foi de 41,86 anos (variando de 12 a 68 anos). De acordo com uma revisão preliminar da literatura (Canuto et al., 2020) esta neoplasia afeta principalmente indivíduos entre a 4ª e a 5ª década de vida. Dos 22 casos avaliados em nosso estudo, 15 foram na glândula parótida (68,1%), corroborando os estudos de (Almeslet, 2020; Khanna et al., 2019). Nossa amostra apresentou maior envolvimento do sexo masculino (54,5%), em contraste com outros estudos (Almeslet, 2020; Canuto et al., 2020).

Com base no grau de invasão, o CEXPA pode ser microscopicamente classificado em IC, MI e AI. Neste último, a invasão se estende, além da glândula, e frequentemente aos tecidos moles adjacentes. Em nosso estudo, a maioria dos CEXPA (58,3%) apresentou subtipo histológico AI, mostrando características clínicas de um tumor invasivo e de rápido crescimento. Além disso, todos os pacientes com metástases tiveram CEXPA categorizado em AI.

Embora tenha tido diferença significativa na quantificação de células CD207 entre os grupos AP e CEXPA, esta condição não foi observada com o marcador CD1a. Tal condição poderia ser explicada pela grande diversidade fenotípica das CDs (Hirai et al., 2016). As moléculas CD1 são amplamente expressas em células apresentadoras de antígenos profissionais (APC), como CDs, CL e monócitos ativados. Em contraste, a Langerina (CD207) é uma proteína dependente de lectina do tipo II, Ca²⁺, que exibe especificidade de ligação à manose e está constitutivamente associada aos grânulos de Birbeck, que são organelas em forma de bastonete específicas para CL (Hunger et al., 2004; Oda et al., 2004; Oda et al., 2004; Oda et al., 2004; al., 2022).

Uma alta densidade média de células CD207+ no compartimento intratumoral no grupo com AP foi observada em comparação com CEXPA. da Silva et al. (2020) demonstraram diminuição do número de células CD207+ em CEC oral e fibrose submucosa oral em relação ao epitélio oral normal. Assim, alterações significativas na população de CDs poderiam ser indicativas de transformação maligna nas lesões orais.

Observou-se maior número de células intratumorais positivas para o marcador Ki-67 no grupo CEXPA quando comparado ao AP. Alguns estudos sugerem que uma expressão aumentada de Ki-67 está correlacionada com uma extensão tumoral significativa (Faur et al., 2015; Goyal et al., 2014). Katori et al. (2007) mostraram associação entre Ki-67 e prognóstico em pacientes que morreram ou que apresentavam doença residual em comparação com pacientes que estavam vivos sem doença. Nossos resultados foram semelhantes a outros

estudos em que o CEXPA apresentou maior índice proliferativo de Ki-67 do que o AP ou AP residual no CEXPA (Mariano et al., 2015; Matsubayashi & Yoshihara, 2007; Zhang et al., 2019).

Assim, são necessários estudos futuros com uma amostra maior de TGS, com diferentes subtipos histológicos, além da análise de outras subpopulações de CDs, a fim de melhor compreender as respostas imunes inatas e adquiridas envolvidas na carcinogênese da TGS.

3.5 CONCLUSÃO

O conhecimento do perfil imuno-histoquímico dos biomarcadores de CDs em conjunto com o índice de proliferação celular no TGS pode contribuir como uma importante ferramenta na distinção entre tumores benignos e malignos, justificando comportamentos clínicos divergentes que estas lesões apresentam, e auxiliando na detecção de possíveis áreas de transformação maligna.

REFERÊNCIAS

- Almeslet, A. S. (2020). Pleomorphic Adenoma: A Systematic Review. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 13(3), 284. <https://doi.org/10.5005/JP-JOURNALS-10005-1776>
- Anderson, N. M., & Simon, M. C. (2020). The tumor microenvironment. *Current Biology : CB*, 30(16), R921–R925. <https://doi.org/10.1016/J.CUB.2020.06.081>.
- Berdugo, J., Thompson, L.D.R., Purgina, B., Sturgis, C.D., Tuluc, M., Seethala, R., Chiosea, S.I (2019). Measuring Depth of Invasion in Early Squamous Cell Carcinoma of the Oral Tongue: Positive Deep Margin, Extratumoral Perineural Invasion, and Other Challenges. *Head Neck Pathol*, 13(2), 154-161.
- Canuto, E., Júnior, F., Dias, I. J., Muniz Alves, P., Francisco, C., Nonaka, W., Queiroga De Castro Gomes, D., & Pereira, J. V. (2020). Pleomorphic adenoma of buccal mucosa: a case report and review of the literature. *Stomatologija* 22(3):92-96.
- da Silva, L. C., Fonseca, F. P., de Almeida, O. P., de Almeida Mariz, B. A. L., Lopes, M. A., Radhakrishnan, R., Sharma, M., Kowalski, L. P., & Vargas, P. A. (2020). CD1a+ and

- CD207+ cells are reduced in oral submucous fibrosis and oral squamous cell carcinoma. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 25(1), e49–e55. <https://doi.org/10.4317/MEDORAL.23177>
- Di Palma, S. (2013). Carcinoma Ex Pleomorphic Adenoma, with Particular Emphasis on Early Lesions. *Head Neck Pathol*, 7(Suppl 1), 68. <https://doi.org/10.1007/S12105-013-0454-Z>
- Faur, A., Sas, I., Motoc, A., Cornianu, M., Carmem, A. L., Lazăr, D., & Folescu, R. (2015). *Ki-67 and p53 immunostaining assessment of proliferative activity in salivary tumors*. Romanian Journal of Morphology and Embryology = Revue Roumaine de Morphologie et Embryologie.
- Gama-Cuellar, A. G., Francisco, A. L. N., Scarini, J. F., Mariano, F. V., Kowalski, L. P., & Gondak, R. (2022). Decreased CD1a + and CD83 + cells in tonsillar squamous cell carcinoma regardless of HPV status. *Journal of Applied Oral Science*, 30, e20210702. <https://doi.org/10.1590/1678-7757-2020-0702>
- Gardner, A., de Mingo Pulido, Á., & Ruffell, B. (2020). Dendritic Cells and Their Role in Immunotherapy. *Frontiers in Immunology*, 11. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2020.00924>
- Gomes, J. O., de Vasconcelos Carvalho, M., Fonseca, F. P., Gondak, R. O., Lopes, M. A., & Vargas, P. A. (2016). CD1a+ and CD83+ Langerhans cells are reduced in lower lip squamous cell carcinoma. *Journal of Oral Pathology and Medicine*, 45(6), 433–439. <https://doi.org/10.1111/jop.12389>
- Goyal, S., Rani Singh, U., Sharma, S., & Kaur, N. (2014). *Correlation of Mitotic Indices, AgNor Count, Ki-67 and Bcl-2 with Grade and Stage in Papillary Urothelial Bladder Cancer*. Urology Journal .
- Hirai, K. E., Aarão, T. L. de S., Silva, L. M., de Sousa, J. R., de Souza, J., Dias, L. B., Oliveira Carneiro, F. R., Fuzii, H. T., & Quaresma, J. A. S. (2016). Langerhans cells (CD1a and CD207), dermal dendrocytes (FXIIIa) and plasmacytoid dendritic cells (CD123) in skin lesions of leprosy patients. *Microbial Pathogenesis*, 91, 18–25. <https://doi.org/10.1016/J.MICPATH.2015.11.013>
- Hubert, M., Gobbini, E., Bendriss-Vermare, N., Caux, C., & Valladeau-Guilemond, J. (2019). Human Tumor-Infiltrating Dendritic Cells: From in Situ Visualization to High-Dimensional Analyses. *Cancers*, 11(8). <https://doi.org/10.3390/CANCERS11081082>

- Hunger, R. E., Sieling, P. A., Ochoa, M. T., Sugaya, M., Burdick, A. E., Rea, T. H., Brennan, P. J., Belisle, J. T., Blauvelt, A., Porcelli, S. A., & Modlin, R. L. (2004). Langerhans cells utilize CD1a and langerin to efficiently present nonpeptide antigens to T cells. *The Journal of Clinical Investigation*, *113*(5), 701–708. <https://doi.org/10.1172/JCI19655>
- Katori, H., Nozawa, A., & Tsukuda, M. (2007). Expression of epidermal growth factor receptor, transforming growth factor-alpha and Ki-67 in relationship to malignant transformation of pleomorphic adenoma. *Acta Oto-Laryngologica*, *127*(11), 1207–1213. <https://doi.org/10.1080/00016480701230894>
- Key, S., Chia, C., Hasan, Z., Sundaresan, P., Dwivedi, R. C., & Riffat, F. (2022). Systematic review of prognostic factors in carcinoma ex pleomorphic adenoma. *Oral Oncology*, *133*, 106052. <https://doi.org/10.1016/J.ORALONCOLOGY.2022.106052>
- Khanna, D., Chaubal, T., Bapat, R., Abdulla, A. M., Philip, S. T., & Arora, S. (2019). Carcinoma ex pleomorphic adenoma: a case report and review of literature. *African Health Sciences*, *19*(4), 3253–3263. <https://doi.org/10.4314/AHS.V19I4.50>
- Kiraz, U., Vural, C., Turan, G., Alparslan, B., & Dervisoglu, E. (2022). The Value of Immunohistochemical Methods and Preoperative Magnetic Resonance Imaging Findings in Diagnosis of IDH1 Mutant Glioblastomas. *Turkish Neurosurgery*, *32*(2), 228–236. <https://doi.org/10.5137/1019-5149.JTN.33708-21.3>
- Köbel, M., & Kang, E. Y. (2022). The Evolution of Ovarian Carcinoma Subclassification. *Cancers*, *14*(2). <https://doi.org/10.3390/CANCERS14020416>
- Lubamba, G.P., Jian, G., Yu, X.Y., Liang, Z.G., Bo, N.S., Peng, D.X., Bushabu, F.N. (2020). Submandibular gland carcinoma ex pleomorphic adenoma clinically mimicking a benign lesion. *Oral and Maxillofacial Surgery Cases*, *6*(3). <https://doi.org/10.1016/j.omsc.2020.100166>.
- Mariano FV, Costa AF, Gondak RO, Martins AS, Del Negro A, Tincani AJ, Altemani A, de Almeida OP, Kowalski LP. (2015) Cellular Proliferation Index between Carcinoma Ex-Pleomorphic Adenoma and Pleomorphic Adenoma. *Braz Dent J*. *26*(4):416-21. doi: 10.1590/0103-6440201300369.
- Matsubayashi, S., & Yoshihara, T. (2007). Carcinoma ex pleomorphic adenoma of the salivary gland: an immunohistochemical study. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology: Official Journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (EUFOS): Affiliated with the German Society for Oto-Rhino-Laryngology - Head and Neck Surgery*, *264*(7), 789–795.

<https://doi.org/10.1007/S00405-007-0256-6>

- McWhirter, J. R., Kretz-Rommel, A., Saven, A., Maruyama, T., Potter, K. M., Mockridge, C. I., Ravey, E. P., Qin, F., & Bowdish, K. S. (2006). Antibodies selected from combinatorial libraries block a tumor antigen that plays a key role in immunomodulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *103*(4), 1041. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0510081103>
- Mosconi, C., de Arruda, J. A. A., de Faria, A. C. R., Oliveira, G. A. Q., de Paula, H. M., Fonseca, F. P., Mesquita, R. A., Silva, T. A., Mendonça, E. F., & Batista, A. C. (2019). Immune microenvironment and evasion mechanisms in adenoid cystic carcinomas of salivary glands. *Oral Oncology*, *88*, 95–101. <https://doi.org/10.1016/J.ORALONCOLOGY.2018.11.028>
- Oda, T., Yanagisawa, H., Shinmori, H., Ogawa, Y., & Kawamura, T. (2022). Cryo-electron tomography of Birbeck granules reveals the molecular mechanism of langerin lattice formation. *ELife*, *11*. <https://doi.org/10.7554/ELIFE.79990>
- Olsen, K. D., & Lewis, J. E. (2001). Carcinoma ex pleomorphic adenoma: a clinicopathologic review. *Head & Neck*, *23*(9), 705–712. <https://doi.org/10.1002/HED.1100>
- Park, K. S., Kim, J. H., Lee, D. H., Lee, J. K., & Lim, S. C. (2022). Carcinoma ex pleomorphic adenoma of the parotid gland. *American Journal of Otolaryngology*, *43*(2). <https://doi.org/10.1016/J.AMJOTO.2022.103389>
- Kashimura, S., Saze, Z., Terashima, M., Soeta, N., Ohtani, S., Osuka, F., Kogure, M., & Gotoh, M. (2012). CD83(+) dendritic cells and Foxp3(+) regulatory T cells in primary lesions and regional lymph nodes are inversely correlated with prognosis of gastric cancer. *Gastric Cancer*, *15*(2), 144–153. <https://doi.org/10.1007/S10120-011-0090-9>
- Tokarz, E. L., Ong, A. A., & Burke, M. S. (2021). Nasopharyngeal Carcinoma Ex Pleomorphic Adenoma: Case Report and Comprehensive Literature Review. *Case Reports in Otolaryngology*, *2021*, 1–6. <https://doi.org/10.1155/2021/8892280>
- WHO Classification of Tumours Editorial Board. Head and neck tumours. 5th ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2022
- Zhang, P., Tang, L. J., Gao, H. H., Zhang, W. X., Lin, J. X., & Yang, H. S. (2019). Immunohistochemical features of carcinoma ex pleomorphic adenoma and pleomorphic adenoma in the lacrimal gland. *International Journal of Ophthalmology*, *12*(8), 1238–1242. <https://doi.org/10.18240/IJO.2019.08.02>
- Zheng, X., Li, X. D., Wu, C. P., Lu, B. F., & Jiang, J. T. (2012). Expression of costimulatory

molecule B7-H4 in human malignant tumors. *Onkologie*, 35(11), 700–705.
<https://doi.org/10.1159/000343638>

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos resultados obtidos neste estudo, demonstramos que o conhecimento do perfil imuno-histoquímico dos biomarcadores de células dendríticas (CDs), juntamente com a avaliação do índice de proliferação celular, podem desempenhar um papel fundamental na diferenciação entre tumores benignos e malignos nas glândulas salivares. Esses achados são de grande relevância, uma vez que os tumores benignos e malignos frequentemente apresentam comportamentos clínicos distintos, o que influencia diretamente as estratégias de tratamento e prognóstico.

Além disso, a capacidade de identificar áreas potencialmente em transformação maligna é de extrema importância, permitindo intervenções precoces e mais eficazes, e aumentando as chances de sucesso do tratamento. Portanto, a análise dos marcadores de CDs e da taxa de proliferação celular pode se tornar uma ferramenta valiosa para os patologistas e clínicos no diagnóstico e na tomada de decisões clínicas em pacientes com tumores de glândulas salivares.

REFERÊNCIAS

ALMESLET, A. S. Pleomorphic Adenoma: A Systematic Review. **International Journal of Clinical Pediatric Dentistry**, v. 13, n. 3, p. 284, 1 maio 2020a.

ALMESLET, A. S. Pleomorphic Adenoma: A Systematic Review. **International Journal of Clinical Pediatric Dentistry**, v. 13, n. 3, p. 284, 1 maio 2020b.

ANDERSON, N. M.; SIMON, M. C. The tumor microenvironment. **Current biology : CB**, v. 30, n. 16, p. R921–R925, 17 ago. 2020.

BERDUGO, J. et al. Measuring Depth of Invasion in Early Squamous Cell Carcinoma of the Oral Tongue: Positive Deep Margin, Extratumoral Perineural Invasion, and Other Challenges. **Head and neck pathology**, v. 13, n. 2, p. 154–161, 1 jun. 2019.

CANUTO, E. et al. Pleomorphic adenoma of buccal mucosa: a case report and review of the literature. **Stomatologija, Baltic Dental and Maxillofacial Journal**, v. 22, n. 3, 2020.

DA SILVA, L. C. et al. CD1a+ and CD207+ cells are reduced in oral submucous fibrosis and oral squamous cell carcinoma. **Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal**, v. 25, n. 1, p. e49, 1 jan. 2020.

DI PALMA, S. Carcinoma Ex Pleomorphic Adenoma, with Particular Emphasis on Early Lesions. **Head and Neck Pathology**, v. 7, n. Suppl 1, p. 68, 2013.

FAUR, A. et al. **Ki-67 and p53 immunostaining assessment of proliferative activity in salivary tumors.**

GAMA-CUELLAR, A. G. et al. Decreased CD1a + and CD83 + cells in tonsillar squamous cell carcinoma regardless of HPV status. **Journal of Applied Oral Science**, v. 30, p. e20210702, 2022.

GARDNER, A.; DE MINGO PULIDO, Á.; RUFFELL, B. Dendritic Cells and Their Role in Immunotherapy. **Frontiers in immunology**, v. 11, 21 maio 2020.

GIORELLO, M. B. et al. CD1a- and CD83-positive dendritic cells as prognostic markers of metastasis development in early breast cancer patients. **Breast cancer (Tokyo, Japan)**, v. 28, n. 6, p. 1328–1339, 1 nov. 2021.

GOMES, J. O. et al. CD1a+ and CD83+ Langerhans cells are reduced in lower lip squamous cell carcinoma. **Journal of Oral Pathology and Medicine**, v. 45, n. 6, p. 433–439, 2016.

GOYAL, S. et al. Correlation of mitotic indices, AgNor count, Ki-67 and Bcl-2 with grade and stage in papillary urothelial bladder cancer. **Urology journal**, v. 11, n. 1, p.

1238–1247, 2014.

GUEIROS, L. A. et al. Increased number of Langerhans cells in oral lichen planus and oral lichenoid lesions. **Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology**, v. 113, n. 5, p. 661–666, 2012.

GUPTA, A. et al. Carcinoma ex pleomorphic adenoma: A review of incidence, demographics, risk factors, and survival. **American Journal of Otolaryngology**, v. 40, n. 6, p. 102279, 1 nov. 2019.

HAYATI, A. R.; ZULKARNAEN, M. An immunohistochemical study of CD1a and CD83-positive infiltrating dendritic cell density in cervical neoplasia. **International Journal of Gynecological Pathology**, v. 26, n. 1, p. 83–88, jan. 2007.

HERNANDEZ-PRERA, J. C. et al. Pleomorphic adenoma: the great mimicker of malignancy. **Histopathology**, v. 79, n. 3, p. 279–290, 1 set. 2021.

HIRAI, K. E. et al. Langerhans cells (CD1a and CD207), dermal dendrocytes (FXIIIa) and plasmacytoid dendritic cells (CD123) in skin lesions of leprosy patients. **Microbial pathogenesis**, v. 91, p. 18–25, 1 fev. 2016.

HOVAV, A. H. Dendritic cells of the oral mucosa. **Mucosal Immunology**, v. 7, n. 1, p. 27–37, 2014.

HUBERT, M. et al. Human Tumor-Infiltrating Dendritic Cells: From in Situ Visualization to High-Dimensional Analyses. **Cancers**, v. 11, n. 8, 1 ago. 2019.

HUNGER, R. E. et al. Langerhans cells utilize CD1a and langerin to efficiently present nonpeptide antigens to T cells. **The Journal of clinical investigation**, v. 113, n. 5, p. 701–708, 1 mar. 2004.

KALWANIYA, D. S. et al. A Review of the Current Literature on Pleomorphic Adenoma. **Cureus**, v. 15, n. 7, 23 jul. 2023.

KATORI, H.; NOZAWA, A.; TSUKUDA, M. Expression of epidermal growth factor receptor, transforming growth factor-alpha and Ki-67 in relationship to malignant transformation of pleomorphic adenoma. **Acta oto-laryngologica**, v. 127, n. 11, p. 1207–1213, 2007.

KEY, S. et al. Systematic review of prognostic factors in carcinoma ex pleomorphic adenoma. **Oral oncology**, v. 133, p. 106052, out. 2022.

KHANNA, D. et al. Carcinoma ex pleomorphic adenoma: a case report and review of literature. **African health sciences**, v. 19, n. 4, p. 3253–3263, 1 dez. 2019.

KIRAZ, U. et al. The Value of Immunohistochemical Methods and Preoperative

Magnetic Resonance Imaging Findings in Diagnosis of IDH1 Mutant Glioblastomas. **Turkish neurosurgery**, v. 32, n. 2, p. 228–236, 2022.

KÖBEL, M.; KANG, E. Y. The Evolution of Ovarian Carcinoma Subclassification. **Cancers**, v. 14, n. 2, 1 jan. 2022.

LE, A.; SAVERIN, M.; HAND, A. R. Distribution of dendritic cells in normal human salivary glands. **Acta histochemica et cytochemica**, v. 44, n. 4, p. 165–173, 2011.

LIAO, W. C. et al. Salivary Gland Tumors: A Clinicopathologic Analysis From Taipei Veterans General Hospital. **Annals of plastic surgery**, v. 84, n. 1S Suppl 1, p. S26–S33, 1 jan. 2020.

LUBAMBA, G. P. et al. Submandibular gland carcinoma ex pleomorphic adenoma clinically mimicking a benign lesion. **Oral and Maxillofacial Surgery Cases**, v. 6, n. 3, p. 1001669, 1 set. 2020.

MARIANO, F. V. et al. Cellular Proliferation Index between Carcinoma Ex-Pleomorphic Adenoma and Pleomorphic Adenoma. **Brazilian dental journal**, v. 26, n. 4, p. 416–421, 1 ago. 2015.

MATSUBAYASHI, S.; YOSHIHARA, T. Carcinoma ex pleomorphic adenoma of the salivary gland: an immunohistochemical study. **European archives of oto-rhino-laryngology : official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (EUFOS) : affiliated with the German Society for Oto-Rhino-Laryngology - Head and Neck Surgery**, v. 264, n. 7, p. 789–795, jul. 2007.

MCWHIRTER, J. R. et al. Antibodies selected from combinatorial libraries block a tumor antigen that plays a key role in immunomodulation. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 103, n. 4, p. 1041, 1 jan. 2006.

MOSCONI, C. et al. Immune microenvironment and evasion mechanisms in adenoid cystic carcinomas of salivary glands. **Oral oncology**, v. 88, p. 95–101, 1 jan. 2019.

ODA, T. et al. Cryo-electron tomography of Birbeck granules reveals the molecular mechanism of langerin lattice formation. **eLife**, v. 11, 27 jun. 2022.

OLSEN, K. D.; LEWIS, J. E. Carcinoma ex pleomorphic adenoma: a clinicopathologic review. **Head & neck**, v. 23, n. 9, p. 705–712, 2001.

PARK, K. S. et al. Carcinoma ex pleomorphic adenoma of the parotid gland. **American journal of otolaryngology**, v. 43, n. 2, 1 mar. 2022.

SCARINI, J. F. et al. Heterogeneity and versatility of the extracellular matrix during the transition from pleomorphic adenoma to carcinoma ex pleomorphic adenoma: cumulative

findings from basic research and new insights. **Frontiers in oral health**, v. 4, 2023.

SEIGO KASHIMURA et al. CD83(+) dendritic cells and Foxp3(+) regulatory T cells in primary lesions and regional lymph nodes are inversely correlated with prognosis of gastric cancer. **Gastric cancer : official journal of the International Gastric Cancer Association and the Japanese Gastric Cancer Association**, v. 15, n. 2, p. 144–153, abr. 2012.

SYRNIOTI, G. et al. Myoepithelial Carcinoma Ex Pleomorphic Adenoma of the Submandibular Gland: A Case Report. **Cureus**, v. 15, n. 3, 3 mar. 2023.

TOKARZ, E. L.; ONG, A. A.; BURKE, M. S. Nasopharyngeal Carcinoma Ex Pleomorphic Adenoma: Case Report and Comprehensive Literature Review. **Case Reports in Otolaryngology**, v. 2021, p. 1–6, 26 fev. 2021.

TONDI-RESTA, I. et al. Carcinoma Ex Pleomorphic Adenomas: An Institutional Experience and Literature Review. **American journal of clinical pathology**, v. 159, n. 5, p. 502–515, 1 maio 2023.

UMAR, Z. et al. Carcinoma Ex Pleomorphic Adenoma of the Parotid Gland: A Rare Case. **Cureus**, v. 14, n. 5, 26 maio 2022.

XU, W. C. et al. Expression and distribution of S-100 protein, CD83 and apoptosis-related proteins (Fas, FasL and Bcl-2) in thyroid tissues of autoimmune thyroid diseases. **European journal of histochemistry : EJH**, v. 51, n. 4, p. 291–300, 2007.

ZHANG, P. et al. Immunohistochemical features of carcinoma ex pleomorphic adenoma and pleomorphic adenoma in the lacrimal gland. **International journal of ophthalmology**, v. 12, n. 8, p. 1238–1242, 2019.

ZOCCALI, F. et al. Clinico-histopathological review of 255 patients who underwent parotidectomy for pleomorphic adenoma: a 10-year retrospective study-a proposal for an optimal diagnostic and therapeutic algorithm for patients with recurrent pleomorphic adenoma. **European archives of oto-rhino-laryngology : official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (EUFOS) : affiliated with the German Society for Oto-Rhino-Laryngology - Head and Neck Surgery**, v. 280, n. 7, p. 3329–3335, 1 jul. 2023.

ANEXO 1 - NORMAS DA REVISTA


[HOME](#)
[ABOUT](#)
[CONTRIBUTE](#)
[BROWSE](#)

Author Guidelines

Oral Diseases now offers [Free Format submission](#) for a simplified and streamlined submission process; [More details here](#)

Content of Author Guidelines:

- [1. General](#)
- [2. Ethical Guidelines](#)
- [3. Manuscript Submission Procedure](#)
- [4. Manuscript Types Accepted](#)
- [5. Manuscript Format and Structure](#)
- [6. After Acceptance](#)

Relevant Documents: [Open Access Order Form](#), [Standard Release Form for photographic consent](#)

Useful Websites: [Submission Site](#), [Articles Published in Oral Diseases](#), [Author Services](#), [Wiley-Blackwell's Ethical Guidelines](#), [Guidelines for Figures](#)

SUBMISSION

Once the submission materials have been prepared in accordance with the Author Guidelines, manuscripts should be submitted online at <https://wiley.atyponrex.com/journal/ODI>.

[Click here](#) for more details on how to use ScholarOne.

For technical help with the submission system, please review our [FAQs](#) or contact submissionhelp@wiley.com.

For general assistance, please contact odiedoffice@wiley.com.

1. GENERAL

The editors encourage submissions of original articles, review articles, reports of meetings, book reviews and correspondence in the form of letters to the editor. *Oral Diseases* does not accept case reports.

Please read the instructions below carefully for details on the submission of manuscripts, the journal's requirements and standards as well as information concerning the procedure after a manuscript has been accepted for publication in *Oral Diseases*. Authors are encouraged to visit [Wiley Author Services](#) for further information on the preparation and submission of articles and figures.

Preprint Policy

Please find the Wiley preprint policy [here](#). *Oral Diseases* accepts articles previously published on preprint servers. *Oral Diseases* will consider for review articles previously available as preprints. Authors are requested to update any pre-publication versions with a link to the final published article. Authors may also post the final published version of the article immediately after publication.

Data Sharing and Data Accessibility

Oral Diseases expects data sharing. All accepted manuscripts will need to publish a data availability statement to confirm the presence or absence of shared data. The journal expects authors to share the data and other artefacts supporting the results in the paper by archiving it in an appropriate public repository. Authors should include a data accessibility statement, including a link to the repository they have used, in order that this statement can be published alongside their paper. Review [Wiley's Data Sharing policy](#) where you will be able to see and select the data availability statement that is right for your submission. If you have shared data, this statement will describe how the data can be accessed, and include a persistent identifier (e.g., a DOI for the data, or an accession number) from the repository where you shared the data. [Sample statements are available here](#). If published, statements will be placed in the heading of your manuscript.

2. ETHICAL GUIDELINES

Oral Diseases adheres to the ethical guidelines given below for publication and research.

2.1. Authorship and Acknowledgements

Authorship: *Oral Diseases* adheres to the [International Standards for Authors](#) published by the Committee on Publication Ethics (COPE). All authors named on a paper should agree to be named on the paper, and all authors so named should agree to the submission of the paper to *Oral Diseases* and approve the submitted and accepted versions of the publication. Any change to the author list should be approved by all authors, including any author who has been removed from the list.

Oral Diseases also adheres to the [definition of authorship](#) set up by The International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE). According to the ICMJE authorship criteria should be based on 1) substantial contributions to conception and design of, or acquisition of data or analysis and interpretation of data, 2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content and 3) final approval of the version to be published. Authors should meet conditions 1, 2 and 3.

It is a requirement that the corresponding author submit a short description of each individual's contribution to the research and its publication. Upon submission of a manuscript all co-authors should also be registered with a correct e-mail addresses. If any of the e-mail addresses supplied are incorrect, the corresponding author will be contacted by the Journal Administrator.

For all articles, the journal mandates the CRediT (Contribution Roles Taxonomy), for more information please see [Author Services](#).

Acknowledgements: Authors must acknowledge individuals who do not qualify as authors but who contributed to the research. Authors must acknowledge any assistance that they have received (e.g. provision of writing assistance, literature searching, data analysis, administrative support, supply of materials). If/how this assistance was funded should be described and included with other funding information. "Acknowledgements" should be brief and should not include thanks to anonymous referees and editors. Where people are acknowledged, a cover letter demonstrating their consent must be provided.

2.2. Ethical Approvals

Human Subjects: Experimentation involving human subjects will only be published if such research has been conducted in full accordance with ethical principles, including the World Medical Association [Declaration of Helsinki](#) (version 2002) and the additional requirements, if any, of the country where the research has been carried out. Manuscripts must be accompanied by a statement that the experiments were undertaken with the understanding and written consent of each subject and according to the above mentioned principles. A statement regarding the fact that the study has been independently reviewed and approved by an ethical board should also be included.

Photographs of People: *Oral Diseases* follows current HIPAA guidelines for the protection of patient/subject privacy. If an individual pictured in a digital image or photograph can be identified, his or her permission is required to publish the image. The corresponding author must either submit a letter signed by the patient authorizing *Oral Diseases* to publish the image/photo, or complete the 'Standard Release Form for photographic consent' available at the top of this page or by clicking the "instructions and Forms" link on the submission site. The approval must be received by the Editorial Office prior to final acceptance of the manuscript for publication. Otherwise, the image/photo must be altered such that the individual cannot be identified (black bars over eyes, tattoos, scars, etc.). *Oral Diseases* will not publish patient photographs that will in any way allow the patient to be identified, unless the patient has given their express consent.

Editors reserve the right to reject papers if there are doubts as to whether appropriate procedures have been used.

Animal Study: When experimental animals are used the methods section must clearly indicate that adequate measures were taken to minimize pain or discomfort. Experiments should be carried out in accordance with the Guidelines laid down by the National Institute of Health (NIH) in the USA regarding the care and use of animals for experimental procedures or with the European Communities Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC) and in accordance with local laws and regulations.

2.3 Clinical Trials

Clinical Trials should be reported using the CONSORT guidelines available at www.consort-statement.org. A **CONSORT checklist** and **flowchart** should also be included in the submission material. Clinical trials can be registered in any free, public clinical trials registry such as <http://www.clinicaltrials.gov> or <http://isrctn.org/>. A list of further registries is available at <http://www.who.int/ictcp/network/primary/en/>. As stated in an editorial published in *Oral Diseases* (12:217-218), 2006, all manuscripts reporting results from a clinical trial must indicate that the trial was fully registered at a readily accessible website. The clinical trial registration number and name of the trial register will be published with the paper.

2.4 DNA Sequences and Crystallographic Structure Determinations

Papers reporting protein or DNA sequences and crystallographic structure determinations will not be accepted without a Genbank or Brookhaven accession number, respectively. Other supporting data sets must be made available on the publication date from the authors directly.

2.5 Conflict of Interest and Source of Funding

All sources of institutional, private and corporate financial support for the work within the manuscript must be fully acknowledged, and any potential grant holders should be listed. Authors are also required to disclose any possible conflict of interest. These include financial (for example patent, ownership, stock ownership, consultancies, speaker's fee). Information on sources of funding and any potential conflict of interest should be disclosed at submission under the heading "Acknowledgements".

2.6 Appeal of Decision

The decision on a paper is final and cannot be appealed.

2.7 Avoiding allegations of plagiarism

The journal to which you are submitting your manuscript employs text matching software (iThenticate) to ensure against plagiarism. By submitting your manuscript to this journal you accept that your manuscript may be screened for plagiarism against previously published work. Authors should consider whether their manuscript may raise concerns via iThenticate, which will signal whether a paper is likely in any way to be plagiarized in a formal sense. iThenticate will also, however, signal whether a paper may be plagiarized by repeating work of the submitting authors and thus be regarded as duplicate or redundant publication. Experience shows that, on occasion, large sections of submitted manuscripts can be close to verbatim in word choice from that seen in other papers from the authors' group. This has nothing to do with simple repetition of names/affiliations, but does involve common (not necessarily "standard") phrases that are more appropriately referenced instead of repeating. Alternatively, they can be rephrased differently. Previously published results, including numerical information and figures or images, should be labeled to make it clear where they were previously reported. Papers that present new analyses of results that have already been published (for example, subgroup analyses) should identify the primary data source, and include a full reference to the related primary publications. *Oral Diseases* will review and publish accepted manuscripts that report data included in conference proceedings in abstract form. In such cases, authors must be clear to readers that part of all of the manuscript's data have already been published in abstract form by so indicating using a footnote to the title that states the conference proceedings in which the relevant abstract was published. For full guidance on text matching and plagiarism, please refer to Section 3 ('Research Integrity') of Wiley's Ethics Guidelines at <https://authorservices.wiley.com/ethics-guidelines/index.html>.

2.8 Permissions

If all or parts of previously published illustrations are used, permission must be obtained from the copyright holder concerned. It is the author's responsibility to obtain these in writing and provide copies to the Publishers.

3. MANUSCRIPT SUBMISSION PROCEDURE

Oral Diseases only accepts online submission of manuscripts. Manuscripts should be submitted at the online submission site: <https://wiley.atyponrex.com/journal/ODI>. Complete instructions for submitting a manuscript are available at the site upon creating an account. Assistance for submitting papers can be sought with the editorial assistant at: odiedoffice@wiley.com.

Data protection: By submitting a manuscript to or reviewing for this publication, your name, email address, and affiliation, and other contact details the publication might require, will be used for the regular operations of the publication, including, when necessary, sharing with the publisher (Wiley) and partners for production and publication. The publication and the publisher recognize the importance of protecting the personal information collected from users in the operation of these services and have practices in place to ensure that steps are taken to maintain the security, integrity, and privacy of the personal data collected and processed. You can learn more at <https://authorservices.wiley.com/statements/data-protection-policy.html>.

Article Preparation Support

Wiley Editing Services offers expert help with English Language Editing, as well as translation, manuscript formatting, figure illustration, figure formatting, and graphical abstract design – so you can submit your manuscript with confidence. Also, check out our resources for [Preparing Your Article](#) for general guidance about writing and preparing your manuscript.

3.1. Manuscript Files Accepted

Manuscripts should be uploaded as Word (.doc/.docx) or Rich Text Format (.rft) files (not write-protected) plus separate figure files. GIF, JPEG, PICT or Bitmap files are acceptable for submission, but only high-resolution TIF or EPS files are suitable for printing. The files will be automatically converted to HTML and PDF on upload and will be used for the review process. The text file must contain the entire manuscript including title page, abstract, text, references, acknowledgements, tables, and figure legends, but no embedded figures. In the text file, please reference figures as for instance 'Figure 1', 'Figure 2' etc to match the tag name you choose for individual figure files uploaded. Manuscripts should be formatted as described in the Author Guidelines below.

3.2. Transparent Peer Review

This journal is participating in a Peer Review Transparency Initiative. By submitting to this journal, authors agree that the reviewer reports, their responses, and the editor's decision letter will be linked from the published article to where they appear on [Publons](#) in the case that the article is accepted. Authors have the opportunity to opt out during submission, and reviewers may remain anonymous unless they would like to sign their report. Read more about this initiative [here](#).

3.3. Suggest a Reviewer

Oral Diseases attempts to keep the review process as short as possible to enable rapid publication of new scientific data. In order to facilitate this process, you must suggest the names and current e-mail addresses of from 2-4 potential reviewers whom you consider capable of reviewing your manuscript in an unbiased way.

3.4. Suspension of Submission Mid-way in the Submission Process

You may suspend a submission at any phase before clicking the 'Submit' button and save it to submit later. The manuscript can then be located under 'Unsubmitted Manuscripts' and you can click on 'Continue Submission' to continue your submission when you choose to.

3.5. E-mail Confirmation of Submission

After submission you will receive an e-mail to confirm receipt of your manuscript. If you do not receive the confirmation e-mail after 24 hours, please check your e-mail address carefully in the system. If the e-mail address is correct please contact your IT department. The error may be caused by some sort of spam filtering on your e-mail server. Also, the e-mails should be received if the IT department adds our e-mail server (uranus.scholarone.com) to their whitelist.

3.6. Manuscript Status

The average time from submission to first decision for manuscripts submitted to *Oral Diseases* is 20 days. You can access ScholarOne Manuscripts any time to check your 'Author Centre' for the status of your manuscript. The Journal will inform you by e-mail once a decision has been made.

3.7. Submission of Revised Manuscripts

To upload a revised manuscript, locate your manuscript under 'Manuscripts with Decisions' and click on 'Submit a Revision'. Please remember to delete any old files uploaded when you upload your revised manuscript.

3.8. Refer and Transfer Program

Wiley believes that no valuable research should go unshared. This journal participates in Wiley's [Refer & Transfer program](#). If your manuscript is not accepted, you may receive a recommendation to transfer your manuscript to another suitable Wiley journal, either through a referral from the journal's editor or through our Transfer Desk Assistant.

4. MANUSCRIPT TYPES ACCEPTED

Original Research Articles: Manuscripts reporting laboratory investigations, well-designed and controlled clinical research, and analytical epidemiology are invited. Studies related to aetiology, pathogenesis, diagnosis, prevention and treatment are all of interest, but all papers must be based on rigorous hypothesis-driven research. Areas of interest include diseases affecting any structures of the mouth; cancer and pre-cancerous conditions; saliva and salivary glands; bone and hard tissues; relationship between oral, periodontal, and dental conditions and general health; pain; behavioral dentistry; chemosensory, developmental, geriatric, and motor disorders.

Randomised trials must adhere to the **CONSORT guidelines**, and a **CONSORT checklist** and **flowchart** must be submitted with such papers. Please also refer to the notes under section 2.3 above.

Oral Diseases supports the ALLTRIALS initiative and encourages authors submitting manuscripts reporting a clinical trial to register the trials in any of the following free, public clinical trials registries: www.clinicaltrials.gov, <http://clinicaltrials.ifpma.org/clinicaltrials/>, <http://isrctn.org/>. The clinical trial registration number and name of the trial register will then be published with the paper.

Observational studies must adhere to the **STROBE guidelines**, and a **STROBE checklist** must be submitted with such papers. Diagnostic accuracy studies must adhere to the **STARD guidelines**, and a **STARD checklist** must be submitted with such papers.

Review Papers: *Oral Diseases* commissions review papers and also welcomes uninvited reviews. Systematic reviews with or without meta-analyses must adhere to the **PRISMA guidelines**, and a **PRISMA checklist** and **flowchart** must be submitted with such papers. The word limit for Review Papers is 4,000 words, with a maximum of two tables or images and 50 references.

Clinical Image: Clinical Images illustrate a brief presentation of a peculiar case. These include a clinical description, excellent clinical pictures, a multiple choice quiz on the putative diagnosis (no more than 4-5 options), the final diagnosis and a brief discussion, followed by the patient outcome. Clinical Images should be structured as follows:

1. TITLE describing the case without mentioning the diagnosis
2. CASE REPORT: 120 words
3. CASE IMAGE(S): No more than 2 clinical pictures of the case (the legend must not mention the diagnosis). Label image(s) Figure 1 or Figure 1A and 1B.
4. QUIZ: Provide no more than 4 possible answers. See example here:
WHAT IS YOUR DIAGNOSIS?

Based on the patient's history, physical examination, and laboratory findings, which one of the following is the most suspicious diagnosis?

1. Answer A
2. Answer B
3. Answer C
4. Answer D

5. DIAGNOSIS: Provide the answer along with a 1-2 sentence explanation followed by the subsequent discussion. (350 words).
6. DIAGNOSIS IMAGE: One picture clarifying the diagnosis (i.e. a histological picture, images, micro, blood tests, ...). Label this Figure
7. OUTCOME: 1-2 sentences.
8. AUTHOR CONTRIBUTION section: Required.
9. PATIENT CONSENT section: Use standard wording, "The patient reported in this manuscript provided written informed consent for the publication of the case details."
10. CONFLICT OF INTEREST STATEMENTS (COIS): Required section. Default text when no conflicts exist reads "All authors have no conflicts of interest to disclose."
11. ACKNOWLEDGEMENTS: Optional section.
12. KEYWORDS: Not required as they may give away the answer.
13. FUNDING: Not required for this article type.
14. REFERENCES: Maximum 10.

Letters to the Editors: Letters, if of broad interest, are encouraged. They may deal with material in papers published in *Oral Diseases* or they may raise new issues, but should have important implications. Only one letter may be submitted by any single author or group of authors on any one published paper. Letters to the Editors should not include an abstract and are limited to 500 words, with a maximum of 1 figure and 10 references.

Case Reports: *Oral Diseases* does not accept case reports and instead recommends that authors submit to *Clinical Case Reports* an open access journal published by Wiley.

Meeting Reports: Will be considered by the editors for publication only if they are of wide and significant interest.

Short Communications: These are brief papers of any topic within the scope of *Oral Diseases* about significant and novel advances that are complete in research endeavor but not suitable for full publications. Short Communications should not include an abstract and are limited to 1000 words, with a maximum of 3 figures and 20 references. Short Communications **should not** be structured into sections.

Invited Reviews: These may be submitted by invitation of the Senior Editors only, and consist of around 2500-2750 words, with a maximum of one table or image and 25 references.

Commentaries: These may be submitted by invitation of the Senior Editors only.

Invited Editorials: These may be submitted by invitation of the Senior Editors only.

Invited Book Reviews: These may be submitted by invitation of the Senior Editors only.

5. MANUSCRIPT FORMAT AND STRUCTURE

Oral Diseases now offers Free Format submission for a simplified and streamlined submission process.

Before you submit, you will need:

- Your manuscript: this should be an editable file including text, figures, and tables, or separate files – whichever you prefer. All required sections should be contained in your manuscript, including abstract, introduction, methods, results, and conclusions. Figures and tables should have legends. Figures should be uploaded in the highest resolution possible. References may be submitted in any style or format, as long as it is consistent throughout the manuscript. Supporting information should be submitted in separate files. If the manuscript, figures or tables are difficult for you to read, they will also be difficult for the editors and reviewers, and the editorial office will send it back to you for revision. Your manuscript may also be sent back to you for revision if the quality of English language is poor.
- An ORCID ID, freely available at <https://orcid.org>. *(Why is this important? Your article, if accepted and published, will be attached to your ORCID profile. Institutions and funders are increasingly requiring authors to have ORCID IDs.)*
- The title page of the manuscript, including:
 - Your co-author details, including affiliation and email address. *(Why is this important? We need to keep all co-authors informed of the outcome of the peer review process.)*
 - Statements relating to our ethics and integrity policies, which may include any of the following *(Why are these important? We need to uphold rigorous ethical standards for the research we consider for publication):*
 - data availability statement
 - funding statement
 - conflict of interest disclosure
 - ethics approval statement
 - patient consent statement
 - permission to reproduce material from other sources
 - clinical trial registration

If you are invited to revise your manuscript after peer review, the journal will also request the revised manuscript to be formatted according to journal requirements as described below.

ANEXO 2 – ATA DE APRESENTAÇÃO



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE ODONTOLOGIA
DISCIPLINA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE ODONTOLOGIA

ATA DE APRESENTAÇÃO DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Aos 26 dias do mês de outubro de 2023, às 14 horas, em sessão pública, na Sala dos Conselhos da Direção do Centro de Ciências da UFSC, na presença da Banca Examinadora presidida pelo Professor Rogério de Oliveira Gondak e pelos examinadores:

1 – Profa. Elena Riet Correa Rivero,

2 – Dra. Riéli Elis Schulz,

a aluna Bárbara Azevedo Machado apresentou o Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação intitulado: "Avaliação de marcadores imunológicos e de proliferação celular em adenoma pleomórfico e carcinoma ex-adenoma pleomórfico: estudo multicêntrico" como requisito curricular indispensável à aprovação na Disciplina de Defesa do TCC e a integralização do Curso de Graduação em Odontologia. A Banca Examinadora, após reunião em sessão reservada, deliberou e decidiu pela APROVAÇÃO do referido Trabalho de Conclusão do Curso, divulgando o resultado formalmente a aluna e aos demais presentes, e eu, na qualidade de presidente da Banca, lavrei a presente ata que será assinada por mim, pelos demais componentes da Banca Examinadora e pelo aluno orientando.



Documento assinado digitalmente
Rogério de Oliveira Gondak
Data: 26/10/2023 15:38:26 -0300
CPF: ***.521.929-**
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Presidente da Banca Examinadora



Documento assinado digitalmente
Elena Riet Correa Rivero
Data: 26/10/2023 16:30:43 -0300
CPF: ***.083.900-**
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Examinador 1



Documento assinado digitalmente
RIELI ELIS SCHULZ
Data: 26/10/2023 18:21:57 -0300
CPF: ***.430.200-**
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Examinador 2



Documento assinado digitalmente
Barbara Azevedo Machado
Data: 02/11/2023 14:18:23 -0300
CPF: ***.740.929-**
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Aluno