



UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL

CAMPUS DE PASSO FUNDO

CURSO DE MEDICINA

ANA CLAUDIA DE ALCÂNTARA AMARO

CÂNCER DE CAVIDADE ORAL E OROFARINGE

FATORES DE RISCO E EXPRESSÃO DA PROTEÍNA p16

PASSO FUNDO, RS

2018

ANA CLAUDIA DE ALCÂNTARA AMARO

CÂNCER DE CAVIDADE ORAL E OROFARINGE

FATORES DE RISCO E EXPRESSÃO DA PROTEÍNA p16

O Projeto de Pesquisa apresentado ao curso de Medicina da Universidade Federal da Fronteira Sul como requisito parcial para Bacharel em Medicina.

Orientação Prof^ª. Ms. Daniela Augustin Silveira
Coorientação Prof. André Roberto Mozzini

PASSO FUNDO, RS

2018

PROGRAD/DBID

AMARO, ANA CLAUDIA DE ALCÂNTARA

Câncer de Cavidade Oral e Orofaringe: Fatores de Risco e Expressão da Proteína p16/ Ana Claudia de Alcântara Amaro. - -2018. 50 f.

Orientador: Daniela Augusti Silveira

Coorientador: André Roberto Mozzini

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina) - Universidade Federal da Fronteira Sul, Passo Fundo, RS, 2018.

1 Câncer de Cavidade Oral e Orofaringe 2 Fatores de Risco I. SILVEIRA, DANIELA AUGUSTIN, orient. II. MOZZINI, ANDRÉ ROBERTO, co-orient.

Fonte: Elaborada pela autora, 2018.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Prof^a e Mestre Daniela Augustin Silveira, pelos ensinamentos, apoio e dedicação. Desde de o início da graduação foi uma inspiração pelo seu conhecimento, criatividade e afeição pela patologia, despertando em mim interesse e apreciação em estudar as doenças, principalmente as neoplasias. É uma honra, ter sua orientação na minha trajetória acadêmica. Tem minha admiração e minha gratidão!

Ao meu coorientador Prof. André Roberto Mozzini por compartilhar seus conhecimentos e experiências como cirurgião de cabeça e pescoço para desenvolver essa pesquisa.

Aos professores da disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso da Universidade Federal da Fronteira Sul, Ivana Loraine Lindemann e Gustavo Olzanski Acrani pelas suas orientações durante os semestres.

Ao Hospital São Vicente de Paulo pelo fornecimento dos dados e principalmente ao Laboratório de Patologia do Hospital pela colaboração da equipe e auxílio durante à coleta de dados.

Ao Laboratório Medicina Diagnóstica de Erechim pela realização do método imunoistoquímico e por nos acolher durante a realização do processo.

A todos àqueles que direta ou indiretamente contribuíram para o êxito deste trabalho, permitindo aprimorar minha formação. À todos, meus agradecimentos.

RESUMO

O Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi elaborado de acordo com as normas do Manual de Trabalhos Acadêmicos da Universidade Federal da Fronteira Sul e condizente com o Regulamento de TCC do Curso de Graduação em Medicina do Campus Passo Fundo. O volume compõe-se das seguintes partes: introdução, desenvolvimento (projeto de pesquisa e relatório de pesquisa), artigo científico e considerações finais. O trabalho foi elaborado pela acadêmica Ana Claudia de Alcântara Amaro, com início no componente curricular de Pesquisa em Saúde e em continuidade no componente TCCI e TCCII, contemplando os semestres 2017/2, 2018/1 e 2018/2, respectivamente, sob orientação da professora Ms. Daniela Augustin Silveira e Coorientação Prof. André Roberto Mozzini. O estudo tem como objetivo verificar fatores associados com a expressão positiva da proteína p16, sendo que o local do estudo será realizado no Hospital São Vicente de Paulo na cidade de Passo Fundo –RS.

Palavras Chave: Papiloma Vírus Humano (HPV). Câncer. Cavidade Oral. Orofaringe. p16.

ABSTRACT

The End of Course Project was elaborated according to the norms of the Manual of Academic Works of the Federal University of the South Frontier and according to the Regulation of the Course of Graduation in Medicine of the Passo Fundo Campus. The volume consists of the following parts: introduction, development (research project and research report), scientific article and final considerations. The work was prepared by the academic Ana Claudia de Alcântara Amaro, beginning in the curricular component of Health Research and in continuity in the component TCCI and TCCII, contemplating the semesters 2017/2, 2018/1 and 2018/2, respectively, under the guidance of the teacher Ms. Daniela Augustin Silveira and Coordination Prof. André Roberto Mozzini. The study aims to verify factors associated with the positive expression of protein P16, and the study site will be performed at Hospital São Vicente de Paulo in the city of Passo Fundo –RS.

Keywords: Human Papilloma Virus (HPV). Cancer. Oral cavity. Oropharynx. p16

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2 DESENVOLVIMENTO.....	10
2.1 PROJETO DE PESQUISA	10
2.1.1 Resumo.....	10
2.1.2 Tema.....	11
2.1.3 Problema.....	11
2.1.4 Hipóteses	11
2.1.5 Objetivo Geral.....	11
2.1.6 Justificativa.....	12
2.1.7 Referencial teórico	12
2.1.8 Metodologia	17
2.1.9 Recursos	21
2.1.11 Referências	22
2.1.12 Apêndices	24
2.1.13 Anexos.....	27
2.1 RELATÓRIO DE PESQUISA.....	28
3 ARTIGO CIENTÍFICO	30
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	43
5 ANEXOS	44

1. INTRODUÇÃO

Ambas as localizações, orofaringe e cavidade oral, costumam ser topografias comuns para o desenvolvimento de neoplasias malignas. Dentre elas, destaca-se o carcinoma de células escamosas, uma neoplasia de origem epitelial, de comportamento extremamente agressivo, com patogenia multifatorial, incluindo-se como potenciais carcinógenos associados a esta neoplasia o uso crônico do álcool e do tabaco, bem como alguns fatores relacionados a costumes e dieta em determinadas regiões geográficas (ROBBINS, 2016).

Apesar da exposição ao álcool e ao tabaco serem os principais fatores envolvidos, 20% dos pacientes não apresentam essa exposição dentro do seu histórico clínico. Esse fato, tem alertado para a possível infecção pelo papilomavírus humano (HPV) (MANNARRINI, 2009). Evidências apontam que a infecção pelo vírus HPV está, portanto, relacionada com o desenvolvimento do carcinoma de células escamosas na cavidade oral e orofaringe. Este vírus tem sido detectado em 25% dos casos de câncer de cabeça e pescoço e quanto a incidência de neoplasias em cabeça e pescoço aproxima-se de 500.000 casos/ano (SPENCE, 2016).

Em um contexto geral, neoplasias de orofaringe e de cavidade oral apresentam algumas singularidades quando comparadas. Dentro das singularidades, é necessário reconhecer a anatomia dessas regiões. A cavidade oral se delimita pelo assoalho da boca, bochechas e em região retromolar se limita até o arco palatoglossos. Enquanto a orofaringe é restrita ao palato duro até o osso hióide, incluindo as tonsilas palatinas, a base da língua (limitada pelo sulco glossopalatino), palato mole e região posterior da faringe (STANDRING, 2010; MARTA 2013). A partir disso, é possível definir os locais mais acometidos. Especificadamente, o HPV encontra-se com frequência na orofaringe, enquanto o álcool e o tabaco estão mais presentes em neoplasias de cavidade oral (SPENCE, 2016). Além disso, há baixa prevalência de tumores orofaríngeos em países em desenvolvimento (ELREFAEY, 2014), destacando-se nesses locais os tumores de cavidade oral (RIBEIRO, 2015).

A identificação do HPV pode ser feita de forma indireta, através de método imunoistoquímico, no qual se mede os níveis da proteína p16, ou pela reação em cadeia de polimerase (PCR) através da qual identifica-se a presença do vírus quantificando o número de cópias virais. Essa proteína, p16, pertence a um grupo de proteínas que atuam no ciclo celular, atuando sobre as proteínas ditas supressoras tumorais, especificamente a proteína RB. Na ocorrência de uma infecção por vírus HPV de alto potencial oncogênico, este grupo de vírus apresentam genes que codificam oncoproteínas (E6 e E7) assim denominadas por interferirem nas proteínas sinalizadoras do ciclo celular. Devido ao

bloqueio da RB pela oncoproteína E7, a proteína p16 se superexpressa na célula tumoral, podendo ser detectada através de uma reação imunistoquímica. (ROBBINS, 2016).

As neoplasias de orofaringe mostram-se em progressão, enquanto as neoplasias orais em regressão (HADDAD, 2017). As primeiras são resultantes, na maioria das vezes, da ação do HPV (SPENCE, 2016). Além do HPV se destacar principalmente em câncer de orofaringe, a literatura apresenta uma porcentagem relevante de pacientes com carcinoma de células escamosas não expostos ao álcool e ao tabaco (MANNARRINI, 2009). Esse grupo pode ter sido exposto à outros fatores de risco, como radiação, possuir fatores genéticos associados, algum tipo de exposição ocupacional (STENSON, 2018), ou simplesmente algum promotor em cavidade oral como atrito/irritação crônica por prótese dentária (ROBBINS, 2010). Porém, os fatores infecciosos, depois de álcool e tabaco tem uma relevância maior na carcinogênese, principalmente quando há infecção pelo HPV.

Por esses motivos, a pesquisa pretende avaliar à exposição de fatores de maior relevância como álcool e tabaco associados à superexpressão da proteína p16 (indicativo de HPV). A partir disso, definir o perfil do paciente com tumor HPV(p16) positivo e HPV(p16) negativo (associados ao alcoolismo e ao etilismo) para esclarecer o perfil clínico e o prognóstico, cujas abordagens são diferentes. Além de permitir a conduta médica adequada, permite o foco na prevenção e no rastreamento desses tumores.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 PROJETO DE PESQUISA

2.1.1 Resumo

O projeto pretende verificar os fatores envolvidos na patogênese do câncer de cavidade oral e orofaringe. Para isso, será mensurada a expressão da proteína p16 a fim de indicar a presença do HPV em amostras tumorais, assim como avaliar o consumo de álcool e tabaco nesses pacientes. O estudo transversal se desenvolve a partir de dados obtidos em prontuários de pacientes que realizaram procedimento cirúrgico, biópsia ou ressecção do tumor, entre os anos de 2010 e 2016 no Hospital São Vicente de Paulo. Para a amostra não probabilística por conveniência a estimativa é de aproximadamente 40 pacientes. O desenvolvimento da pesquisa acontece de janeiro de 2018 a dezembro de 2018. A análise estatística do estudo é descritiva e analítica, compreendendo a distribuição de frequência absoluta e relativa através do programa PSPP, sendo que a análise de associação entre as variáveis será através

do teste Qui-Quadrado. Os resultados esperados incluem um grupo de pacientes com idade avançada, frequentemente expostos ao álcool e tabaco, compondo um grupo de tumor mais agressivo se comparado com pacientes não expostos a esses fatores, principalmente na presença do HPV. Os resultados serão divulgados em eventos e/ou publicações científicas mantendo sigilo dos dados pessoais.

2.1.2 Tema

Perfil do paciente com câncer de cavidade oral e orofaringe.

2.1.3 Problema

Câncer de cavidade oral e orofaringe em pacientes etilistas e tabagistas e/ou associados com o vírus HPV ou apenas exposto ao vírus HPV apresentam diferenças de perfil?

2.1.4 Hipóteses

Os pacientes com a infecção por Papilomavírus humano (HPV) apresentam um perfil e clínica própria quando comparados aos pacientes expostos ao álcool e ao tabaco apenas.

2.1.5 Objetivo Geral

Verificar fatores associados com a expressão positiva da proteína p16.

2.1.6 Justificativa

O estudo proposto apresenta uma relevância no âmbito científico e social. Na prática clínica, identificar o perfil do paciente a partir da expressão positiva da proteína p16 (indicativo de HPV) ou negativa (associado ao alcoolismo e etilismo) em câncer de cavidade oral e orofaringe pode auxiliar na conduta do paciente, assim como na evolução e prognóstico. Identificá-los também propicia focar na prevenção e rastreamento.

2.1.7 Referencial teórico

No Brasil em 2014 houveram 15.290 casos de câncer de cabeça e pescoço, atingindo 11.280 homens e 4.010 mulheres (PETITO, 2016). A incidência mundial alcançou 500 mil casos por ano, sendo que em 25% de todos os casos há presença do HPV (SPENCE, 2016). Contudo, carcinomas orais e de orofaringe juntos representam 80% dos casos de neoplasias de cabeça e pescoço. O subtipo mais frequente, em 90% dos casos, nessas patologias é, portanto, o carcinoma de células escamosas (PETITO, 2016). Apesar de o álcool e o tabaco serem os fatores de risco em destaque, em até 20% dos casos de câncer de boca e orofaringe não apresentam exposição à esses fatores, sinalizando um alerta sobre a possível infecção por HPV (MANNARRINI, 2009).

O desenvolvimento dessas neoplasias depende de características ambientais e genéticas. Em relação as ambientais, além da presença do vírus, a exposição dependente da intensidade e da duração de álcool e/ ou tabaco estão presentes. Quanto ao fator genético, os carcinomas de células escamosas podem se apresentar como uma característica herdada, nesse caso, evidências apontam que o acometimento em parentes de primeiro grau aumenta a chance de desenvolver a doença em aproximadamente duas vezes, sendo que associar tabaco esse risco aumenta em quatorze vezes (SHAH, 2012).

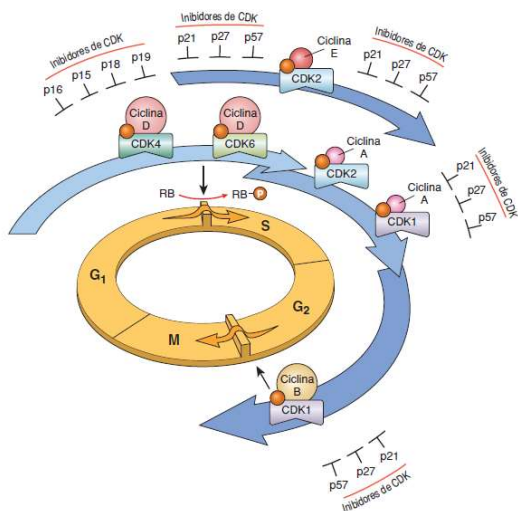
O HPV consiste em um vírus epiteliotrópico (ELREFAEY, 2014). O agente apresenta duas formas de infecção, uma episossomal, cujo DNA viral não se integra ao genoma do hospedeiro, presente em lesões benignas e outra forma integrada, mais associada as neoplasias, em que há incorporação ao DNA do hospedeiro. Após a infecção as oncoproteínas virais podem ser produzidas por genes de expressão precoce (Early) ou tardia (Late), por isso a nomenclatura “E” ou “L”. As proteínas virais E1 e E2 regulam as oncoproteínas E6 e E7, porém, ao se integrar no DNA do hospedeiro, o DNA viral

perde a expressão de E1 e E2, e sem controle, há uma elevação das oncoproteínas virais E6 e E7 (ROBBINS, 2010; FERRARO, 2011).

Os fatores de risco, especificamente as oncoproteínas virais do HPV e o tabaco atuam intrinsecamente no ciclo celular. O ciclo divide-se em fase G1 (pré-síntese), S (síntese), G2 (pré-mitose) e M (mitose). Entre as fases G1/S e G2/M há pontos de checagem, os quais avaliam a integridade do DNA antes e depois da replicação. Caso haja alteração em DNA, um grupo de proteínas reparadoras tentam reverter o defeito, todavia, senão for possível a reparação, entra em ação a proteína supressora p53, a qual induz apoptose celular (ROBBINS, 2010).

O ciclo celular depende de enzimas atuantes em suas diferentes fases de ocorrência, dentre elas, as enzimas ciclinas-quinases (CDK). A proteína p16 atua como inibidora das ciclinas-quinases, assim como outras proteínas. Quando as CDKs estão em conjunto com as ciclinas fosforilam a proteína retinoblastoma (RB). A RB configura-se como uma reguladora do ciclo e apresenta efeitos antiproliferativos na sua forma inativa, pois se mantém ligada ao fator de transcrição E2F (BEHAR, 2008). Esse fator, ao ser liberado após a fosforilação da pRB, impulsiona a transcrição do DNA, iniciando a mitose (ROBBINS, 2010). Esse processo está ilustrado na Figura 1.

Figura 1- Representação das CDK em conjunto com as Ciclinas. Ilustra a ação da p16 e da pRB na sua forma inativa e ativa



Fonte: Robbins, 2010.

A compreensão do funcionamento do ciclo celular é importante para reconhecimento carcinogênico das oncoproteínas virais e do tabagismo. Na infecção viral, HPV, a oncoproteína E6 bloqueia a proteína de supressão tumoral p53, como abordada anteriormente, que tem função de suprimir células com defeitos em DNA, após tentativa de ação das proteínas reguladoras do ciclo.

Enquanto a E7 atinge a proteína RB que tem ação de controle do ciclo, tanto pela sua ligação ao fator de transcrição quanto por ser inibidora da p16. Os hidrocarbonetos e nitrosaminas presentes no tabaco, também atuam na proteína p53 (MOYSES, 2011), porém ao invés de bloquear, causam mutação (CHU, 2013).

Em relação a presença do HPV, sem freio molecular (pRB), há uma proliferação celular intensa e em concomitância, sem o seu inibidor, a proteína p16 se eleva (BRITTO, 2014). Por essas alterações, os níveis de p16 são considerados um biomarcador para infecções por HPV (SPENCE, 2016). Nesse caso, ela pode ser detectada indiretamente através de métodos imunoistoquímicos ou diretamente pela reação em cadeia de polimerase (PCR), a qual utiliza iniciadores específicos (SPENCE, 2016). A PCR em tempo real se destaca pela sensibilidade do teste, enquanto a imunoistoquímica apresenta a melhor opção em nível tempo de trabalho, custo e acesso (SNOW, 2010).

O álcool, por sua vez, não tem ação carcinogênica sobre o ciclo celular. O agente cursa com lesão indireta ou direta. No primeiro caso, atua como solvente, expondo a mucosa e permitindo a captação de outros carcinógenos. No segundo caso, o metabólito resultante do álcool interfere na reparação e síntese de DNA. Em algumas situações, o paciente apresenta baixos níveis de enzima ALDH2 que é responsável por degradar acetaldeído em acetato concentrando mais o acetaldeído que por formação de radicais livres faz dano celular. Por isso, tanto o álcool quanto o tabaco predispõe a mutação, sendo que em associação a chance aumenta 40 vezes o risco de desenvolver câncer de cabeça e pescoço (GALBIATTI, 2013; MOYSÉS, 2011).

Dessa maneira, o mecanismo carcinogênico se diferencia de acordo com a exposição do fator. Como explanado previamente, o vírus age no ciclo tanto por inibição à proteína RB quanto na p53. Assim como o tabagismo também atua na p53. Portanto, pacientes com HPV positivo e com HPV negativo (tabagistas e/ou etilistas) apresentam a proteína de supressão tumoral p53 e a pRB alteradas (SPENCE, 2016), criando grupos diferentes de acordo com a exposição. Quando há detecção de vírus há bloqueio da p53, redução da proteína RB e por consequência superexpressão da proteína p16. Enquanto no HPV negativo, existe a mutação da p53, redução da expressão da p16 e aumento da pRB (CHU, 2013).

As localizações anatômicas atingidas por neoplasias são encontradas com frequência em borda de língua (ANTUNES, 2007) e na orofaringe um dos locais mais acometidos é a tonsila palatina (ELREFAEY, 2014). A orofaringe é limitada pelo palato duro até o osso hióide e inclui palato mole, parte posterior da faringe, tonsila e base da língua, limitada pelo sulco glossopalatino (MARTA,

2013). A localização da lesão permite definir a característica clínica e prognóstica da patologia (ELREFAEY, 2014). Os fatores relacionados também são distintos, sendo o HPV comumente associado a orofaringe, enquanto em cavidade oral, laringe e hipofaringe os tumores estão relacionados principalmente ao fumo e ao tabaco (SPENCE, 2016).

Quanto ao estadiamento, pacientes HPV positivos apresentam um T em estágios iniciais (T1/T2), com diferenciação basalóide (ELREFAEY, 2014). O grau histológico e a expressão de marcadores moleculares como a proteína p16 direcionam o estadiamento através de TNM, assim como a extensão do câncer, sugerindo o prognóstico tanto em carcinomas oral e em orofaringe (OLIVEIRA, 2006). Todavia, outros subtipos de HPV além do 16 apresentam taxas reduzidas de sobrevivência, podendo ser detectados por outros métodos diagnósticos (SPENCE, 2016).

Devido ao aumento a partir de 1990 dos casos de câncer em base da amígdala e língua associados ao HPV a uma taxa de 5% ao ano nos EUA, a 8 ed TNM em 2017 classificou o estadiamento em grupos diferentes: Tumor de orofaringe em pacientes com HPV positivo e negativo. Além de mudança em T para cavidade oral (LYDIATT, 2017). Essas alterações são demonstradas em Figura 2, Figura 3 e Figura 4.

Figura 2 –Classificação de T para tumores de orofaringe associados ao Papilomavírus Humano (p16-Positivo)

T CATEGORY	T CRITERIA
T0	No primary identified
T1	Tumor 2 cm or smaller in greatest dimension
T2	Tumor larger than 2 cm but not larger than 4 cm in greatest dimension
T3	Tumor larger than 4 cm in greatest dimension or extension to lingual surface of epiglottis
T4	Moderately advanced local disease; tumor invades the larynx, extrinsic muscle of tongue, medial pterygoid, hard palate, or mandible or beyond ^D

Fonte: 8ª edição Manual de Estadiamento AJCC

Figura3 – Classificação de T para tumores de orofaringe não associados ao Papilomavírus Humano (p16-Negativo).

T CATEGORY	T CRITERIA
Tx	Primary tumor cannot be assessed
Tis	Carcinoma in situ
T1	Tumor 2 cm or smaller in greatest dimension
T2	Tumor larger than 2 cm but not larger than 4 cm in greatest dimension
T3	Tumor larger than 4 cm in greatest dimension or extension to lingual surface of epiglottis
T4	Moderately advanced or very advanced local disease
T4a	Moderately advanced local disease; tumor invades the larynx, extrinsic muscle of tongue, medial pterygoid, hard palate, or mandible ^b
T4b	Very advanced local disease; tumor invades lateral pterygoid muscle, pterygoid plates, lateral nasopharynx, or skull base or encases carotid artery

Fonte: 8ª ed Manual de Estadiamento AJCC.

Figura 4 – Classificação de T em Cavidade Oral

T CATEGORY	T CRITERIA
TX	Primary tumor cannot be assessed
Tis	Carcinoma in situ
T1	Tumor ≤ 2 cm, ≤ 5 mm depth of invasion (DOI) (DOI is depth of invasion and not tumor thickness)
T2	Tumor ≤ 2 cm, DOI >5 mm and ≤ 10 mm or tumor >2 cm but ≤ 4 cm, and ≤ 10 mm DOI
T3	Tumor >4 cm or any tumor >10 mm DOI
T4	Moderately advanced or very advanced local disease
T4a	Moderately advanced local disease: (lip) tumor invades through cortical bone or involves the inferior alveolar nerve, floor of mouth, or skin of face (ie, chin or nose); (oral cavity) tumor invades adjacent structures only (eg, through cortical bone of the mandible or maxilla, or involves the maxillary sinus or skin of the face); note that superficial erosion of bone/tooth socket (alone) by a gingival primary is not sufficient to classify a tumor as T4
T4b	Very advanced local disease; tumor invades masticator space, pterygoid plates, or skull base and/or encases the internal carotid artery

Fonte: 8ª ed Manual de Estadiamento AJCC

A importância do HPV se destaca em recomendação da NCCN (National Comprehensive Cancer Network) a qual preconiza o teste de HPV para tumores em orofaringe (ELREFAEY, 2014). Apesar de não se ter essa rotina no país, essa organização bem conceituada na área oncológica desperta sinal de alerta em relação ao câncer de orofaringe por ser mais frequentemente associado ao HPV, mas pode ser ampliado para cavidade oral. Isso demonstra a importância da prevenção, que o país já realiza através da vacinação contra o HPV, e de que no futuro possa se focar também no rastreamento dessas neoplasias, através da identificação no momento do diagnóstico para melhorar a conduta clínica e terapêutica.

2.1.8 Metodologia

2.1.8.1 Tipo de estudo

Estudo quantitativo observacional, do tipo transversal descritivo e analítico.

2.1.8.2 Local e período de realização

A pesquisa será realizada no Hospital São Vicente de Paulo na cidade de Passo Fundo -RS. A realização acontecerá no período de Janeiro de 2018 à dezembro de 2018.

2.1.8.3 População e amostragem

A população do estudo será constituída de pacientes que realizaram procedimento cirúrgico por câncer de cavidade oral e/ou orofaringe. A amostra, não probabilista por conveniência será constituída de pacientes cujos prontuários indicam data de realização do procedimento cirúrgico, biópsia ou ressecção de tumor entre os anos de 2010 e 2016, cuja análise anátomo-patológica foi realizada no laboratório de Patologia do Hospital São Vicente de Paulo. Estimam-se que sejam incluídos aproximadamente 40 pacientes.

Os critérios de inclusão, portanto, será conter dados em prontuário, ter histórico de câncer de cavidade oral e/ou orofaringe, ter realizado a intervenção cirúrgica no referido serviço e período, de ambos os sexos e de qualquer idade. Foram excluídos da amostra o não preenchimento ou preenchimento inadequado em prontuário, não ser histologicamente carcinoma de célula escamosa, faltar adequabilidade do material e não ter sido realizada a análise do exame anátomo-patológico no laboratório de patologia do HSVP.

Os resultados serão divulgados em eventos e/ou publicações científicas mantendo sigilo dos dados pessoais dos pacientes.

2.1.8.4 Variáveis e instrumentos de coleta de dados

As variáveis independentes são idade, sexo, etilismo e tabagismo, local de tumor primário, óbito e data de óbito, ano do diagnóstico, origem (SUS ou Particular) e TNM. A variável dependente é a presença do HPV pela expressão da proteína p16.

O instrumento utilizado para captação das informações serão os prontuários eletrônicos dos pacientes obtidos através do arquivo médico do Hospital São Vicente de Paulo.

2.1.8.5 Logística

A logística do estudo está organizada da seguinte forma:

- 1) Iniciar com a listagem dos casos obtidos do arquivo médico, com coleta dos dados, considerando os critérios de inclusão e exclusão;
- 2) Buscar os casos listados um a um no arquivo do laboratório de patologia para obtenção da amostra do tumor (bloco de parafina);
- 3) Realização da imunoistoquímica a partir de secções histológicas a partir do bloco de parafina. Esse método inclui: a Recuperação antigênica realizada em instrumento Dako, PT link, compreendendo a desparafinização, re-hidratação e recuperação antigênica com FLEX Dako de alto pH; a Incubação com Anticorpos primários por 20 minutos em temperatura ambiente. Anticorpo usado p16INK4A e clone IHCO16; a Amplificação realizada em sistema EnVision FLEX (Dako), com anticorpos secundário e revelados com o sistema cromogênico DAB+líquido Flex (Dako) e contra coloração com Hematoxilina. Controles positivos de p16 reativo em câncer de colo de útero NIC3 atestam a fidelidade das reações;
- 4) A leitura das lâminas é realizada por dois observadores através da estratégia epidemiológica de mascaramento a fim de evitar viés de aferição (duplo cego). Dentre os critérios de positividade dos tumores analisados estão a contagem de 500 células em 5 campos no aumento de 400x em microscópio óptico da marca Olympus, considerando-se positivos os casos com coloração celular (nuclear e citoplasmática) marrom. Para análise qualitativa dos casos, a p16 será considerada positiva nos casos com 70% de reatividade com intensa coloração;
- 5) Descrever e analisar os dados obtidos.

Os pesquisadores se comprometem em custear a pesquisa em todas as etapas descritas acima.

2.1.8.6 Processamento, controle de qualidade e análise estatística dos dados

A análise estatística descritiva compreendendo distribuição de frequência absoluta e relativa será realizada no programa PSPP versão livre a partir das informações dos prontuários eletrônicos físicos armazenados no arquivo do hospital e a coleta acontece no local. Terão acesso aos documentos o responsável do setor, a aluna e a orientadora. As informações coletadas em prontuários serão a identificação do paciente, idade, sexo, se é tabagista e/ou etilista, estadiamento TNM, cid do tumor primário, óbito e data de óbito, ano de diagnóstico e se a origem foi pelo SUS ou particular.

A pesquisa será realizada no HSVP Passo Fundo a partir de janeiro de 2018 a dezembro de 2018.

A análise de associação entre as variáveis independentes (sexo, idade, tabagismo, etilismo, cid do tumor primário, óbito e data de óbito, ano do diagnóstico e se origem foi pelo SUS ou particular) com a variável dependente (expressão da proteína p16) será verificada por meio do teste Qui-Quadrado empregado se nível de significância de 5%.

Os resultados serão úteis na aplicabilidade clínica, devido ao conhecimento dos profissionais sobre a frequência dos fatores associados ao desenvolvimento da patologia.

2.1.8.7 Aspectos éticos

A pesquisa será desenvolvida de acordo com a resolução 466/12 CNS, sendo que após submissão e aprovação do Comitê do Hospital São Vicente de Paulo o projeto será submetido para avaliação ética pelo Comitê de Ética em Pesquisa da universidade CEP/UFS através da Plataforma Brasil.

Quanto aos riscos, há o risco de identificação do paciente. A fim de minimizar esse risco, os dados serão manuseados apenas pela equipe de pesquisa que se compromete a não divulgar as informações e manter o sigilo nos dados de identificação. Além disso para evitar a concretização do risco de identidade revelada será atribuído um número a cada paciente ao invés das iniciais do nome. No caso de riscos não previstos ocorrerem em níveis acima dos aceitáveis, a atividade desenvolvida será interrompida.

Devido à natureza do estudo, não estão previstos benefícios diretos ao paciente, contudo a equipe fornecerá uma devolutiva a instituição envolvida na forma de relatório, documentando os resultados obtidos na pesquisa.. Além disso, a comunidade poderá ser beneficiada com esses resultados se estes forem utilizados em futuros trabalhos como artigos, congressos e na prática clínica através de ações de prevenção e tratamento do câncer de cavidade oral e orofaringe.

Para fins éticos será usado o termo de compromisso para uso de dados em arquivos (apêndice 2.1.12.2), o pedido de dispensa do TCLE (apêndice 2.1.12.1) e a Declaração de concordância das instituições envolvidas (apêndice 2.1.12.3).

2.1.11 Referências

- ANTUNES, A. A; et al. Câncer da língua: estudo retrospectivo de vinte anos. **Rev. Bras. Cir. Cabeça e Pescoço**, v. 36, n 3, p. 152 -154, Setembro 2007
- BEHAR, M. M. A expressão da proteína p16 e herpes simples vírus tipo 2 em lesões pré-neoplásicas e neoplásicas do colo do útero. 2008.
- BRITTO, N. M. S et al.O papel de p16 e Ki 67 em carcinomas de células escamosas de cavidade oral e orofaringe.**Rev. Bras. Cir. Cabeça Pescoço**, v.43, n. 4, p. 200-205, Dez. 2014.
- CHU, A. et al. A Patient-Centered Approach to Counseling Patients With Head and Neck Cancer Undergoing Human Papillomavirus Testing: A Clinician's Guide. **The Oncologist**, [s.l.], v. 18, n. 2, p.180-189, 23 jan. 2013. Alphamed Press.
- ELREFAEY, S et al. HPV in oropharyngeal cancer:the basics to know in clinical practice. **ACTA otorhinolaryngologica itálica**, v. 34, n. 6, p.299-309, Out. 2014.
- FERRARO et al. Infecção oral pelo HPV e lesões epiteliais proliferativas associadas. **J Bras Patol Med Lab**. 2011: agosto. v. 47, nº 4, p. 451-459.
- GALBIATTI, A. L. S et al. Head and neck cancer: causes, prevention and treatment. **Braz J Otorhinolaryngol**. v.79 n.2, p.239-47. Abril, 2013.
- HADDAD, R I. Human papillomavirus associated head and neck câncer. **UpToDate**. Jun. 2017.
- MANNARRINI, L ET AL. Human Papilloma Virus (HPV) in head and neck region: review of literature. **Acta otorhinolaryngologica itálica**. V.29, p.119-126. 2009.
- MARTA, G. N. Aspectos gerais do câncer de orofaringe. **Rev. Fac. Ciênc. Méd. Sorocaba**, v. 15, n. 3, p. 49 - 52, 2013.
- MOYSÉS, R. A. Análise clínica e molecular de pacientes não tabagistas e não etilistas com carcinoma epidermóide de cabeça e pescoço. Abril, 2011.192 f. Tese (doutorado em ciência) - faculdade de Medicina. São Paulo, 2011.
- OLIVEIRA LR, et al. Incidence and survival profile of patients of patients with oral squamous cell carcinoma in a Brazilian population. **J Bras Patol Med Lab**. 2006.
- PETITO, Guilherme et al. Human papillomavirus in oral cavity and oropharynx carcinomas in the central region of Brazil. **Brazilian Journal Of Otorhinolaryngology**, [s.l.], v. 83, n. 1, p.38-44, jan. 2016. Elsevier BV.
- RIBEIRO, et al. fatores associados ao câncer de lábio e cavidade oral. **Rev. bras. epidemiol**. v.18 n.3 São Paulo. Set. 2015
- ROBBINS, Stanley L. et al. **Patologia: bases patológicas das doenças**. 8. ed. Rio de Janeiro:Elsevier, 2016.
- ROBBINS, Stanley L. et al. **Patologia: bases patológicas das doenças**. 9. ed. Rio de Janeiro:Elsevier, 2010.
- SNOW, A. N.; LAUDADIO, J. Human papillomavirus detection in head and neck squamous cells carcinomas. **Adv Anat Pathol**, v. 17, n. 6, p. 394-403, 2010

SPENCE, Tara et al. HPV Associated Head and Neck Cancer. **Cancers**, [s.l.], v. 8, n. 8, p.75-87, 5 ago. 2016. MDPI AG

STENSON, K. M; et al. Epidemiology and risk factors for head and neck câncer. **UptoDate**, 2018.

SYRJANEN S. HPV infections and tonsillar carcinoma. **J Clin Pathol** 2004;57:449-55

SHAH, J.; PATEL, S. G.; SINGH, B. Head and Neck Surgery and Oncology. 4ed, 2012.

STANDRING, S. Gray's Anatomia. A base anatômica da prática clínica. 40a Ed. Elsevier Editora Ltda: Rio de Janeiro: 2010.

LYDIATT, W.M. et al. Head and Neck cancers - major changes in the American Joint Committee on cancer eighth edition cancer staging manual. *A Cancer Journal for Clinicians*. Jan. 2017.

2.1.12 Apêndices

2.1.12.1 Pedido de Dispensa do TCLE

Comitê de Ética em Pesquisa - CEP/UFFS

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

SOLICITAÇÃO DE DISPENSA

Câncer de cavidade oral e orofaringe: Fatores de risco e expressão da Proteína p16

Esta pesquisa será desenvolvida por Ana Claudia de Alcântara Amaro, discente Graduação em Medicina da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), Campus de Passo Fundo, sob orientação da Professora Ms. Daniela Augustin Silveira.

O objetivo central do estudo é verificar fatores associados do câncer de cavidade oral e orofaringe com a expressão positiva da proteína p16. A relevância do estudo é identificar esses fatores a fim de caracterizar a patologia.

A importância das informações se deve ao desenvolvimento da pesquisa e as informações coletadas serão direcionadas aos pacientes com os seguintes critérios de inclusão: ter câncer de cavidade oral e/orofaringe, ter realizado a intervenção cirúrgica no referido serviço e período, de ambos os sexos e de qualquer idade

Serão garantidas a confidencialidade e a privacidade das informações obtidas.

As informações serão utilizadas para analisar os fatores de risco envolvidos na patogênese do câncer de cavidade oral e orofaringe, sendo que os dados serão coletados no HSVP em Passo Fundo através dos prontuários físicos. Dentre os dados incluem idade, sexo e se realizou o tratamento no hospital em questão.

A pesquisa não trará benefícios diretos aos pacientes, porém a equipe fornecerá uma devolutiva a instituição envolvida, documentando os resultados obtidos na pesquisa através da divulgação em eventos e/ou publicações científicas mantendo sigilo dos dados pessoais. Além disso, a comunidade poderá ser beneficiada com esses resultados se esses forem utilizados em futuros trabalhos e na prática clínica dos profissionais para prevenção e tratamento do câncer.

Quanto aos riscos de identificação, manter-se-á sigilo através de atribuição de números para cada paciente ao invés das iniciais do nome.

Os resultados serão divulgados em eventos e/ou publicações científicas mantendo sigilo dos dados pessoais.

Devido à importância da pesquisa e com base na Resolução CNS N° 466 de 2012 - IV.8 , solicito a dispensa da obtenção do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido devido ao uso de dados serem por prontuários, uso de blocos de parafina e de muitos dos pacientes já poderem ter evoluído a óbito.

Passo Fundo, ____ de _____ de 2018

Profª. Me. Daniela Augustin Silveira – Pesquisadora Responsável

2.1.12.2 Termo de Compromisso para uso de dados em arquivo

TÍTULO DO PROJETO: Câncer de cavidade oral e orofaringe – fatores de risco e expressão da proteína p16

Os pesquisadores do projeto de pesquisa acima identificados assumem o compromisso de:

1. Preservar as informações dos pacientes cujos dados serão coletados
2. Que as informações serão utilizadas única e exclusivamente para a execução do projeto em questão
3. Que as informações somente serão divulgadas de forma anônima, não sendo usadas iniciais ou quaisquer outras indicações que possa identificar o sujeito da pesquisa
4. Que serão respeitadas todas as normas da Resolução CNS 466/2012 e suas complementares na execução deste projeto.

Profª. Me. Daniela Augustin Silveira – Pesquisadora Responsável

Passo Fundo, 2018

2.1.12.3 Declaração de concordância da Instituição

DECLARAÇÃO DE CIÊNCIA E CONCORDÂNCIA DAS INSTITUIÇÕES ENVOLVIDAS

Com o objetivo de atender às exigências para obtenção de parecer do Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos, _____, a representante legal da Hospital São Vicente de Paulo de **Passo Fundo**, envolvida no projeto de pesquisa intitulado “**Câncer de cavidade oral e rofaringe: Fatores de risco e expressão da Proteína 16**” declara estar ciente e de acordo com seu desenvolvimento nos termos propostos, salientando que a pesquisadora cumprirá os termos da resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde e as demais legislações vigentes.

Profª. Me. Daniela Augustin Silveira – Pesquisadora Responsável

Assinatura e Carimbo do responsável da Instituição

2.1.13 Anexos

2.1.13.1 Ficha de Inscrição do Projeto Hospital São Vicente de Paulo

HOSPITAL SÃO VICENTE DE PAULO

CENTRO DE GERENCIAMENTO EM PESQUISAS (CGP-HSVP)
 COMISSÃO DE PESQUISAS E PÓS-GRADUAÇÃO (CPPG)

FICHA DE INSCRIÇÃO DO PROJETO

A Comissão de Pesquisas e Pós-Graduação do Hospital São Vicente de Paulo (CPPG-HSVP), responsável pela avaliação e aprovação de pesquisas, lembra que, para a coleta dos dados e se não houver vínculo com o HSVP, deve ser feito um contato prévio com um integrante do corpo clínico ou profissional vinculado à pesquisa no hospital, para que o mesmo seja responsável pelo desenvolvimento das ações da equipe de pesquisas durante a coleta dos dados.

Título do Projeto: _____

Autor e contato (telefone e e-mail): _____

Orientador(a) e formação: _____

Responsável junto ao HSVP – com assinatura:

Função e titulação do responsável no setor (HSVP): _____

Setor: _____

Ramal: _____ E-mail: _____

Passo Fundo, _____ de _____ de 20____.

2.1 RELATÓRIO DE PESQUISA

Este Trabalho de Conclusão de Curso compõe-se de descrição do projeto de pesquisa, relatório da pesquisa e construção de artigo com os principais resultados obtidos. O volume está sendo elaborado pela graduanda Ana Cláudia de Alcântara Amaro, sob a orientação da professora Ms. Daniela Augustin Silveira e Coorientação Prof. André Roberto Mozzini.

A definição do tema e os demais itens do projeto iniciou em Agosto de 2017 a partir da disciplina de Pesquisa em Saúde prevista na matriz curricular. A construção prossegue no componente curricular TCCI e TCCII. O projeto previsto será realizado a partir dos dados do Laboratório de Patologia do HSVP. A aprovação da pesquisa pelo Hospital São Vicente de Paulo foi obtida em Janeiro de 2018 e a submissão à Plataforma Brasil ocorreu em Março de 2018, sendo que posteriormente retornou duas vezes com pendências a serem adequadas. A aprovação final pelo CEP aconteceu em Maio de 2018 (anexo 5.2). Com início da coleta de dados em Junho de 2018.

O estudo tem por finalidade verificar os fatores associados à patogênese do câncer de cavidade oral e orofaringe. Para isso, a coleta de dados inicia com a listagem dos casos obtidos do arquivo médico do HSVP de pacientes que realizaram o procedimento médico do dia 2 de Janeiro de 2010 a 31 de Dezembro de 2016. Inicialmente sendo avaliada a frequência de casos de câncer de cavidade oral e orofaringe e em sequência selecionada uma amostra para realização da imunoistoquímica. Os critérios para seleção desta amostra incluem ter feito o diagnóstico no HSVP e conter os anátomo-patológicos nas pastas de registro contidos no Laboratório de Patologia até que se alcance o número estimado previsto em torno de 40 amostras. No final com, as exclusões, apesar de encontrado 49 casos, a amostra final constituiu-se de 43 casos, sendo 42 pacientes devido a um tumor sincrônico em orofaringe.

Quanto aos itens de exclusão dos dados selecionados incluíram o não preenchimento do prontuário, a falta de adequabilidade do material para análise imunoistoquímica e análise anátomo-patológica não ter sido realizada dentro do HSVP. A partir da listagem obtida pelo registro dos anátomo-patológico foram buscados os blocos de parafina que continham o tumor referido para realizar o procedimento. A coleta e o acompanhamento da técnica foi realizado pela orientadora e pela acadêmica. A realização da imunoistoquímica foi preparada em Laboratório Medicina Diagnóstica de Erechim, através de financiamento próprio.

Para análise dos dados será utilizada a ferramenta PSPP versão livre a partir das informações dos prontuários, sendo que serão obtidos a identificação do paciente, idade, sexo, se é tabagista e

etilista, óbito e data de óbito, cid do tumor primário, origem SUS ou particular estadiamento TNM e resultado da imunoistoquímica. A análise estatística é descritiva e compreende a distribuição de frequência absoluta e relativa. A análise de associação entre as variáveis independentes e dependentes será verificada por meio do teste Qui-Quadrado empregado se nível de significância de 5%.

Por fim, os resultados serão úteis na aplicabilidade clínica pela relevância no âmbito científico e social. Na prática clínica, identificar os fatores de risco (tabagismo, etilismo e infecção por HPV) na patogênese do câncer de cavidade oral e orofaringe, além de definir o perfil desses pacientes, prediz a evolução e prognóstico, proporcionando a melhor conduta no seguimento. Identificá-los também propicia focar na prevenção a partir da orientação em serviços de atenção à saúde.

O artigo será submetido na revista *archives of head and neck surgery* cujas normas estão no anexo 5.1

3 ARTIGO CIENTÍFICO



PROFILE OF THE PATIENT WITH CANCER OF THE ORAL CAVITY AND OROPHARYNX A FROM THE EXPRESSION OF THE PROTEIN P16

Ana Claudia de Alcântara Amaro¹ André Roberto Mozzini² Daniela Augustin Silveira³

RESUMO

Introdução: Os cânceres de cabeça e pescoço estão entre os mais frequentes no mundo, sendo que 80% dos casos são carcinomas de cavidade oral e de orofaringe. Dentre os fatores evidentes na etiopatologia encontram-se o consumo de tabaco e de álcool. Todavia, em 20% dos casos, esses fatores não estão presentes. Os vírus HPV de alto potencial oncogênico tem se destacado nesses casos, podendo ser detectado através do método imunoistoquímico em tecido tumoral. **Objetivo:** Verificar os fatores associados com a expressão da proteína p16 em carcinomas de orofaringe e da cavidade oral. **Materiais e Métodos:** Estudo transversal realizado no Hospital São Vicente de Paulo – HSVP, Passo Fundo –RS, no período de Janeiro à Dezembro de 2018. As espécimes cirúrgicas foram obtidas em bloco de parafina, para análise imunoistoquímica da expressão da proteína p16. A amostra foi constituída por 42 pacientes que realizaram procedimento cirúrgico, biópsia ou ressecção do tumor, entre os anos de 2010 e 2016. **Resultados:** Prevalência de homens (72%) com câncer de cavidade oral e orofaringe com uma média de 58 anos. Apenas 16,3% expressaram a proteína p16 enquanto aproximadamente 50% dos pacientes tem ou tiveram contato com o álcool e/ou tabaco. A associação entre os fatores não apresentou relevância estatística. **Conclusão:** O tabagismo e alcoolismo ainda são fatores predominantes envolvidos com as neoplasias de câncer de cavidade oral e orofaringe, quando comparados à infecção pelo HPV.

Palavras-chaves: Papiloma Vírus Humano (HPV). Câncer. Cavidade oral. Orofaringe. p16.

¹Acadêmica de Medicina Universidade Federal da Fronteira Sul, Passo Fundo. Passo Fundo, RS.

²Cirurgião de Cabeça e Pescoço Hospital São Vicente de Paulo (HSVP) e Hospital da Cidade (HC). Passo Fundo, RS.

³Médica Patologista do Hospital São Vicente de Paulo (HSVP). Passo Fundo, RS.

Suporte Financeiro: Próprio.
Conflitos de Interesse: Não há conflitos de interesse declarado na publicação do artigo.

O estudo foi realizado no Hospital São Vicente de Paulo. Passo Fundo, RS, Brasil.

1 INTRODUÇÃO

O câncer de cabeça e pescoço constitui o sexto câncer mais frequente no mundo, sendo que deste 80% é composto por tumores de cavidade oral e orofaringe¹. Histologicamente, 90% desses casos são caracterizados como carcinoma de células escamosas¹.

Estudos recentes apresentam um decréscimo dos tumores de cavidade oral e em contrapartida uma ascensão das neoplasias em orofaringe². Estas acometem mais a tonsila palatina³ e são frequentemente associados à positividade do HPV⁴ enquanto àqueles acometem anatomicamente mais a língua⁵ e estão seguidamente relacionados ao consumo de álcool e de tabaco⁴. Autores consideram, portanto, essa alteração no crescimento dos casos ao aumento das campanhas de prevenção contra o consumo desses produtos e ao comportamento sexual associado à exposição ao HPV¹.

A compreensão do ciclo celular é importante para identificação da ação dos agentes carcinogênicos. O ciclo celular depende de enzimas atuantes em suas diferentes fases de ocorrência, dentre elas as enzimas quinases. Ao ligar-se às proteínas as CDKs formam um complexo que é responsável por fosforilar a proteína retinoblastoma (RB)². A proteína RB tem função de controle no ciclo celular, através da inibição da proteína p16 e do controle à iniciação do ciclo⁷. A proteína RB na sua forma inativa liga ao fator de transcrição E2F¹⁰ e ao fixá-lo apresenta um efeito antiproliferativo do ciclo celular. Todavia, quando o complexo das CDK é ativado, a pRB libera a E2F e induz a transcrição DNA, iniciando a mitose⁷.

As oncoproteínas E6 e E7 do vírus HPV atuam sobre o ciclo celular do hospedeiro⁶. O primeiro age sobre a p53, cuja função é suprimir a célula através de apoptose celular em casos de defeito do DNA durante a checagem celular⁷, enquanto o segundo (E7) se fixa sobre a pRB, impedindo sua ação. Portanto, ao bloquear esse controlador do ciclo essa oncoproteína libera fator de transcrição (E2F) de maneira desenfreada, permitindo a proliferação celular que é

característica da neoplasia⁸. Dessa forma, sem a proteína RB perde-se tanto o controle da divisão celular quanto a sua função de inibir p16. Sendo assim, na presença das oncoproteínas há uma superexpressão da p16 e por isso ela é considerada um biomarcador importante para identificar a infecção pelo vírus HPV⁴. Para detectar a proteína p16 pode se usar o método imunistoquímico⁴.

Compostos do tabaco como nitrosaminas e hidrocarbonetos acarretam em mutação do gene p53⁹. O álcool, por sua vez tem ação indireta ou direta na patogênese. Se indireta, age através da lesão em mucosa que permite a exposição de outros agentes cancerígenos, como o tabaco. Se ação direta, gera mutações em DNA através da geração de metabólicos¹⁵. Dessa forma, verifica-se diferença na carcinogênese de acordo com o fator de exposição. Em grupo HPV negativo (associados ao alcoolismo e tabagismo), tendem, portando a apresentar mutação em p53 e, segundo a literatura, reduzir a expressão da p16²⁰. Em contrapartida, no grupo com expressão da proteína p16 (infectados pelo HPV), a p53 pode estar normal, há uma superexpressão da p16 e conseqüentemente redução da pRB. Isso configura, portanto, dois grupos distintos².

No geral, ainda o tabagismo e o etilismo são os principais fatores de risco para câncer de cabeça e pescoço, todavia, até 20% dos casos podem não apresentar tais fatores⁸, indicando um alerta para possível infecção pelo HPV. Para avaliar essas evidências, o estudo objetiva verificar os fatores associados com a expressão positiva da proteína p16, avaliando o perfil do paciente com câncer de cavidade oral e orofaringe. Ao identificar a clínica do paciente, define-se melhor o diagnóstico, conduta e prognóstico. Além de focar na prevenção através de campanhas e orientação em serviços de saúde.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Estudo transversal realizado no Hospital São Vicente de Paulo – HSVP de Janeiro à Dezembro de 2018. A amostra inicial foi constituída de 49 casos obtidos através da data de diagnóstico do exame anátomo-patológico de neoplasias em cavidade oral e orofaringe. As espécimes cirúrgicas, obtidas em bloco de parafina para posterior análise de imunoistoquímica, são referentes à pacientes que realizaram procedimento cirúrgico no HSVP entre os anos de 2010 a 2016. Foram excluídos da amostra o não preenchimento ou preenchimento inadequado em prontuário, não ser histologicamente carcinoma de células escamosas, faltar adequabilidade do material e não ter sido realizada a análise do exame anátomo-patológico no laboratório de patologia do HSVP.

Dos 49 casos, alguns foram perdidos por descrição do CID ser incompatível com laudo patológico, blocos terem sido retirados do arquivo e espécimes apresentarem tumor de outro tipo histológico que não o carcinoma de células escamosas. A amostra resultou, portanto, em 42 casos em 43 blocos de parafina devido a um caso apresentar tumores sincrônicos em orofaringe.

O estudo obteve a aprovação do comitê de ética em pesquisa (CEP) da Universidade Federal da Fronteira Sul.

2.1 Método Imunoistoquímico

Os passos para a realização da imunoistoquímica incluem:

- Fixação dos cortes em lâminas de vidro silanizadas através de secções histológicas a partir do bloco de parafina;
- Recuperação antigênica realizada em instrumento Dako, PT link, compreendendo a desparafinização, re-hidratação e recuperação antigênica com FLEX Dako de alto pH;
- Incubação com Anticorpos primários por 20 minutos em temperatura ambiente. Anticorpo usado p16^{INK4A} e clone IHCO16.

- Amplificação realizada em sistema EnVision FLEX (Dako), com anticorpos secundário e revelados com o sistema cromogênico DAB+líquido Flex (Dako) e contra coloração com Hematoxilina.
- Controles positivos de p16 reativo em câncer de colo de útero NIC3 atestam a fidelidade das reações;

A leitura das lâminas foi realizada por dois observadores através da estratégia epidemiológica de mascaramento a fim de evitar viés de aferição (duplo cego). Dentre os critérios de positividade dos tumores analisados estão a contagem de 500 células em 5 campos no aumento de 400x em microscópio óptico da marca Olympus, considerando-se positivos os casos com coloração celular (nuclear e citoplasmática) marrom como representado nas Figura1. Para análise qualitativa dos casos, a p16 será considerada positiva nos casos com 70% de reatividade com intensa coloração.

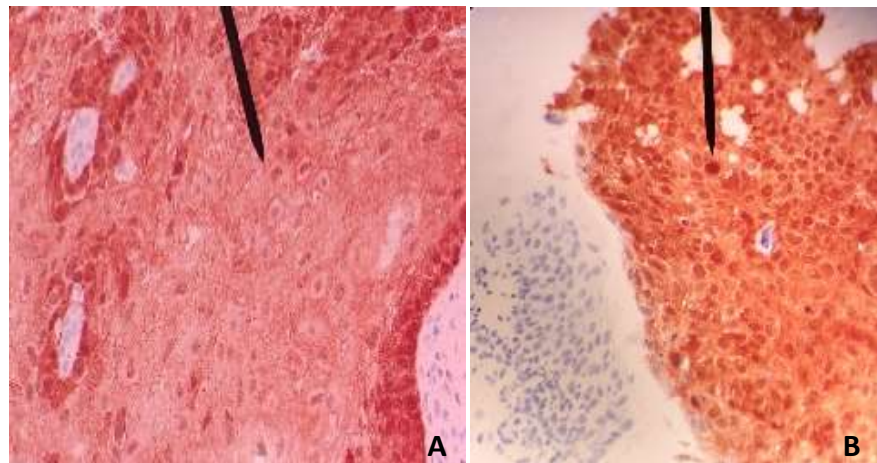


Figura1: Microfotografia mostrando reação imunoistoquímica positiva para a proteína p16 com coloração nuclear e citoplasmática marrom intensa em corte de carcinoma de células escamosas de boca e de orofaringe. Aumento de 400x em A e B.

2.2 Análise Estatística

O estudo transversal de análise descritiva teve banco de dados organizado em planilha eletrônica (Excel) e análise em versão do PSPP.

A análise de associação entre as variáveis independentes (sexo, idade, tabagismo, etilismo, local do tumor primário, óbito, tempo de evolução para óbito, origem do encaminhamento e estadiamento) com a variável dependente (superexpressão da proteína p16) foi verificada por meio do teste Qui-Quadrado empregado se nível de significância de 5%.

3 RESULTADOS

Dos casos analisados, o sexo mais frequente encontrado foi o masculino (72%). A idade média encontrada foi de 58 anos, com desvio padrão de 13,1, sendo a idade mínima de 19 anos e a idade máxima de 88 anos.

O local mais acometido foi a língua (48,8%), mais especificamente neoplasias de borda lateral anterior (20%), seguido de região de palato (29,9%). Resultados demonstrado em Figura 2, em que o gráfico apresenta locais frequentes em relação à quantidade de pacientes acometidos.

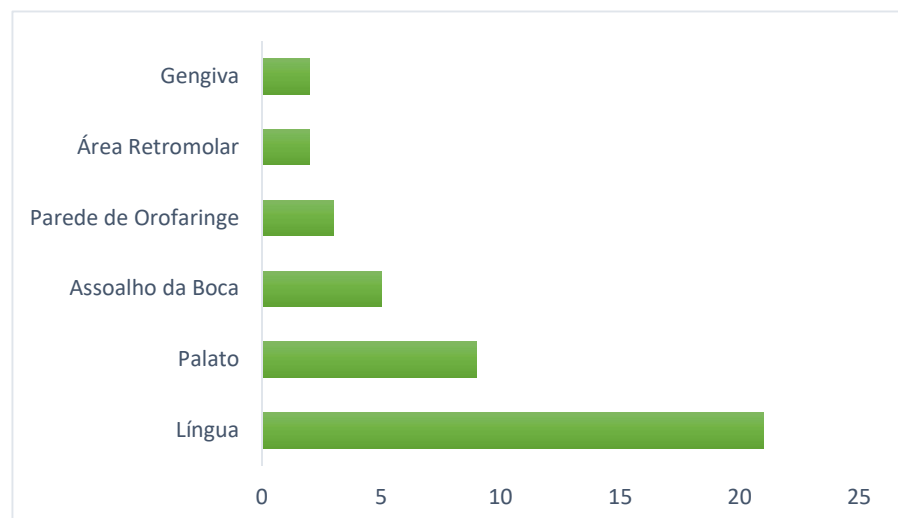


Figura 2. Sítio Primário de tumores em pacientes com câncer de cavidade oral e orofaringe (n=43).

Quanto aos fatores de risco, 16,3% das amostras obtidas apresentaram superexpressão da proteína p16 em teste imunohistoquímico, enquanto o consumo de álcool e tabaco se destacam. Destes, 46,5% ainda consomem álcool e 67,4% ainda são tabagistas. No geral, 70% dos pacientes foram ou ainda são fumantes enquanto 65% consumiram ou ainda consomem álcool (gráfico representado na Figura3)

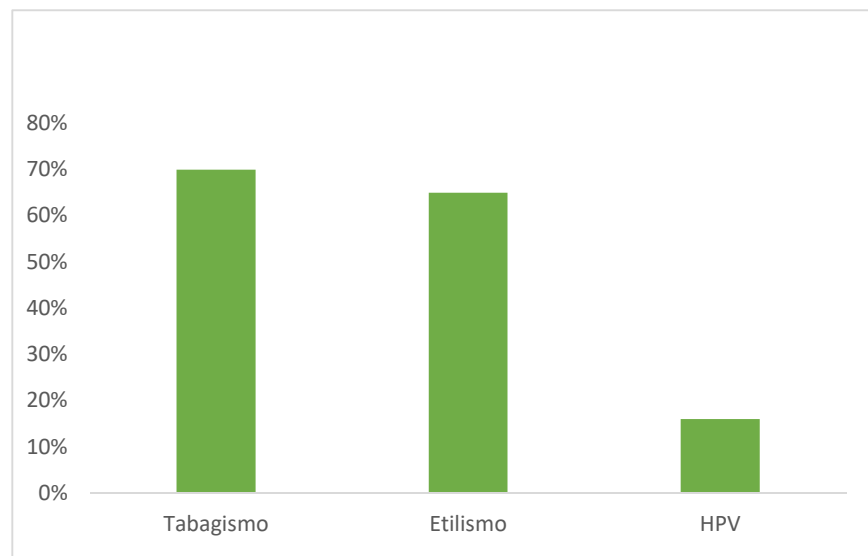


Figura 3. Fatores associados ao Câncer de Cavidade Oral e Orofaringe (n=42). Brasil, 2018.

O óbito por câncer esteve presente em 41,9%, porém em 6,9% não apresentavam informação em registro hospitalar. Dos óbitos, 52,4% evoluíram à óbito após 12 meses e 29,4% em menos de 6 meses.

Em relação à origem do atendimento, 53,5% foram atendidos por convênios ou particular, quanto os demais faziam parte do Sistema Único de Saúde (SUS).

Os estádios mais frequentes foram o E1 em 37.1% e E4 em 40%.

Quando comparado o fator dependente (expressão da p16) associada ao fatores independentes (sexo, idade, histórico de tabagismo, histórico de consumo de bebida alcoólica, local de tumor primário, óbito por câncer, tempo de evolução para óbito, origem do

encaminhamento e estadiamento) pelo teste qui-quadrado, o valor de $p > 0,005$, não tendo, portanto, relevância estatística (Tabela1).

Tabela 1: Prevalência de fatores associados à expressão da p16 em neoplasias de cavidade oral e orofaringe através de exame imunoistoquímico avaliado em laboratório de patologia HSVP. Passo Fundo, RS, 2018 (n=43)

Variáveis	p16+		p16-		p*
	n	%	n	%	
Sexo					0,43
Masculino	6	85,7	25	71,4	
Feminino	1	14,3	10	28,6	
Idade (anos completos)					0,27
15-34	0	0	2	5,7	
35-54	4	57,1	8	22,9	
55-74	2	28,6	21	60	
≥ 75	1	14,3	4	11,4	
Histórico de Tabagismo					0,70
Nunca	2	28,6	8	22,8	
Ex- consumidor	0	0	3	8,6	
Tabagista	5	71,4	24	68,6	
Histórico de consumo de bebida alcoólica					0,39
Nunca	3	42,9	10	30,3	
Ex – consumidor	0	0	7	21,2	
Sim	4	57,1	16	48,5	
Local do tumor primário (n=43)					0,16
Cavidade oral	2	28,6	21	58,3	
Orofaringe	5	71,4	15	41,7	
Óbito por Câncer					0,49
Sim	2	33,3	16	48,5	
Não	4	66,7	17	51,5	
Tempo de evolução para óbito					0,26
<6 meses	2	66,7	3	21,4	
6 meses -12 meses	0	0	3	21,4	
>12 meses	1	33,3	8	57,2	
Origem do Encaminhamento					0,89
SUS	3	42,9	16	45,7	
Não SUS	4	57,1	19	54,3	
Estadiamento					0,92
1	2	33,3	11	37,9	
2	0	0	3	10,4	
3	1	16,7	4	13,8	
4	3	50,0	11	37,9	

*Teste do Qui-Quadrado

5 DISCUSSÃO

Neste estudo foi avaliada a positividade da proteína p16 para identificação do vírus HPV, sendo considerada um importante biomarcador para detecção em diversos tecidos. Por isso, pesquisas tem usado deste meio para relacionar a infecção como agente etiológico associado à neoplasias, tanto em cavidade oral e orofaringe quanto em colo uterino^{6,10,11}.

O trabalho evidencia que neoplasias de cavidade oral e orofaringe têm um predomínio masculino em comparação ao feminino. Esse resultado foi coerente com outros relatos, os quais apresentam acometimento frequente em homens em aproximadamente 78% dos casos^{1,12}, sendo que a faixa etária no geral se apresenta acima dos 50 anos^{1,6,13}. Nestes, quando classificados em grupos, os pacientes com HPV positivos tendem a ser mais jovens e com acometimento mais frequente em orofaringe¹², por outro lado em cavidade oral o padrão pode ser bimodal em relação à idade nesse grupo¹⁴.

No estudo, mais de 70% dos pacientes foram ou ainda são fumantes enquanto 65% consumiram ou ainda consomem álcool. Esses dados também são compatíveis com estatísticas evidenciadas na literatura, as quais variam entre 70% a 90% a taxa de consumo atual ou anterior ao fumo e/ou álcool^{1,15}.

Em relação a detecção do HPV positivo, esses dados são variáveis em outras pesquisas, variando desde 18 % a 60% aproximadamente^{1,15,16,17,18}. Neste estudo, porém, encontrou-se a positividade em 16,3%, sendo um valor próximo as taxas de infecção por HPV registradas no Brasil. Segundo, em um revisão sistemática brasileira sobre a prevalência de infecção oral e orofaríngea encontrou um valor de 27,4% de infecção por HPV¹⁸ enquanto nos EUA a infecção por HPV oral alcança valoresde até 7,5%¹⁸.

Quando avaliados por grupos, outras pesquisas mostram que pacientes com HPV positivo, principalmente em orofaringe, apresentam tumores em estádios iniciais (1 e 2) com comprometimento linfonodal (N2 e N3) e em contrapartida com menos linfócitos infiltrantes². Porém, essa diferença entre os estádios não foi significativa neste estudo, uma vez que estádios iniciais (E1) e avançados (E4) apresentaram-se frequentes em ambos os grupos.

Outro estudo, Moyses (2011) avaliou tabagistas e etilistas (TE) comparados com não etilistas e não tabagistas (NTNE), concluindo que o primeiro grupo desenvolve mais metástases ganglionares e invasão sanguínea e seus estádios clínicos são avançados, sendo o estágio IV o mais frequente. Além de menores invasões e estádios, o carcinoma em NTNE tendem a ser mais bem diferenciados. Pelo formato do estudo não se considerou essa evidência, apesar de na literatura estar descrita uma maior associação entre tabagistas e etilistas com o grupo HPV negativo, os fatores de risco apresentados neste estudo se sobrepuseram e portanto não se conseguiu alcançar tal informação.

Na literatura, as células que apresentam níveis de p16 elevadas, são mais reativas à apoptose celular e portanto apresentam melhor resposta clínica aos tratamentos sem tendência de desenvolver recidivas⁸. Todavia, apesar da positividade para HPV, se o paciente for tabagista pesado a progressão independe desse fator e assim a doença acaba sendo grave tanto quanto nos grupos com HPV negativo². Como parte dos pacientes atendidos fazem seguimento e tratamento em suas cidades de origem não foi obtido com clareza as informações quanto a responsividade ao tratamentos clínicos e cirúrgicos.

Os preditores prognósticos nesses casos de câncer em cavidade oral e orofaringe levam em consideração, a idade e o estadiamento, enquanto marcadores como p16 e p53 permitem avaliar a progressão da doença². Apesar dos trabalhos apresentarem melhor prognóstico para pacientes com HPV positivo¹⁹, a pesquisa em questão não apresentou

significância quanto ao estadiamento assim como a expressão da proteína p16 não alterou a evolução de tempo ao óbito.

6 CONCLUSÕES

O estudo determinou o perfil do paciente com câncer de cavidade oral e orofaringe diagnosticado em hospital terciário. Os fatores envolvidos como tabaco, álcool, assim como idade de diagnóstico foram compatíveis com pesquisas atuais que abordam o tema. Inclusive, estes fatores prevaleceram em relação à infecção pelo HPV. Porém aspectos importantes para definir a correlação entre expressão da proteína p16 com os demais fatores não apresentaram significância estatística. A amostra estreita pode ter comprometido tal análise. O seguimento e expansão desta pesquisa no futuro pode alcançar esses achados, ajudando a esclarecer essa questão.

AGRADECIMENTOS

Agradecimento especial ao Hospital São Vicente de Paulo por permitir o uso de dados para realização dessa pesquisa. Agradecimento à Universidade Federal da Fronteira Sul e aos professores Ivana Loraine Lindemann e ao Gustavo Olzanski Acrani.

7. REFERÊNCIAS

- 1 Petito G et al. Human papillomavirus in oral cavity and oropharynx carcinomas in the central region of Brazil. *Brazilian Journal Of Otorhinolaryngology*, jan. 2016. v. 83 (1): 38-44.
- 2 Haddad R I. Human papillomavirus associated head and neck câncer. *UpToDate*. Jun. 2017.
- 3 Marta G N. Aspectos gerais do câncer de orofaringe. *Rev. Fac. Ciênc. Méd. Sorocaba*, 2013; 15 (3): 49 – 52.
- 4 Spence T et al. HPV Associated Head and Neck Cancer. *Cancers*. E agos; 8 (8):75-87, 5 ago, 2016.
- 5 Oliveira L R, et al. Incidence and survival profile of patients of patients with oral squamous cell carcinoma in a Brazilian population. *J Bras Patol Med Lab*. 2006
- 6 Britto N M. S et al. O papel de p16 e Ki 67 em carcinomas de células escamosas de cavidade oral e orofaringe. *Rev. Bras. Cir. Cabeça Pescoço*. Dez 2014, 43 (4): 200-205.
- 7 Robbins S L. et al. *Patologia: bases patológicas das doenças*. 9. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.
- 8 Mannarini L et al. Human Papilloma Virus (HPV) in head and neck region: review of literature. *Acta otorhinolaryngologica italica*. 2009;29:119-126.
- 9 Snow a. N J. Human papillomavirus detection in head and neck squamous cells carcinomas. *Adv Anat Pathol*, 2010. 17 (6): 394-403.
- 10 Behar M M, et al. A expressão da proteína p16 e herpes simples vírus tipo 2 em lesões pré-neoplásicas e neoplásicas do colo do útero. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet*, 2008; 30(2): 61-66.
- 11 Abreu P M. HPV e expressão de p16 como biomarcadores de prognóstico em carcinoma de células escamosas da cavidade bucal.

Vitória. Tese (Dissertação de pós graduação em Biotecnologia) – Universidade Federal Do Espírito Santo. 2015.

12 Gillison M, et al. Distinct Risk Factor Profiles for Human Papillomavirus Type 16-Negative Head and Neck Cancers. *Journal of the National Cancer Institute*. Mar.2008; 100(6): 407-420.

13 Vietia et al. Human papillomavirus detection in head and neck squamous cell carcinoma. *E Cancer Medical Science*. 2014; 8: 475

14 Gillison M L, Broutian T. Prevalence of oral HPV infection in the United States. *JAMA*. 307(7):693. Epub Jan 2012.

15 Moyses R A. Análise Clínica e Molecular de pacientes não tabagistas e não etilistas com carcinoma epidermóide de cabeça e pescoço. Tese (Doutorado em Ciência)- Faculdade de Medicina de São Paulo. São Paulo, 2011.

16 D'Souza et al. Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer. *N Engl J Med*. May 2007; 356 (19): 1944-56.

17 Vietia et al. Human papillomavirus detection in head and neck squamous cell carcinoma. *E Cancer Medical Science*. 2014; 8: 475

18 De Matos LL, Miranda GA, Cernea CR. Prevalence of oral and oropharyngeal human papillomavirus infection in Brazilian population studies: a systematic review. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2015;81:554-67.

19 Yer N G, et al. Detailed Analysis of Clinicopatjologic factors Demonstrate Distinct Difference in Outcome and Prognostic Factor betwen Surgically reated HPV-Positive and Negative Oropharyngeal Cancer. *Ann Surg Oncol*. 2015 Dec;22(13):4411-2

20 Chu A, et al. A . APatient-Centered Approach to Counseling patients With Head and Neck Cancer undergoing Human Papilloma virus Testing: A Clinician's Guide. *The Oncologist*, 2013, 18(2): 180-189.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A literatura evidencia amplos estudos que relacionam o HPV, detectado através da expressão proteína p16, como fator envolvido na etiologia de câncer de orofaringe e cavidade oral. Quando a infecção é relacionada à outras variáveis tende a demonstrar diferença clínica e prognóstica em comparação ao alcoolismo e tabagismo.

A positividade da expressão da proteína p16 apresentou-se baixa no estudo (16,3%), enquanto à exposição ao álcool e ao tabaco resultaram em valores expressivos, 70% e 65%, respectivamente. A amostra estreita pode ter contribuído para a não relevância estatísticas dos dados.

A continuidade da pesquisa com expansão do número de casos pode esclarecer essas diferenças, assim como outros estudos que abordam essa temática. O contraste entre os grupos de acordo com os fatores pode ser determinante da conduta clínica e no prognóstico da doença. Assim como auxilia no enfoque preventivo tanto da infecção quanto do consumo de álcool e tabaco, os quais já recebem ações preventivas há anos em comparação à infecção pelo HPV. Porém as estatísticas revelam aumento dos casos relacionados a essa infecção. Tamanha importância, houve modificação no 8ª ed. do TNM contemplando grupos com a proteína p16 positiva e negativa. Por essa e por outras evidências, é de extrema importância prosseguir com os estudos a cerca deste assunto.

5 ANEXOS

5.1 Normas da Revista Científica Archives of Head and Neck Surgery

The journal adopts the Standard Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals under the agreement of the International Committee of Medical Journal Editors.

Manuscript size: Submissions should contain a title page, abstract in English of 200 to 250 words and a maximum of 20 typed pages (double-spaced, not including the title page abstract).

A maximum of 30 references and a total of 15 figures and/or tables are allowed.

Preparation of the manuscript

The journal adopts the recommendations of the **International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE)**, as laid out on the ICMJE website: www.icmje.org.

Studies will be accepted in Portuguese, Spanish or English. After acceptance for publication, the articles will be translated into English by the Journal, since this is its official language.

Abbreviations, if necessary, must be written out in full the first time they appear in the text, with the term being followed immediately by the abbreviation in parentheses.

Title page. The title page must contain: (1) the title in English, which should be concise and adequately represent the research content; (2) full names of all the authors, with their highest academic titles and institutional affiliations; (3) institution(s) where the article was developed; (4) name, full address, telephone/fax numbers and electronic address (e-mail) of the corresponding author; this author will receive all correspondence relating to the manuscript, as well as the article proof; (5) congress or meeting at which the study was presented, when applicable; and (6) funding, assistance received and conflict of interest, if applicable.

Abstract. Original articles must have an abstract in English, which should consist of 200 to 250 words. It should appear on a separate page, as a single paragraph and have the following structure: Introduction; Objective; Materials and Methods; Results; and Conclusion. Three to five key words in English following the abstract should be presented, as standardized in the Medical Subject Headings of the Index Medicus (MeSH).

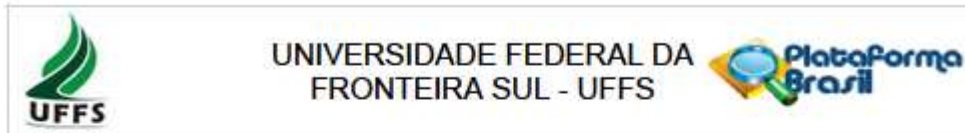
Text. The text must be clear and concise. Original articles should be divided into: Introduction; Materials and methods; Results; Discussion; and Conclusion. Generic names for drugs and equipment are to be used whenever possible; the proprietary names have to be cited after the first mention. Equipment must be identified by the name and the place of manufacture.

Ethical matters. All articles must clearly state that approval was obtained from the Institutional Review Board at the place where the study was conducted or its equivalent.

Acknowledgements (if applicable). Statisticians or any other individuals who contributed to the study but who were not co-authors should be mentioned, indicating names, academic titles and institutional affiliations.

References. The authors are responsible for the accuracy and formatting of the references. The reference list should start on a separate page, just after the Acknowledgements (or Conclusions). References are identified in the text, tables and legends using Arabic numerals placed on the same line of the sentence, in superscript form. The references should be numbered consecutively in the order in which they are cited for the first time in the text, regardless of alphabetical or chronological order. The Vancouver style format should be adopted and all authors mentioned. Cite unpublished data, personal communications and manuscripts submitted (but still not accepted), as footnotes in the text.

5.1 Comprovante da Submissão com Comitê de Ética em Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Câncer de Cavidade Oral e Orofaringe: Fatores de Risco e expressão da proteína P16

Pesquisador: Daniela Augustin Silveira

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 84787818.7.0000.5564

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL - UFFS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.673.402

Apresentação do Projeto:

Já apresentado no parecer nº 2.658.209

Objetivo da Pesquisa:

Já apresentado no parecer nº 2.658.209

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Já apresentado no parecer nº 2.658.209

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisadora atendeu a pendência indicada pelo CEP e descreveu a forma de devolutiva dos resultados da pesquisa à instituição na qual os dados serão coletados.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Já apresentado no parecer nº 2.658.209

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há impedimentos éticos ao desenvolvimento do estudo.

Considerações Finais a critério do CEP:

Prezado (a) Pesquisador(a)

A partir desse momento o CEP passa a ser corresponsável, em termos éticos, do seu projeto de

Endereço: Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar
 Bairro: Área Rural CEP: 89.815-899
 UF: SC Município: CHAPECO
 Telefone: (49)2049-3745 E-mail: cep.uffs@uffs.edu.br

5.2 Parecer da Aprovação do protocolo pelo Comitê de Ética em Pesquisa

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Câncer de Cavidade Oral e Orofaringe: Fatores de Risco e expressão da proteína P16

Pesquisador: Daniela Augustin Silveira

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 84787818.7.0000.5564

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL - UFFS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.673.402

Apresentação do Projeto:

Já apresentado no parecer nº 2.658.209

Objetivo da Pesquisa:

Já apresentado no parecer nº 2.658.209

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Já apresentado no parecer nº 2.658.209

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisadora atendeu a pendência indicada pelo CEP e descreveu a forma de devolutiva dos resultados da pesquisa à instituição na qual os dados serão coletados.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Já apresentado no parecer nº 2.658.209

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há impedimentos éticos ao desenvolvimento do estudo.

Considerações Finais a critério do CEP:

Prezado (a) Pesquisador(a)

A partir desse momento o CEP passa a ser corresponsável, em termos éticos, do seu projeto de

Continuação do Parecer: 2.673.402

pesquisa – vide artigo X.3.9. da Resolução 466 de 12/12/2012.

Fique atento(a) para as suas obrigações junto a este CEP ao longo da realização da sua pesquisa. Tenha em mente a Resolução CNS 466 de 12/12/2012, a Norma Operacional CNS 001/2013 e o Capítulo III da Resolução CNS 251/1997. A página do CEP/UFFS apresenta alguns pontos no documento “Deveres do Pesquisador”.

Lembre-se que:

1. No prazo máximo de 6 meses, a contar da emissão deste parecer consubstanciado, deverá ser enviado um relatório parcial a este CEP (via NOTIFICAÇÃO, na Plataforma Brasil) referindo em que fase do projeto a pesquisa se encontra. Veja modelo na página do CEP/UFFS. Um novo relatório parcial deverá ser enviado a cada 6 meses, até que seja enviado o relatório final.
2. Qualquer alteração que ocorra no decorrer da execução do seu projeto e que não tenha sido prevista deve ser imediatamente comunicada ao CEP por meio de EMENDA, na Plataforma Brasil. O não cumprimento desta determinação acarretará na suspensão ética do seu projeto.
3. Ao final da pesquisa deverá ser encaminhado o relatório final por meio de NOTIFICAÇÃO, na Plataforma Brasil. Deverá ser anexado comprovação de publicização dos resultados. Veja modelo na página do CEP/UFFS.

Em caso de dúvida:

Contate o CEP/UFFS: (49) 2049-3745 (8:00 às 12:00 e 14:00 às 17:00) ou cep.uffs@uffs.edu.br;

Contate a Plataforma Brasil pelo telefone 136, opção 8 e opção 9, solicitando ao atendente suporte Plataforma Brasil das 08h às 20h, de segunda a sexta;

Contate a “central de suporte” da Plataforma Brasil, clicando no ícone no canto superior direito da página eletrônica da Plataforma Brasil. O atendimento é online.

Boa pesquisa!

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1088219.pdf	18/05/2018 10:37:48		Aceito
Outros	carta_resposta_parecer2.doc	18/05/2018 10:37:01	Daniela Augustin Silveira	Aceito

Continuação do Parecer: 2.673.402

Outros	carta_resposta_cep.doc	10/04/2018 21:25:01	Daniela Augustin Silveira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tcle.pdf	08/04/2018 20:02:14	Daniela Augustin Silveira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	CRONOGRAMA.pdf	08/04/2018 19:57:41	Daniela Augustin Silveira	Aceito
Folha de Rosto	20180405_191606.pdf	08/04/2018 19:54:37	Daniela Augustin Silveira	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	TCCAC.pdf	07/03/2018 16:44:23	Daniela Augustin Silveira	Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	RECURSOS.pdf	07/03/2018 16:43:26	Daniela Augustin Silveira	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	parecer.pdf	07/03/2018 16:41:13	Daniela Augustin Silveira	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CHAPECO, 24 de Maio de 2018

Assinado por:
Valéria Silvana Faganello Madureira
(Coordenador)

5.3 Termo de ciência do volume final do TCC

TERMO DE CIÊNCIA DO VOLUME FINAL DO TCC

Eu, professor(a) _____, declaro ter conferido as correções realizadas no artigo científico, conforme sugestão da Comissão Examinadora. Declaro também que estou ciente do conteúdo que compõe o volume final do TCC do Acadêmico _____.

Por ser verdade, firmo o presente documento.

Passo Fundo, _____ de _____ de _____.

Assinatura do(a) Orientador(a)