

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU

VINÍCIUS PANCIERA TAGLIAVINI

**A significância prognóstica de macrófagos associados ao  
tumor em câncer de cabeça e pescoço: uma revisão  
sistemática**

BAURU  
2022

VINÍCIUS PANCIERA TAGLIAVINI

**A significância prognóstica de macrófagos associados ao tumor em câncer de cabeça e pescoço: uma revisão sistemática**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências no Programa de Ciências Odontológicas Aplicadas, área de concentração Biologia Oral.

Orientador: Prof. Dr. Camila de Oliveira Rodini Pegoraro

BAURU  
2022

Tagliavini, Vinícius Panciera

A significância prognóstica de macrófagos associados ao tumor em câncer de cabeça e pescoço: uma revisão sistemática. / Vinícius Panciera Tagliavini. -- Bauru, 2022.

66 p. : il. ; 31 cm.

Tese (Doutorado) -- Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, 2022.

Orientador: Prof. Dr. Camila de Oliveira Rodini Pegoraro.

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação/tese, por processos fotocopiadores e outros meios eletrônicos.

## ERRATA

Universidade de São Paulo  
Faculdade de Odontologia de Bauru  
Assistência Técnica Acadêmica  
Serviço de Pós-Graduação



## FOLHA DE APROVAÇÃO


Tese apresentada e defendida por  
**VINÍCIUS PANCIERA TAGLIAVINI**  
e aprovada pela Comissão Julgadora  
em 19 de agosto de 2022.





Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> **MARIA FERNANDA SETÚBAL DESTRO RODRIGUES**  
UNINOVE



Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> **FLÁVIA CALÓ DE AQUINO XAVIER**  
UFBA

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> **SÍLVIA HELENA DE CARVALHO SALES PERES**  
FOB - USP

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> **CAMILA DE OLIVEIRA RODINI PEGORARO**  
Presidente da Banca  
FOB - USP

  
**Prof. Dr. Marco Antonio Hungaro Duarte**  
Presidente da Comissão de Pós-Graduação  
FOB-USP

 Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 | Bauru-SP | CEP 17012-901 | C.P. 73  
 <https://posgraduacao.fob.usp.br>  
 14 | 3235-8223 / 3226-6097 / 3226-6096  
 [posgrad@fob.usp.br](mailto:posgrad@fob.usp.br)

 [posgraduacaofobusp](https://www.facebook.com/posgraduacaofobusp)  
 [@posgradfobusp](https://www.instagram.com/posgradfobusp)  
 [fobuspoficial](https://www.youtube.com/fobuspoficial)  
 [@Fobpos](https://twitter.com/Fobpos)

## DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho para minha querida tia Maria Amélia (Meméia), falecida em 2016 devido a essa doença traiçoeira. Talvez a pessoa mais animada, companheira e positiva que eu conheci. A pessoa que me ensinou a rir, mesmo que de si mesmo, que me ensinou que a alegria e fé no futuro são mais importantes do que os momentos contrários. Uma mulher que sofreu, que recebeu a pior notícia do mundo e me disse que pelo menos receberia mais a minha visita (eu já estava morando em Bauru, um pouco longe de onde ela morava). Nunca me esquecerei dos dias que pude desfrutar da presença dela, das tantas histórias/problemas que causamos juntos, das noites no bate-papo online inventando personagens, das músicas que inventávamos juntos... Eu não entendia as dores que ela estava vivendo, mas sempre vou agradecer por ela nos fazer rir e principalmente sou feliz por ter feito ela sorrir. Nunca me esquecerei do tanto que ela me fez feliz e era otimista, mas infelizmente nunca me esquecerei de quando a vi pela última vez com vida, naquele quarto triste, infelizmente não consigo me esquecer disso...

Tentei colaborar de alguma com o conhecimento e tratamento (quem sabe, né) dessa doença, como uma forma de honrar a sua memória, minha tia.... Espero que isso tudo tenha sido suficiente, que venha a ser uma ferramenta para alguma inovação e esperança para tantas outras famílias. Sempre irei te amar.

Também dedico a meus pais Theodora e Luiz, responsáveis por tudo que eu possa produzir e ser. O lar, amor, carinho, compreensão e ensinamento que eles me proporcionaram foi maior do que qualquer filho possa merecer. Amo os dois da maior forma possível.

E finalmente, mas não menos importante, dedico a mulher da minha vida, minha companheira, minha líder de torcida, minha esposa, minha eterna namorada e principalmente a responsável por me fazer chegar até aqui, Kelly Inácio. É a primeira pessoa que eu vejo todo santo dia e a única que eu não consigo imaginar passar um dia sem ver. Minha companheira de loucuras, de momentos surtados, de noites fazendo nada, apenas um do lado do outro ouvindo música, jogando ou assistindo série... “Agradeço a Deus por tudo que fiz e não fiz, pois tudo isso me trouxe até a você”, “This–Darius Rucker”, nossa música, primeira que te mandei quando tive certeza que te amava! Obrigado por ser minha salvadora e por acreditar em mim! Te amo!

## AGRADECIMENTOS

Quero fazer um agradecimento especial a minha família e amigos, todos foram essenciais para que eu tivesse condições de chegar aqui.

Quero começar agradecendo meu PAldrasto Antônio “Niquinho”, ele me recebeu como um filho e espero que ele saiba que eu o recebi como um pai. Está ao meu lado por mais de 20 anos, pouco tempo para admirar um homem tão amoroso e devoto a todos ao seu redor. Sempre te levarei comigo. Te amo!

À minha tia Ruth, juntamente a minha tia Meméia, responsável por tantos momentos de alegria. Nunca vou me esquecer de todas as vezes que a tia abriu a porta da casa pra que eu não ficasse sozinho ou do bolinho de fubá com erva-doce!!! A tia pode não saber, mas esse bolo é o meu favorito, provavelmente por me lembrar de todas as coisas boas que vivemos juntos!

Ao tio João e tia Cristina, agora meus padrinhos de casamento, por toda referência e inspiração que me fizeram chegar até aqui. Obrigado por me presentear sempre com livros, me fizeram um apaixonado por conhecimento.

Um agradecimento especial ao meu irmão Rodrigo. Eu acredito que quando os laços entre duas pessoas são verdadeiros elas vão se encontrar, não importa a situação. Você é o primo que me irrita e o irmão que me defende, quem me faz pensar sobre a vida e quem eu quero pra sempre ao meu lado. Única parte boa dessa pandemia foi conseguir conversar com você praticamente todo dia. Te amo, meu primo!

Aos meus falecidos avós Deolinda e Oswaldo, Santa e José, responsáveis por toda estrutura familiar que foram o alicerce para realizar essa conquista. Com vocês aprendi o significado de família, uma mesa farta todo domingo para sentarmos e rir, sabendo que todos ali eram amados do fundo do coração. Vocês estarão para sempre nele.

A minha nova família, minha sogra Gi, meu sogro Rildo e minha cunhada Karen, dona Maria, seu Lu e Carlinhos. Que sempre me fizeram sentir família, querido e amado, que sempre me receberam na casa deles como se eu fosse filho, com um almocinho pronto e um churrasco preparado. Nunca vou acreditar a sorte que eu tive de conhecer vocês e principalmente de todo carinho que recebo. Não existe palavras para expressar meu agradecimento, apenas que eu irei fazer o meu máximo para ser merecedor de tudo isso.

Aos amigos de USP, Arthur, Jean, Luísa Helena, Marcelli, Matheus e Yen. Sentirei saudade de cada descanso pós almoço na biblioteca conversando sobre qualquer coisa, das noites de jogos na casa de alguém, de inventar de fazer alguma coisa pra comer só pra ficarmos juntos. Vocês foram essenciais durante esses anos, sem amigos como vocês, nada seria possível! Para sempre vou leva-los comigo!

Aos amigos do Discord, único ponto positivo dessa pandemia. Durante esse período terrível eu conseguia entrar e conversar com vocês, jogar alguma coisa, assistir um futebol e basquete. A companhia de todos vocês, mesmo que remota, foi responsável pelos momentos de alegria e alívio no meio de toda desgraça. Muito obrigado a todos, Geninho, Cabral, Derso, Guerra, Nuno e Guilherme.

Ao Saico, grande amigo e parceiro de comentários de futebol!!! Principalmente um muito obrigado pelo apoio “terapêutico”, as conversas sobre esses problemas foram responsáveis pelas forças para buscar ajuda. Muito obrigado também pelas conversas sociais, aprendei muito com você.

Os amigos que fiz no Liliun Educação com que dividimos um sonho de futuro justo e melhor, com ciência e educação em primeiro lugar. Conhecer vocês e o projeto incrível que realizam me deu esperanças, em um momento que estava incrédulo. Gabriel, Larissa, Lucas, Estevão, Wanderson, Pedro e principalmente André e Fernanda por serem os responsáveis pela minha inclusão, muito obrigado!

A minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Camila por toda oportunidade, compreensão, auxílio emocional e profissional. Desde o nosso primeiro contato eu criei um carinho gigantesco pela senhora e tentei fazer por onde respeitá-la e fazer sempre o melhor ao meu alcance. Para sempre serei grato de ter feito parte do seu grupo. Obrigado.

A todos os amigos do grupo de pesquisa e laboratório, Rafael, Rodrigo, Nathália, Talita, Carol, Tânia, dona Divina, prof<sup>o</sup> Gustavo, Prof<sup>o</sup> Gérson e especialmente a Dalva por toda a assistência e prontidão gigantesca que ela sempre me ajudou e também a Teresa, uma grande amiga que sempre esteve presente. Estarei eternamente em débito com vocês.

Agradeço a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa de pesquisa concedida, processo 88887.311328/2018-00, que foi indispensável para que esse projeto acontecesse.

Agradeço também a Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo (FOB/USP) por ter utilizado as dependências da instituição e todos os equipamentos para a realização deste projeto de doutorado.



*“Se você sente dor, você está vivo. Se você sente a dor das outras pessoas, você é um ser humano”.*

***Lev Nikolaevitch Tolstoi***

## RESUMO

O carcinoma epidermóide de cabeça e pescoço (CECP), é a neoplasia mais comum que afeta essa região do corpo humano e se desenvolve a partir do epitélio da mucosa na cavidade oral, laringe e faringe. É amplamente discutida progressão do CECP invasivo; porém, defende-se que ele siga eventos ordenados, iniciando com células epiteliais em diferentes graus de displasia, seguido de carcinoma *in situ* e por fim, carcinoma invasivo. Todos os tipos de CECP são altamente infiltrados por células imunes, porém o agente etiológico e a anatomia influenciam na extensão e na composição do infiltrado dessas células. Os monócitos são células circulantes na corrente sanguínea que apresentam características migratórias para tecidos, onde se diferenciam em macrófagos que são células hematopoiéticas com característica fagocitária. No microambiente tumoral, monócitos circulantes são recrutados perante o sinal de fatores secretados por células tumorais, onde se diferenciam em macrófagos associados ao tumor (MAT) que atuam na progressão tumoral e metástase. Em câncer de cabeça e pescoço, os MATs desempenham papel importante no crescimento, angiogênese e metástase tumoral. Os MATs possuem os fenótipos M1 e M2, e a polarização pode ser avaliada através da expressão de proteínas CD68, CD163, entre outras. Diante disso, foi realizado um estudo com metodologia de revisão sistemática, seguindo os parâmetros do protocolo PRISMA com o objetivo de avaliar a eficiência dos biomarcadores imuno-histoquímicos de macrófagos associados ao tumor, de ambos fenótipos (M1 e M2). Assim foram selecionados 8 artigos de bases de dados relevantes (5 PubMed, 2 Web of Science e 1 MEDLINE) apresentando correlação com efeito de promoção tumoral de câncer de cabeça e pescoço, marcadores com análises de prognóstico ruim, progressão tumoral e baixa sobrevida. Por fim, foi possível constatar após a análise dos artigos que os marcadores de macrófagos com fenótipo M2 (principalmente CD163+) foram fortemente expressos em estromas tumorais relacionando essa ocorrência com prognóstico ruim, pois evidencia que esses macrófagos com características defacilitar a tumorigênese e invasão de células tumorais, bem como com capacidade de promoverem metástase, são componentes celulares primários no estroma tumoral de CECP.

Palavras-chave: CECP, macrófagos, imunohistoquímica, revisão sistemática.

## ABSTRACT

### **The prognostic significance of tumor-associated macrophages in head and neck squamous cell carcinoma: a systematic review**

Head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) is the most common neoplasm that affects this body region and develops from mucosal epithelium in the oral cavity, larynx and pharynx. Progression of invasive HNSCC is widely discuss; however, it is argued that it follows orderly events, starting with epithelial cells in different degrees of dysplasia, followed by carcinoma in situ, and finally, invasive carcinoma. All types of HNSCC are highly infiltrated by immune cells, but the etiologic agent and anatomy influence the extent and composition of the infiltration of these cells. Monocytes are circulating cells in the bloodstream that migrate to tissues, where they differentiate into macrophages, which are hematopoietic cells with phagocytic characteristics. In the tumor microenvironment, circulating monocytes recruited upon the signals of factors secreted by tumor cells, where they differentiation into tumor-associated macrophages (TAM) that act in tumor progression and metastasis occurs. In head and neck cancer, TAMs play an important role in tumor growth, angiogenesis and metastasis. TAMs have M1 and M2 phenotypes, and polarization can be assessed through the expression of CD68, CD163 proteins, among others. Therefore, a study done using a systematic review methodology, following the parameters of the PRISMA protocol, to evaluate the efficiency of immunohistochemical biomarkers of tumor-associated macrophages, of both phenotypes (M1 and M2). Thus, 8 articles from relevant databases (5 PubMed, 2 Web Science and 1 MEDLINE) were selected, showing correlation with the tumor-promoting effects of head and neck cancer, markers with poor prognosis, tumor progression and low survival. Finally, after analyzing the articles, it was possible to verify that macrophages markers with M2 phenotype (mainly CD163+) were strongly expressed in tumor stroma, relating this occurrence to a poor prognosis, as it shows that these macrophages with characteristics facilitate tumorigenesis and cell invasion. Tumor cells, as well as capable of promoting metastasis, are primary cellular components in the tumor stroma of HNSCC.

Keywords: HNSCC, macrophages, immunohistochemistry, systematic review

## **LISTA DE FIGURAS**

Figura 1 - Infográfico representativo dos artigos selecionados, seus 38 números e os critérios de elegibilidade definidos para a seleção.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Tabela com os artigos utilizados, apresentando pontos de interesse como metodologia (clone e macrófagos), resultados (positividade de expressão) e principais conclusões apontadas pelos autores.	44
Tabela 2 –	Tabela apresentando o uso da ferramenta de análise de viés para averiguar a situação de risco de viés.	47

## LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

DCNT	Doenças Crônicas não Transmissíveis
OMS	Organização Mundial da Saúde
IARC	Agência Internacional de Pesquisa em Câncer
INCA	Instituto Nacional do Câncer
CECP	Carcinoma epidermóide de cabeça e pescoço
HPV	Papilomavírus Humano
IL	Interleucina
INF- $\gamma$	Interferon-gama
MAT	Macrófagos associados ao Tumor
TGF- $\beta$	Fator de transformação do crescimento beta
PRISMA	Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses
PROSPERO	International Prospective Register of Systematic Reviews
BVS	Biblioteca Virtual em Saúde
MEDLINE	Medical Literature Analysis and Retrieval System Online
SciELO	Scientific Electronic Library Online
LILACS	Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde
OS	Overall Survival
PFS	Progression-free survival
LFFS	Local failure-free survival
DMFS	Distant metastasis-free survival
ALDH1	Aldeído-desidrogenase 1
ISG	Interferon-stimulated gene
IFITs	Interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats
IFITMs	Interferon-induced transmembrane proteins
PD-L1	Ligando de morte programada 1
TIL	Tumor infiltrating lymphocytes
CMTM6	CKLF like MARVEL contendo domínio transmembranar 6
ARG1	Arginase 1
RT-qPCR	Real-Time Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction
LO	Leucoplasia Oral

## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	16
2	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	21
2.1	CANCER .....	22
2.2	MACRÓFAGO .....	25
2.3	REVISÃO SISTEMÁTICA .....	29
3	<b>PROPOSIÇÃO</b> .....	31
4	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	33
5	<b>RESULTADOS</b> .....	36
6	<b>DISCUSSÃO</b> .....	49
7	<b>CONCLUSÕES</b> .....	56
8	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	58

## **1 INTRODUÇÃO**

---



## 1 INTRODUÇÃO

O câncer, segundo a OMS em 2020, seria a primeira ou segunda principal causa de morte entre pacientes até 70 anos em 112 países, e ficaria em terceira e quarta morte mais comum em mais de 23 países. Além disso, estima-se 18,1 milhões de novos casos de câncer e cerca de 10 milhões de mortes pela doença ao redor do mundo (IARC, 2022). Com as taxas crescentes em quase todos os países, a prevenção do câncer é um desafio significativo de saúde pública. Cerca de 40% dos casos de câncer poderiam ser evitados com o combate aos fatores de risco relacionados à dieta, nutrição e atividade física, e quando adicionamos uso de tabaco e abuso de álcool, nos deparamos com os precursores responsáveis pelos cânceres de cabeça e pescoço (SUNG et al., 2021).

O carcinoma epidermóide de cabeça e pescoço, do inglês “Head and neck squamous cell carcinoma” (HNSCC), é a neoplasia mais comum que afeta essa região do corpo humano e se desenvolve a partir do epitélio da mucosa na cavidade oral, laringe e faringe (JOHNSON et al., 2020). O desenvolvimento deste carcinoma tem sido correlacionado com costumes nocivos e falta de um avanço na vacinação pública, uma vez que, os principais fatores que acarretam essa doença são produtos carcinogênicos derivados do tabaco, abuso de álcool, ou ambos, poluentes ambientais e, quando localizados na orofaringe, são ligados a infecção prévia por cepas oncogênicas de Papilomavírus Humano (HPV), principalmente a do tipo 16 (HPV-16) e a 18 (HPV-18) (MICHAUD, et al., 2014; STEIN et al., 2015; JOHNSON et al., 2020).

A OMS demonstrou que, em 2020, aproximadamente 900 mil novos casos de CECP foram documentados pelas agências globais, se mantendo como o sexto tipo de câncer mais comum no mundo. Ele também é conhecido como um câncer com alta letalidade, com aproximadamente 460 mil mortes global. No Brasil, o cenário para o câncer de cabeça e pescoço também é preocupante. Apenas em 2019 foram registrados cerca de 45 mil novos casos e acometeu mais de 20 mil brasileiros, principalmente porque as neoplasias são detectadas em estágios avançados (INCA, 2020).

É amplamente discutida a progressão do CECP invasivo, porém defende-se que ele siga eventos ordenados (CALIFANO et al., 1996; SHAH et al., 2011; JOHNSON et al., 2020). O microambiente tumoral, representa uma interação complexa entre as células do estroma e células tumorais que afeta direta e

indiretamente o crescimento do tumor, metástase e o tratamento (BALKWILL et al., 2012; QUAIL; JOYCE, 2013; JOHNSON et al., 2020). Além disso, tem-se a presença de linfócitos, fibroblastos, células dendríticas e macrófagos associados ao tumor, associados como supressoras ou promotoras do mesmo (MUNN; BRONTE, 2016; BINNEWIES et al., 2018). A ação das células dendríticas e dos macrófagos (captação de células tumorais apoptóticas) são essenciais no processo de indução efetiva das respostas antitumorais (CHEN & MELLMAN, 2013)

Os macrófagos são células hematopoiéticas com característica fagocitária e tem-se os monócitos como precursores, células estas que são circulantes na corrente sanguínea e com características migratórias para tecidos onde se diferenciam (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017). Além disso, eles apresentam heterogeneidade fenotípica, empenham papéis críticos na imunidade, na manutenção da homeostase dos tecidos, proteção do corpo através da função de fagocitar e digerir substâncias estranhas, além de uma vasta diversidade funcional (HANIFFA et al., 2015). É possível separar os macrófagos em dois grupos principais, que apresentam funções diferentes tanto na defesa quanto na vigilância imunológica, denominados de macrófagos classicamente ativados (M1) e macrófagos ativados alternativamente (M2); porém, conforme as alterações no ambiente interno, eles podem transformar-se um no outro (ZHOU et al., 2020).

Conforme o microambiente tumoral, monócitos no sangue são recrutados perante o sinal de fatores secretados por células tumorais, além da presença de quimiocinas, inflamação, altos níveis de ácido láctico, presença de anóxia local. Em resposta, esses monócitos se diferenciam em macrófagos associados ao tumor (MAT) com atuação na progressão tumoral e metástase (WYNN et al., 2013; SANTONI et al., 2014). A maioria dos MAT se concentra na periferia da lesão e áreas avasculares, mas alguns se alinham ao longo de vasos e são referenciados como fatores ocasionadoras de crescimento tumoral, como parte da regulação imune, angiogênese tumoral, quimiorresistência e metástase (LIU; CAO, 2015).

Os MATs desempenham papéis importantes e fundamentais na tuorigênese, com seus fenótipos apresentando funções diferentes. Os do tipo M1 apresentam classicamente ação antitumoral, exibem capacidade de distinguir células tumorais de células normais e assim combatê-las. Esses macrófagos conseguem realizar essa atividade tanto mediando diretamente a citotoxicidade para destruir as células tumorais por meio de múltiplos mecanismos e liberando moléculas com efeitos

citotóxicos para as células tumorais (ROS e NOS), quanto por citotoxicidade mediada por células dependentes de anticorpos (ADCC, do inglês “antibodydependent cell-mediated cytotoxicity”), também destruindo células tumorais, porém requerem a participação de anticorpos antitumorais (BRUNS et al., 2014; PAN et al., 2020).

Já os MATs do tipo M2 são referenciados como promotores de proliferação e invasão de células tumorais, além de promoverem angiogênese e metástase tumoral (CASSETA; POLLARD, 2018; WEI et al., 2019; PAN et al., 2020). A proliferação das células tumorais é correlacionada com a infiltração de MATs, uma vez que expressam citocinas com característica de estímulo de proliferação e sobrevivência de células tumorais. Como exemplos, pode-se citar o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de crescimento de hepatócitos (HGF), fator de crescimento epitelial (EGF) e o Fator de transformação do crescimento beta (TGF- $\beta$ 1) (YIN et al., 2016).

Em câncer de cabeça e pescoço, os MATs desempenham papel importante no crescimento, angiogênese e metástase tumoral (PETRUZZI et al., 2017; ALVES et al., 2018; EVRARD et al., 2019). A polarização nos fenótipos M1 (antitumoral e pró-inflamatório) e M2 (pró-tumorais, pró-angiogênicos e anti-inflamatório) pode ser avaliada por meio das proteínas expressas CD68, CD163 e CD206 (marcadores de fenótipos de macrófagos). Sendo assim, o fenótipo M1 relaciona-se ao marcador CD68 enquanto o M2 com CD163 e CD206 (BALERMPAS et al., 2014; JETTEN et al., 2014; WEBER et al., 2016; FANG et al., 2017; YAMAGATA et al., 2017). Além disso, estudos com biomarcadores detectaram que o fenótipo M2 apresenta maior predominância entre os MATs e desenvolvimento tumoral, em câncer de cabeça e pescoço (BÔAS et al., 2013; YAMAGATA et al., 2017; CHAWLA et al., 2017).

As revisões sistemáticas são um tipo de síntese de pesquisa que propõem identificar, recuperar e avaliar uma determinada pergunta para informar a prática, política e até pesquisa adicionais (PEARSON, 2004; LIBERATI et al., 2009; AROMATIS; PEARSON, 2014). Para sua execução, são utilizados métodos sistemáticos selecionados com o objetivo de minimizar o vieses de confirmação, fornecendo então resultados completos, a partir dos quais conclusões podem ser aferidas (HIGGINS; GREEN, 2011). É necessária uma estruturação e processos definidos nesse formato de pesquisa, exigindo assim uma metodologia rigorosa, para garantir resultados confiáveis e significativos. Além disso, as revisões sistemáticas podem ser consideradas o pilar de cuidados de saúde baseados em evidências, e para auxiliar o desenvolvimento de diretrizes clínicas confiáveis (STEINBERT et al.,

2011; PEARSON et al., 2012; MUNN, et al., 2018). Atualmente, as revisões sistemáticas são padrão-ouro (grande qualidade e alta importância), principalmente na área da saúde, por providenciar melhores evidências para estudo, principalmente para os clínicos (LIBERATTI et al., 2009; AROMATARIS; PERSON, 2014).

Sendo assim, este estudo teve o objetivo de avaliar, por meio de revisão sistemática, a eficiência de biomarcadores imuno-histoquímicos de macrófagos associados ao tumor, de ambos fenótipos (M1 e M2) no efeito da progressão tumoral de câncer de cabeça e pescoço, e assim correlacionar as marcações com análises de prognóstico ruim, progressão tumoral e baixa sobrevida.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

---

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. CÂNCER

As doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) são conhecidas como a principal responsável pelas maiores proporções de mortes no mundo segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS). Ainda segundo a OMS (2021), as DCNT acarretam na morte de 41 milhões de pessoas por ano, equivalente a 71% de todo o número de mortes globais. Ultimamente, elas são correlacionadas com países de baixa à média renda, totalizando 77% de todas as mortes por esse tipo de doença no mundo. Entre as DCNT, doenças cardiovasculares apresentam os maiores números de fatalidades, com aproximadamente 18 milhões de mortes por ano, seguido por câncer (9,3 milhões/ano), doenças respiratórias (4,1 milhões/ano) e diabetes (1,5 milhões/ano). Alguns fatores são relacionados ao risco de desenvolver uma DCNT, como o uso de tabaco, inatividade física, uso nocivo de álcool e dieta não saudável (OMS, 2021). No Brasil, em 2019 as DCNT apresentaram uma proporção de 54,7% de todos os óbitos registrados, seguindo a mesma projeção mundial (BRASIL. Ministério da Saúde, 2020).

Dentre as DCNT, fica evidente o impacto negativo do câncer no montante total de fatalidades mundiais, corroborando assim com as estimativas da OMS de 2020. A organização fez o levantamento entre os 183 países do mundo, e apresentou que o câncer seria a primeira ou segunda principal causa de morte entre pacientes até 70 anos em 112 países, e ficaria em terceira e quarta causa de morte em mais de 23 países (OMS, 2020). Ainda com base em estudos recentes, o câncer pode superar as doenças cardiovasculares como principal causa de morte prematura na maioria dos países, ao longo deste século, correlacionando assim, essa doença com as dificuldades no aumento da expectativa de vida mundial (NCD 2030 2020; BRAY et al., 2021).

Segundo a última atualização disponível da Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC), de 2020, estima-se 18,1 milhões de novos casos de câncer ao redor do mundo (9,3 milhões em homens e 8,8 milhões em mulheres), e cerca de 10 milhões de mortes (IARC, 2022). Em geral, os cânceres de mama feminino e pulmão são os mais comuns dentre todos os novos casos diagnosticados em 2020 no mundo, com uma proporção de 12,5% (2.261.419 casos) e 12,2%

(2.206.771 casos), respectivamente. Em terceiro lugar aparece o câncer colorretal com 10,7% (1.931.590 casos) e em quarto o de próstata com 7,8% (1.414.259 casos) no mundo (IARC, 2022). O Brasil apresenta uma situação parecida com o restante do mundo em 2020, com apenas alterações de ordem entre os quatro tipos mais comuns, uma vez que tem-se o de próstata em primeiro lugar com aproximadamente 78 mil novos casos, seguido pelo de mama feminino com 61.900, colorretal com 19.400 e o de pulmão com 14.300 novos casos (IARC, 2022; INCA, 2022).

Quando especificado por sexo do paciente no Brasil, as mulheres também seguem as amostras mundiais. Em primeiro lugar o câncer de mama com 29,7% (61.900 casos), seguido pelo colorretal com 9,2% (20.470 casos), porém em terceiro lugar tem-se uma mudança, com o câncer de colo uterino com 7,5% (16.710 casos) ultrapassando o das vias respiratórias. Assim, os três tipos totalizam um percentual de 46,4% entre o total de novos casos. A mortalidade segue os índices mundiais, com o de mama com 16,5% (17.825 óbitos) e o de pulmão com 11,6% (12.609 óbitos) entre os números gerais de óbitos por câncer em mulheres (INCA, 2022).

Os pacientes do sexo masculino no Brasil sofrem muito mais com o câncer de próstata do que o resto do mundo, com 29,2% (65.800 casos) de todos os relatos dessa doença, seguido pelo colorretal com 9,1% (20.540 casos) e o de pulmão, que é o líder mundial de novos casos, ficando apenas em terceiro no Brasil com 7,8% (17.760 casos). Portanto, os três principais representantes entre os homens apresentam uma soma de 46,2% entre todos os tipos de câncer. Em relação à mortalidade masculina, seguindo a estatística mundial, o câncer de pulmão apresenta os maiores índices de mortalidade, com 13,6% (16.009 óbitos) e o segundo maior percentual é o do câncer mais comum no Brasil, o de próstata com 13,5% (15.841 óbitos) do total de óbitos no país (INCA, 2022).

Com as taxas crescendo em quase todos os países, a prevenção do câncer é um desafio significativo de saúde pública. Cerca de 40% dos casos de câncer poderiam ser evitados com o combate aos fatores de risco relacionados à dieta, nutrição e atividade física e, quando adicionamos uso de tabaco e abuso de álcool, nos deparamos com os principais precursores responsáveis pelos cânceres de cabeça e pescoço (SUNG et al., 2021).

O carcinoma epidermóide de cabeça e pescoço (CECP) é a neoplasia mais comum que afeta essa região do corpo humano, e se desenvolve a partir do epitélio da mucosa na cavidade oral, laringe e faringe (JOHNSON et al., 2020). O

desenvolvimento deste carcinoma tem sido correlacionado com costumes nocivos e falta de um avanço na vacinação pública de HPV de orofaringe, uma vez que, os principais fatores que acarretam essa doença são produtos cancerígenos derivados do tabaco, abuso de álcool, ou ambos, poluentes ambientais e quando localizados na orofaringe são ligados a infecção prévia por cepas oncogênicas de Papilomavírus Humano (HPV), principalmente a do tipo 16 (HPV-16) e a 18 (HPV-18) (MICHAUD, et al., 2014; STEIN et al., 2015; JOHNSON et al., 2020).

Como forma de minimizar o avanço dessa doença, investimentos na área de prevenção e conscientização de costumes nocivos à saúde e vacinação pública são essenciais, pois os tipos de HPVs oncogênicos mais nocivos são cobertos por vacinas aprovadas pela OMS, disponíveis no Brasil pelo SUS e rede particular (OMS, 2022). Então é possível que o CECP positivo para o HPV (CECP HPV-positivo) possa ser combatido pela vacinação em duas doses, como aconselhado pelas entidades competentes. Entretanto, o fator mais comum para as neoplasias desta região ainda são o uso de tabaco e álcool e são referidos como CECP HPV-negativo (JOHNSON et al., 2020).

No ano de 2020, aproximadamente 900 mil novos casos de CECP foram documentados pelas agências globais, se mantendo como o sexto tipo de câncer mais comum no mundo. Também é conhecido como um câncer com alta letalidade, com aproximadamente 460 mil mortes global (OMS, 2022). No Brasil, o cenário para o câncer de cabeça e pescoço também é preocupante. Apenas em 2019 foram registrados cerca de 45 mil novos casos e acometeu mais de 20 mil brasileiros, principalmente porque as neoplasias são detectadas em estágios avançados (INCA, 2020). Geralmente acomete mais os pacientes do sexo masculino do que o feminino, como exemplificado no Brasil pelo INCA em 2020, em que, cerca de 9% do total dos cânceres em homens foram de alguma região de CECP, ao contrário das mulheres que a somatória permanece próximo de 2%.

É amplamente discutido a progressão do CECP invasivo, porém, defende-se que ele segue eventos ordenados, começando com células epiteliais em hiperplasia, seguido de displasia (podendo ser leve, moderado ou grave), carcinoma *in situ* e por fim, carcinoma de forma invasivo (CALIFANO et al., 1996; SHAH et al., 2011; JOHNSON et al., 2020). Ele é considerado de natureza heterogênea, sendo que a célula de origem depende do agente etiológico (fatores carcinogênicos e/ou vírus),



porém, pacientes diagnosticados com CECP geralmente não apresentam história de lesão pré-maligna antecedente (JOHNSON et al. 2020).

O microambiente tumoral é uma interação complexa entre as células do estroma e células tumorais que afetam diretamente e indiretamente o crescimento do tumor, metástase e o tratamento (BALKWILL et al., 2012; QUAIL; JOYCE, 2013; JOHNSON et al., 2020). Além disso, o componente imunológico do microambiente tumoral são células imunes como linfócitos infiltrantes de tumor, fibroblastos associados ao tumor, células “natural killer” (NK cells), células dendríticas e macrófagos associados ao tumor, e exercem papel como supressoras ou promotoras do tumor (MUNN; BRONTE, 2016; BINNEWIES et al., 2018). Os CECP são altamente infiltrados por células imunes, porém o agente etiológico (HPV ou tabaco) e a anatomia influenciam na extensão e na composição do infiltrado de células imunes (PARTLOVA et al., 2015; MANDAL et al., 2016). No ciclo imune, a ação das células dendríticas e dos macrófagos (captação de células tumorais apoptóticas) são partes importantes do processo de indução efetiva das respostas antitumorais (CHEN; MELLMAN, 2013).

## 2.2. MACRÓFAGOS

Os macrófagos são células hematopoiéticas com característica fagocitária e tem-se os monócitos como precursores, células estas que são circulantes na corrente sanguínea e com características migratórias para tecidos onde se diferenciam (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017). Geralmente são comparadas e consideradas semelhantes, porém, algumas diferenças entre elas se destacam como a potência da atividade fagocítica e o tamanho, geralmente (e dependente do seu fenótipo), o macrófago apresenta uma proporção maior e uma atividade fagocítica mais elevada (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017).

Monócitos circulantes podem se diferenciar em macrófagos, dependendo da necessidade (inflamação de tecidos) e além disso, células tronco embrionárias durante o desenvolvimento fetal se diferenciam em macrófagos residentes específicos em alguns tecidos, como no fígado, no pulmão (macrófagos alveolares) e no tecido ósseo, após o nascimento precursores derivados da medula óssea (CASSETTA; POLLARD, 2018). Conforme o tecido residente, o macrófago apresenta uma função referente a necessidade local, como no fígado as células Kupffer contribuem com a regeneração hepática após lesões, na pele as células de Langerhans exercem papel

de sentinelas vigiando a situação imunológica, nos ossos os osteoclastos mediando a morfogênese óssea e a micróglia no cérebro correlacionado com o desenvolvimento e manutenção das redes neurais (KEDZIERSKA; CROWE, 2002).

Macrófagos apresentam heterogeneidade fenotípica, empenham papéis críticos na imunidade, na manutenção da homeostase dos tecidos, proteção do corpo através da função de fagocitar e digerir substâncias estranhas, além de uma vasta diversidade funcional (HANIFFA et al., 2015). Mediam a imunidade inata (defesa não específica) e imunidade adquirida (iniciar mecanismos de defesas específicas), também exercem função imunomoduladora, em que secretam citocinas ativando o sistema complemento, acarretando em inflamação (ZHOU et al., 2020).

É possível separar os macrófagos em dois grupos principais, que apresentam funções diferentes tanto na defesa quanto na vigilância imunológica, denominados de macrófagos classicamente ativados (M1) e macrófagos ativados alternativamente (M2); porém, conforme as alterações no ambiente interno, eles podem transformar-se um no outro (ZHOU et al., 2020).

Os macrófagos de tipo M1 desempenham um papel essencial na função imunológica, produzindo citocinas pró-inflamatórias contra os patógenos invasores do corpo e podem contribuir para a destruição de tecidos. Outras células imunes secretam citocinas (INF- $\gamma$ , GM-CSF) que podem induzir a ativação de macrófagos do tipo M1 (ARNOLD et al., 2014). Já os do tipo M2 desempenham papel na remodelação de tecidos, combate a infecção parasitária, combate a doenças alérgicas e angiogênese, infecções parasitárias e citocinas (IL-4, IL-10, IL-13) podem provocar a polarização dos macrófagos para o tipo M2 (SICA et al., 2008; MURRAY, 2017).

Conforme o microambiente tumoral, monócitos no sangue são recrutados perante o sinal de fatores secretados por células tumorais, além da presença de quimiocinas, inflamação, altos níveis de ácido láctico, presença de anóxia local e esses monócitos se diferenciam em macrófagos associados ao tumor (MAT), em seguida atuam em impactos na progressão tumoral e metástase (WYNN et al., 2013; SANTONI et al., 2014).

A maioria dos macrófagos se concentra na periferia e áreas avasculares, mas alguns se alinham ao longo de vasos e são referenciados como fatores ocasionadoras de crescimento tumoral, como parte da regulação imune, angiogênese tumoral, quimiorresistência e metástase (LIU; CAO, 2015). Como no estudo de Grivennikov e colaboradores (2012), que citocinas derivadas de MATs (IL-23, IL-17)

desencadeiam inflamação induzida impulsionando o crescimento tumoral. Kong e colaboradores (2016) também estudaram o efeito da citocina IL-6 derivada de MAT em carcinoma hepatocelular, em que exercem amplificação na resposta inflamatória via sinalização do fator de transição STAT3 (do inglês “signal transducers and activators of transcription”). Por fim, é estudado a progressão tumoral e metástase sendo suportado pelo MAT do tipo M2 (LAOUI et al., 2011).

Em MATs as duas formas diferentes de polarização, M1 e M2, atuam de formas e em momentos diferentes. As do tipo M1 tem a função de fagocitar e absorver células alvos, também apresentam características de atração e ativação celular do sistema imunológico adaptativo, expressam espécies reativas de oxigênio (ROS), óxido nítrico sintases (NOS) e citocinas (IL-12) (PERRY et al., 2018; KIM et al., 2019). Já as do tipo M2 promovem tumorigênese e o desenvolvimento tumoral, com funções de reparo de lesões, reconstrução tecidual, em debris e promovendo angiogênese (NGAMBENJAWONG et al., 2017). Por algum tempo, pesquisadores consideraram os MAT como macrófagos apenas semelhantes ao fenótipo M2 (LAOUI et al., 2011; ZHANG et al., 2014; HENZE; MAZZONE, 2016). Porém, estudos exemplificaram que os MATs compartilham assinaturas de polarização tanto do tipo M1 quanto do tipo M2, e que essa população celular está em constante transição entre os dois fenótipos dependente de diferentes sinais do microambiente tumoral, portanto, essa limitação é imprecisa (FRANKLIN et al., 2014; LIN et al., 2019; PAN et al., 2020).

Os MATs desempenham papéis importantes e fundamentais no progresso do tumor com seus fenótipos apresentando funções diferentes. Os do tipo M1 apresentam ação antitumoral, exibem capacidade de distinguir células tumorais de células normais e assim combatê-las. Esses macrófagos conseguem realizar essa atividade de duas formas, mediando diretamente a citotoxicidade para destruir essas células tumorais envolvendo múltiplos mecanismos, liberando moléculas com efeitos citotóxicos para as células tumorais (ROS e NOS) e através da citotoxicidade mediada por células dependentes de anticorpos (ADCC, do inglês “antibodydependent cell-mediated cytotoxicity”), também destruindo células tumorais, porém requer participação de anticorpos antitumorais (BRUNS et al., 2014; PAN et al., 2020).

Já os MATs do tipo M2 são referenciados como promotores de proliferação e invasão de células tumorais, além de promoverem angiogênese e metástase tumoral (CASSETA; POLLARD, 2018; WEI et al., 2019; PAN et al., 2020). A proliferação das células tumorais é correlacionada com a infiltração de MATs, uma vez que expressam

citocinas com característica de estímulo de proliferação e sobrevivência de células tumorais. Como exemplos, pode-se citar o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de crescimento de hepatócitos (HGF), fator de crescimento epitelial (EGF) e o TGF- $\beta$ 1 (YIN et al., 2016). Outro exemplo importante é a expressão do receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR), correlacionado com mutações em variados tipos de câncer, principalmente nos de mama feminina e pulmão, uma vez que eles mediam a transdução de sinais de proliferação celular (YIN et al., 2016). Além disso, uma das razões para a migração e metástase de células tumorais é a degradação da membrana basal nas células endoteliais do tecido tumoral sendo correlacionado com MATs, que exercem efeito direto através da secreção de metaloproteinases da matriz (MMPs), catepsinas, serina proteases que atuam na migração de células tumorais e células estromais tumorais, decompondo colágenos e outros componentes da matriz extracelular (HAO et al., 2017; ANNAMALAI et al., 2018; WEI et al., 2019).

Outro fator base da metástase tumoral é a transição epitélio mesenquimal, que permite que as células tumorais adquiram a capacidade de migrar e adquirir propriedades de implantação e infecção de novos tecidos (SONG et al., 2017; DONGRE; WEINBERG, 2019). Células tumorais também promovem a diferenciação de MATs, através de citocinas, ocasionando um ciclo positivo entre a transição epitélio mesenquimal e os MATs (CHAFFER et al., 2016). Ficando evidente a característica importante de prognóstico ruim envolvendo MATs e por consequência a metástase tumoral, corroborando com observações clínicas de pior evolução da doença quando o acúmulo de macrófagos no microambiente tumoral (POLLARD, 2008; OHTAKI, 2010; LIN et al., 2019; PAN et al., 2020).

Em câncer de cabeça e pescoço, os MATs desempenham papel importante no crescimento, angiogênese e metástase tumoral (ALVES et al., 2018; EVRARD et al., 2019). Eles exibem os fenótipos M1 (antitumoral e pró-inflamatório) e M2 (pró-tumorais, pró-angiogênicos e anti-inflamatório), e a polarização pode ser avaliada através das proteínas expressas CD68, CD163, CD204 e CD206 (BALERMPAS et al., 2014; JETTEN et al., 2014; WEBER et al., 2016; FANG et al., 2017; YAMAGATA et al., 2017). Além disso, estudos com biomarcadores detectaram que o fenótipo M2 apresenta maior predominância com relação entre os MATs e desenvolvimento tumoral, em câncer de cabeça e pescoço (BÔAS et al., 2013; YAMAGATA et al., 2017; CHAWLA et al., 2017).

### 2.3. REVISÃO SISTEMÁTICA

As revisões sistemáticas são um tipo de síntese de pesquisa que propõem identificar, recuperar e avaliar uma determinada pergunta para informar a prática, política e até pesquisa adicionais (PEARSON, 2004; LIBERATI et al., 2009; AROMATARIS; PEARSON, 2014). Para sua execução, são utilizados métodos sistemáticos que são selecionados com o objetivo de minimizar o vies de confirmação, fornecendo então resultados completos a partir dos quais conclusões podem ser aferidas (HIGGINS; GREEN, 2011). É necessário uma estruturação e processos definidos nesse formato de pesquisa, exigindo assim uma metodologia rigorosa, para garantir resultados confiáveis e significativos. Além disso, as revisões sistemáticas podem ser consideradas o pilar de cuidados de saúde baseados em evidências, e para auxiliar o desenvolvimento de diretrizes clínicas confiáveis (STEINBERT et al., 2011; PEARSON et al., 2012; MUNN, et al., 2018).

A montagem de uma revisão sistemática se baseia em um documento principal chamado protocolo PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Analysis) descrito primeiramente por Liberati e colaboradores (2009). Basicamente, o desenvolvimento de uma revisão sistemática confiável deve se basear nos tópicos apontados no protocolo, como a busca de dados, os critérios de exclusão e inclusão, a extração dos dados e a montagem de tabelas com os artigos escolhidos pela revisão. Apesar de já ter sofrido atualizações, como a inclusão do PROSPERO, uma plataforma para cadastro de revisões sistemáticas para que não se realize tanto estudo iguais, o PRISMA ainda é a base para a confiabilidade das revisões sistemáticas.

Além do PRISMA, há também o PICO, que é um acrônimo para Paciente, Intervenção, Comparação e Desfecho, que tem como objetivo a formulação da pergunta principal do seu estudo. A estratégia de PICO é utilizada para construir questões de pesquisa de diferentes naturezas (SANTOS et al., 2007).

Na área da saúde, as revisões sistemáticas começaram a ser utilizadas e publicadas entre 1970 e 1980. Porém, na década de 90 houve um aumento considerável das publicações de revisões sistemáticas, pois a comunidade científica

compreendeu a contribuição através da eficácia de informações que esses estudos acarretavam (BASTIAN et al., 2010; JORDAN et al., 2015).

Atualmente, as revisões sistemáticas são padrão-ouro (grande qualidade e alta importância), principalmente na área da saúde, por providenciar melhores evidências para estudo, especialmente para os clínicos (LIBERATTI et al., 2009; AROMATARIS; PEARSON, 2014). Elas possuem ampla gama de propósitos em diversos campos de investigação, com vários tipos de evidência e questões (MUNN et al., 2018).

Nesse sentido, permanece uma enorme necessidade de se identificar moléculas biomarcadoras que possam ser utilizadas para prever a progressão das lesões de CECP pré-malignas, sobrevida prognóstica, revelar novos alvos para intervenção e prever a resposta aos agentes terapêuticos. A busca por biomarcadores tem focado em definir as anormalidades moleculares que caracterizam o CECP (SUN et al., 2018).

### **3 PROPOSIÇÃO**

---

### **3 PROPOSIÇÃO**

O objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência dos biomarcadores imunohistoquímicos de macrófagos associados ao tumor, de ambos fenótipos (M1 e M2), no efeito de promoção tumoral de câncer de cabeça e pescoço, e assim correlacionar as marcações com análises de prognóstico ruim, progressão tumoral e baixa sobrevida, utilizando a metodologia de revisão sistemática.



## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

---

## **4. MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1. ESTRATÉGIA E PROSPERO**

Esta revisão sistemática foi realizada de acordo com o relatório do “Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses” (PRISMA) (LIBERATTI et al., 2009). O protocolo deste estudo completo pode ser encontrado no Registro Prospectivo Internacional de Revisões Sistemáticas (PROSPERO) com o código CRD42022286031. Foi utilizado o PICO (Problema, Intervenção, Comparação e Desfecho) no estudo para responder à pergunta: “Biomarcadores imunohistoquímicos de macrófagos associados a tumores são preditores eficientes de baixa sobrevida e prognóstico ruim em pacientes do carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço?”.

### **4.2. MODELO DE BUSCA E EXTRAÇÃO DE DADOS**

Foram utilizados os bancos de dados PubMed, Web of Science, MEDLINE, SciELO e LILACS para realizar a busca dos artigos de interesse. Após a busca, cada artigo foi interpretado por dois revisores e de forma independente. Os descritores utilizados na revisão sistemática foram conferidos pelo Portal Regional da Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) nas línguas portuguesa e inglesa, sendo eles: Carcinoma de cabeça e pescoço/HNSCC, carcinoma de células escamosas/Squamous cell carcinoma, Macrófagos/Macrophages e Imunohistoquímica/Immunohistochemistry.

As palavras foram pesquisadas separadamente levando em consideração o tópico e depois combinadas com operadores lógicos “AND” e “OR” a fim de selecionar aqueles artigos que apresentassem as palavras-chave de interesse. Na base de dados PubMed, teve enfoque os artigos pertencentes a ferramenta “Best Match”, em que o próprio site seleciona os artigos que se encaixem melhor na estratégia de busca, seja com maior fator de impacto e citações. Nas outras bases de dados foi utilizado a busca padrão com os operadores, pois não disponibilizam ferramentas de aprimoramento de buscas.

Após a busca com os descritores e operadores lógicos acima mencionados, foi realizado o filtro necessário para o refinamento da revisão sistemática, utilizando critérios de inclusão e exclusão.

#### **4.3. CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE**

Era necessário que os artigos apresentassem os descritores citados no tópico acima, apresentando uma conexão de amostragem, metodologia (imunohistoquímica) e objeto de estudo (macrófagos).

Além disso, precisavam ser publicados entre os anos de 2012 e 2022, já que o foco dessa revisão sistemática foi durante o período dos últimos dez anos.

Outro critério importante considerado foi que os artigos deveriam ser textos completos, descartando anais de congressos ou comunicação curta.

Por fim, os estudos necessitavam ser em amostras humanas, para levar em consideração a expressão dos marcadores de macrófagos em amostras de tumores de câncer de cabeça e pescoço com características agressivas. Os artigos também precisavam apresentar correlação dos macrófagos, expressão ou situação a qual acarretavam em prognósticos ruins e/ou baixa sobrevida dos pacientes amostrados.

#### **4.4. CONSTRUÇÃO DE TABELA COMPARATIVA E RISCO DE VIÉS**

As informações retiradas dos estudos foram organizadas para avaliação da qualidade e síntese de evidências. Os dados coletados dos artigos selecionados foram organizados em tabelas e as informações extraídas dos estudos incluídos foram organizados em (1) autor, (2) ano de publicação, (3) local do estudo, (4) quantidade de amostras, (5) marcadores e clones, (6) efetividade de marcadores, (7) conclusão.

Também foi realizada análise de risco de viés de confirmação utilizando a ferramenta da JBI (Instituto Joanna Briggs), afim de verificar a qualidade metodológica dos estudos selecionados objetivando determinar a possibilidade de viés de confirmação em seu desenho, condução e análise (AROMATARIS et al., 2015)

## **5 RESULTADOS**

---

## 5 RESULTADOS

### 5.1. Extração de dados e infográfico

Após a realização da busca nas bases de dados utilizando os descritores acima mencionados e aplicando os operadores lógicos, foram encontrados 137 artigos na PubMed, 27 na Web of Science, 21 na MEDLINE, zero na SciELO e zero na LILACS. Portanto, foi utilizado apenas as bases PubMed, Web of Science e MEDLINE para o desenvolvimento do estudo.

Utilizando a aplicação dos critérios de elegibilidade, foi realizada a primeira filtragem dos artigos encontrados. Incluindo apenas textos completos o número total de cada base diminuiu, permanecendo 126 artigos na PubMed, 22 na Web of Science e 20 na MEDLINE. Segundo filtro aplicado na busca foi ano de publicação, entre 2012 e 2022, resultando em 90 artigos na PubMed, 22 na Web of Science e 20 na MEDLINE. Terceiro filtro utilizado foi a necessidade do material de pesquisa do artigo ser em tecido humano, totalizando assim, 72 artigos na PubMed, 22 na Web of Science e 20 na MEDLINE.

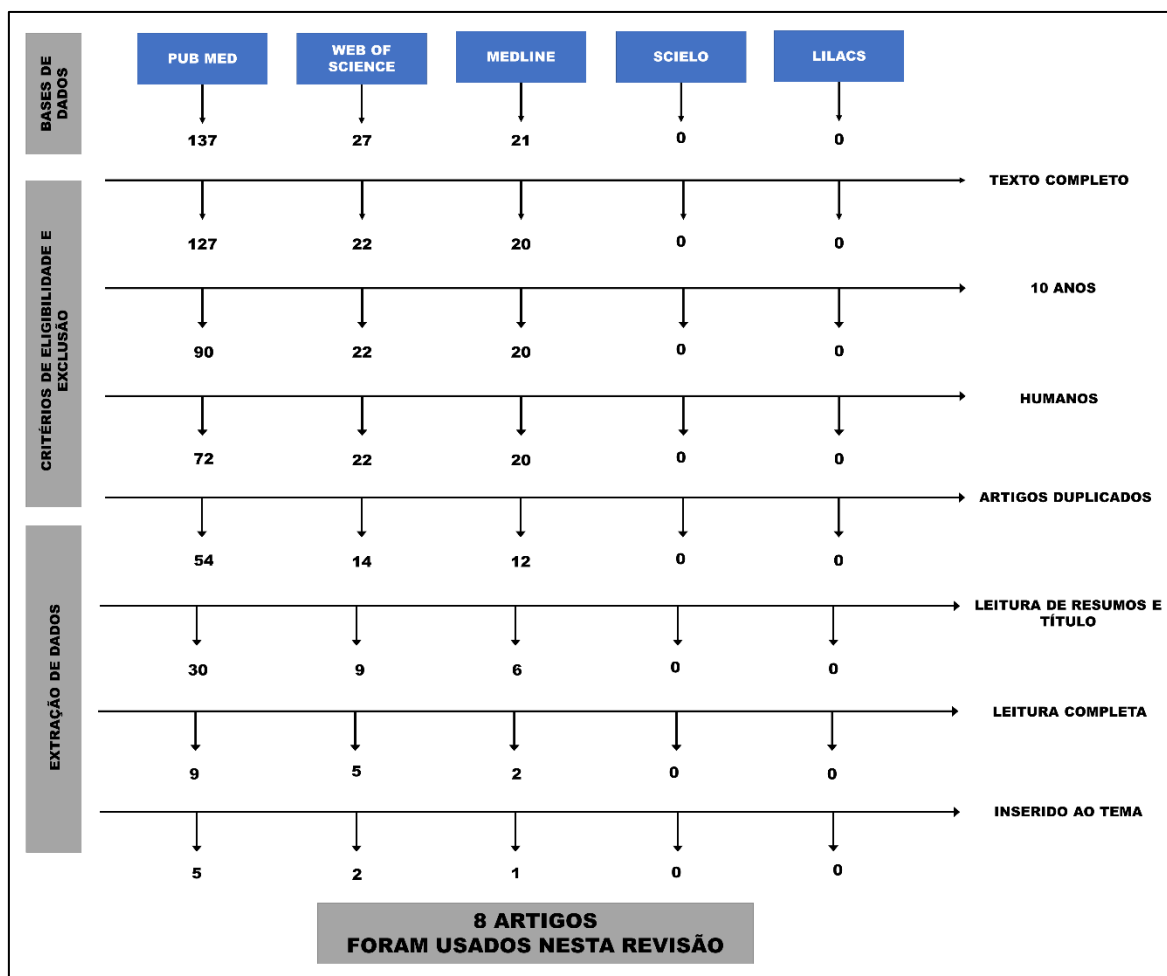
Por fim, após os critérios atingidos foram retirados os artigos duplicados, resultando na maior exclusão de artigos, permanecendo 54 na PubMed, 14 na Web of Science e 12 na MEDLINE.

Com o montante de 80 artigos, foi realizado a leitura de títulos e resumos para a exclusão dos que não se enquadravam no interesse do estudo, totalizando então 30 artigos na PubMed, nove na Web of Science e seis na MEDLINE.

Após a leitura dos títulos e resumos, os artigos restantes foram lidos por completo, para selecionar os que mais correspondiam com o objetivo da pesquisa, resultando no montante final de 16 artigos, sendo nove artigos da PubMed, cinco da Web of Science e dois da MEDLINE. Por fim, após a leitura dos textos de forma crítica/analítica, 8 artigos se adequaram ao tema proposto, sendo 5 do PubMed, 2 do Web of Science e 1 do MEDLINE.

Afim de exemplificar os critérios e conteúdo (número de artigos) das bases de dados, foi construído um infográfico para elucidar de forma visual o descrito acima (Figura 1).

**Figura 1.** Infográfico representativo dos artigos selecionados, seus números e os critérios de elegibilidade definidos para a seleção.



## 5.2. Artigos selecionados

Para compreensão das escolhas realizadas, foi elaborado uma descrição dos artigos selecionados, com foco nos principais motivos de cada decisão, remetendo a metodologia descrita anteriormente.

Segue descrição de cada artigo:

Artigo 1. **Head and Neck Cancer relapse after chemoradiotherapy correlates with CD163+ macrophages in primary tumour and CD11b+ myeloid cells in recurrences.** – BALERMPAS et al., 2014.

Balempas e colaboradores (2014) tiveram como objetivo de estudo avaliar o prognóstico dos biomarcadores de MATs CD68, CD163 e CD11b em amostras parafinadas de pacientes com CECP.

No total, amostras de 106 pacientes foram coletadas e conservadas com parafina para o ensaio de imunohistoquímica. Os marcadores utilizados foram o CD68, CD163, CD31, p16<sup>INK4a</sup> e CD11b. As análises de MATs foram feitas em três diferentes partes do tumor: estroma, periferia do tumor e compartimento intraepitelial. Foi analisado a expressão de MAT em tumores primários e correlacionados com parâmetros clínico patológicos, com resultados clínicos, na recorrência de tumores e com HPV, em que, classificaram de forma semi-quantitativa. Os MATs em tumor primário também foram avaliados em quatro grupos, sendo eles: Overall survival (OS), Progression-free survival (PFS), Local failure-free survival (LFFS) e Distant metastasis-free survival (DMFS).

Os autores detectaram que a alta expressão de CD163 correspondeu a resultados clínicos piores, uma situação tumoral avançada quando comparado com pacientes com baixa expressão do mesmo. Também demonstraram que detectaram uma alta expressão de CD68 e CD163 no estroma do tumor e correlacionaram essa situação com prognóstico ruim, pior OS e alta progressão tumoral.

Por fim, os autores concluíram associando a alta expressão de CD68 e CD163 com prognóstico ruim e por consequência baixa sobrevida em pacientes com CECP.

**Artigo 2. CD163+ Tumor-Associated Macrophages Correlated with Poor Prognosis and Cancer Stem Cells in Oral Squamous Cell Carcinoma. – HE et al., 2014.**

He e colaboradores (2014) examinaram a expressão de MAT e células tronco tumorais em CECP, para isso, foi utilizado o método de imuno-histoquímica, além de comparação patológica.

Foram utilizadas 43 amostras de pacientes. No ensaio de imuno-histoquímica foram usados os marcadores de CD68, CD163, CD31, SOX2, CD44 e ALDH1.

Como resultado, os autores detectaram que os marcadores CD68 e D163 foram expressos no citoplasma, algo frequentemente encontrado em amostras de câncer de boca. Ainda aferem que a expressão dos mesmos pode indicar distintamente a sobrevivência do paciente com câncer.

Além disso, eles acreditam que CD68 e CD163 são importantes para o diagnóstico e para os fatores de prognóstico de câncer de cabeça e pescoço, o que já acontece com tipos de câncer de mama e outros tipos de tumores. Também foi comprovado no estudo que a expressão positiva de CD68 e CD163 é associada com o comportamento agressivo, incluindo os efeitos em linfonodos. O estudo demonstrou também que a expressão de CD163 está significativamente relacionada a taxas baixas de sobrevida do paciente.

Concluindo, o estudo revelou que os marcadores de MAT, CD68 e CD163 foram associados com o comportamento agressivo do tumor.

**Artigo 3. Tumor associated macrophages induce epithelial to mesenchymal transition via EGFR/ERK1/2 pathway in head and neck squamous cell carcinoma. – GAO et al., 2018.**

Gao e colaboradores (2018) avaliaram a expressão de MATs e proteínas associadas a transição epitélio mesenquimal nos tecidos de CECP.

Utilizaram 56 amostras parafinadas de pacientes para os estudos e os marcadores usados no ensaio de imuno-histoquímica foram: CD68, CD163, marcadores de transição epitélio mesenquimal, vimentina e E-caderina.

No estudo foi demonstrado a maior concentração de macrófagos M2 e que indicou que eles são componentes celular primário no estroma tumoral. Eles reforçam que os resultados indicaram que a transição epitélio mesenquimal de células de CECP pode ser induzida por MATs, o que pode contribuir para o comportamento agressivo do CECP. Por isso, a alta infiltração de macrófagos é utilizada como marcadores de prognóstico ruim em CECP.

Como conclusão, o estudo forneceu evidências que MATs podem induzir a transição epitélio mesenquimal de células de CECP, potencializando a capacidade das células tumorais.

**Artigo 4. Expression and Prognostic Value of IFIT1 and IFITM3 in head and neck squamous cell carcinoma. – LI et al., 2020.**

Li e colaboradores (2020) avaliaram a expressão e a importância do prognóstico de duas ISGs (Interfero-stimulated genes), a IFITs (Interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats) e IFITMs (Interferon-induced transmembrane proteins) e suas correlações com os receptores e ligantes imunológicos.



Apresentaram uma amostragem de 275 pacientes, parafinadas e realizaram o ensaio de imuno-histoquímico utilizando os marcadores IFIT1, IFITM3, PD-L1, B7-H4, VISTA, IDO, CD68 E CD163.

Obtiveram resultados de expressão de CD68, CD163 e CD206 alta no tecido do tumor, e essa alta expressão foi associada diretamente com a expressão de IFIT1 e IFITM3. Os autores também apresentam que as altas expressão de IFIT1 e IFITM3 podem ser correlacionadas com baixa sobrevida do paciente quando comparadas com baixas expressões.

Também aferem que o CD163 indica um prognóstico ruim a pacientes em diversos tipos de câncer, tendo relação com outros estudos que apontam a relação entre MATs e as ISGs. Então, os autores acreditam que o IFIT1 e o IFITM3 podem ser utilizados como biomarcador de prognóstico ruim em pacientes com CECP.

Por fim, sugerem que o IFIT1 e IFITM3 podem ser usados como marcadores em pacientes com CECP e a sua correção entre os demais marcadores (PD-L1, B7H4, VISTA, IDO CD68, CD163 e CD206) apresenta um potencial papel na supressão imunológica.

#### **Artigo 5. Prognostic Role of Tumor-Infiltrating Lymphocytes and Tumor Budding in Early Oral Tongue Carcinoma. – HORI et al., 2021.**

Hori e colaboradores (2021) tiveram como objetivo observar células inflamatória, TILs nos estágios iniciais de câncer de boca para verificar os estados antes e depois da metástase microscópica.

Ao todo, 62 amostras foram utilizadas nesse estudo com amostras parafinadas, foram analisadas pelo ensaio de imuno-histoquímica e marcadas com pancitoqueratina, CD4, CD8, FOXP3, CD163 e CD45RO.

No estudo, os autores identificaram que o CD163 apresentou-se o marcador mais evidente para prognóstico ruim em RC (regional control) e DFS (disease-free survival). Assim então, eles consideram que os macrófagos com fenótipo M2 apresentam potencial para ser um novo marcador para câncer em estágios iniciais e consistentemente em estágios avançados.

Ainda como conclusão, o estudo mostrou que a expressão CD163 foi um marcador de prognóstico ruim em RC e DFS, e a combinação de TB (Tumor Budding) e CD163+ pode ser um novo marcador de prognóstico para recorrências regionais em câncer de boca.

**Artigo 6. Oral Squamous Cell Carcinoma contributes to differentiation of monocyte-derived tumor-associated macrophages via PAI-1 and IL-8 Production. – KAI et al., 2021.**

Kai e colaboradores (2021) investigaram os fatores da diferenciação de monócitos para MATs em câncer de boca.

Utilizaram 30 amostras parafinadas e os marcadores escolhidos para a imunohistoquímica foram o CD163, CD204, CD206 e PAI-1.

Detectaram uma expressão de CD163 e CD206 alta nos arredores do tumor e no estroma tumoral. Já o CD204 foi mais encontrado ao redor do tumor. Além disso, os autores aferem que a alta expressão do CD206 está correlacionada com o prognóstico ruim.

Durante o estudo, eles demonstraram que as células do microambiente tumoral realizam a diferenciação de monócitos para células MAT CD206 via produção de PAI-1 e IL-8. Além disso, os números de IL-8 e PAI-1 estão associados à taxa de sobrevivência livre de progressão.

Ainda concluem que os subconjuntos de MAT e sua distribuição no câncer de boca podem levar a identificação de um marcador para MAT e um eventual desenvolvimento de novas estratégias farmacológicas como forma de interromper a interação entre as células cancerígenas e as MAT, inibindo assim a progressão do tumor.

**Artigo 7. OSCC cell-secreted exosomal CMTM6 induced M2-like macrophages polarization via ERK1/2 signaling pathway. – PANG et al., 2021.**

Pang e colaboradores (2021) verificaram a expressão de CMTM6 associadas a infiltração de macrófagos CD163+ em câncer de boca.

Realizaram o estudo em 45 amostras parafinadas e para o ensaio de imunohistoquímica utilizaram marcadores de CMTM6, CD163 e PD-L1.

Obtiveram um resultado relevante com o CD163+, em que estão mais expressos no estroma do tumor e com uma expressão parcial no epitélio. Outro resultado importante foi a detecção de uma correlação na expressão de CD163 e CMTM6. Observaram que maior expressão de CD163 foi detectada em amostras positivas para CMTM6, em comparação a amostras negativas de CMTM6.

Sendo assim, o estudo indica que a alta expressão de CMTM6 é um indicativo de características clinico-patológicas ruins, além de ter uma relação direta com a infiltração de CD163 e PD-L1. Concluíram também que o CMTM6 secretado por células cancerígenas induz a polarização de macrófagos do tipo M2 através da via de sinalização ERK1/2 para contribuir para a progressão maligna.

**Artigo 8. ARG1 mRNA Level is a Promising Prognostic Marker in Head and Neck Squamous Cell Carcinomas. – POKRÝVKOVÁ et al., 2021.**

Pokrývková e colaboradores (2021) realizaram um estudo com o objetivo de analisar os níveis de distribuição das subpopulações M1 e M2 de MATs em CECP de diferentes localizações.

Para isso, utilizaram-se 73 amostras de pacientes com CECP primário de cavidade oral ou orofaríngea. Para análise imuno-histoquímica foram utilizados os marcadores CD68, CD80 e CD163 (M1 e M2), ARG1, Citoqueratina e DAPI.

O estudo encontrou altos níveis de M1 e M2 no estroma do tumor. Foi encontrado uma maior infiltração de CD163 no estroma do tumor do que no parênquima tanto em pacientes com HPV + e com HPV -. Os tumores de pacientes com HPV- foram mais infiltrados por M2 e ARG1 se comparado com os HPV+. Além disso, a maior infiltração de CD163+ no estroma já foi descrita antes e relacionada à pior sobrevida dos pacientes.

Por fim, os autores deixam claro na discussão a importância da Imuno-histoquímica, sendo ela uma poderosa ferramenta para a análise de células imunes em tecidos tumorais, além disso, apresentam uma interpretação que o HPV+ é um forte marcador para bons prognósticos. Então, eles consideram os altos níveis de ARG1 mRNA um potencial novo fator de prognóstico para pacientes com CECP.

### **5.3. Tabela comparativa**

Posteriormente à extração dos dados e seleção dos artigos, os mesmos foram correlacionados e organizados em uma tabela (**Tabela 1**) descritiva a fim de apresentar com mais clareza os dados relevantes para a compreensão e construção da revisão sistemática.

**Tabela 1.** Tabela com os artigos utilizados, apresentando pontos de interesse como metodologia (clone e macrófagos), resultados (positividade de expressão) e principais conclusões apontadas pelos autores dos artigos utilizados. (continua)

<b>Autor</b>	<b>Ano</b>	<b>Local</b>	<b>Quantidade de amostra</b>	<b>Marcadores e Clones</b>	<b>Efetividade de marcadores</b>	<b>Conclusão</b>
Balermipas et al.	2014	Frankfurt, Alemanha	106 amostras	CD68 CD163 CD11b	CD68 e CD163 para tumores primários. CD11b para tumores recorrentes.	Alta expressão de CD68 e CD163 é associado com prognóstico ruim e por consequência baixa sobrevida.
He et al.	2014	Wuhan, China	43 amostras	CD68 (ZM-0464) CD163 (CWP107-1)	CD68 e CD163 para tumores primários.	A expressão dos marcadores CD68 e CD163 foram relacionados com sobrevivência do paciente, fatores de prognóstico e agressividade do tumor.
Gao et al.	2018	Wuhan, China	56 amostras	CD68 (17832) CD163 (333715)	CD68 e CD163 para tumores primários.	Foi fornecido evidências que as MATs podem induzir a transição epitélio mesenquimal de CECF, acarretando assim, no comportamento mais agressivo do câncer, além de que, a alta infiltração dos macrófagos indica e pode ser utilizado como mal prognostico em CECF.
Li et al.	2020	Wuhan, China	275 amostras	CD68 CD163 CD206	CD68, CD163 e CD206 foi efetivo no tumor, de forma geral.	Os marcadores CD68, CD163 e CD206 tiveram uma alta expressão no tecido do tumor. Essa alta expressão está associada também com a alta

## Resultados

						expressão de IFIT1 e IFITM3, sendo eles um potencial biomarcador para prognóstico em pacientes com CECp. Além disso, o CD206 apresenta um potencial papel na supressão imunológica.
Hori et al.	2021	Kanagawa, Japão	62 amostras	CD163 (10D6)	CD163 foi efetivo em tumor primário e em recorrências.	O CD163 mostrou que sua alta expressão foi um marcador de prognóstico ruim tanto em estágios iniciais como em estágios avançados. Além disso, a sua combinação com TB pode ser um novo marcador de prognóstico para recorrências regionais em câncer de boca.
Kai et al.	2021	Kyushu, Japão	30 amostras	CD163 (10D6/Novo Castra) CD204 CD206	CD163, CD204 e CD206 foram efetivos em tumores primários.	CD206 foi o mais correlacionado com prognóstico ruim. Além disso, é concluído que o subconjunto de MAT e a descoberta de seus marcadores pode desenvolver novas estratégias farmacológicas, como forma de inibir a interação entre células cancerígenas e as MAT, assim, inibindo a progressão do tumor.
Pang et al.	2021	Sichuan, China	45 amostras	CD163	CD163 foi efetivo em tumor primário.	Teve alta expressão de CD163 no estroma do tumor. Além disso, encontrou a relação de CD163 com amostras positivas de CMTM6, o que indica o prognóstico ruim e a progressão maligna.

Pokřívková et al.	2021	Praga, Republica Checa.	73 amostras	CD68 CD80 CD163	CD163 e CD68 foi efetivo em tumor primário.	Alta expressão de CD163 no estroma do tumor, além disso, o que prediz um prognóstico ruim, além disso, a enzima catalizadora de macrófagos ARG1 também pode ser utilizada como um novo fator de prognóstico em pacientes com CECF devido a sua alta expressão juntamente com os marcadores de macrófagos.
----------------------	------	-------------------------------	-------------	-----------------------	---	---

**Tabela 1.** Tabela com os artigos utilizados, apresentando pontos de interesse como metodologia (clone e macrófagos), resultados (positividade de expressão) e principais conclusões apontadas pelos autores. (conclusão)

### 5.3. Risco de Viés

Os artigos selecionados para a revisão sistemática foram submetidos à avaliação minuciosa pelos autores, visando diminuir o viés de confirmação do trabalho. Com onze questões podendo ser respondidas com “sim”, “não”, “não claro” e “não aplicável” para avaliar a porcentagem de risco de viés dos artigos. Sendo as questões: 1 - A pergunta de revisão está clara e explicitamente declarada?; 2 - Os critérios de inclusão foram adequados para a questão de revisão?; 3 - A estratégia de busca foi adequada?; 4 - As fontes e recursos utilizados para a busca dos estudos foram adequados?; 5 - Os critérios de avaliação dos estudos foram adequados?; 6 - A avaliação crítica foi realizada por dois ou mais revisores de forma independente?; 7 - Havia métodos para minimizar erros na extração de dados?; 8 - Os métodos usados para combinar os estudos foram adequados?; 9 - A probabilidade de viés de publicação foi avaliada?; 10 - As recomendações para políticas e/ou práticas foram apoiadas pelos dados relatados?; 11 - As diretrizes específicas para novas pesquisas foram adequadas?.

Após esta avaliação foi possível realizar a síntese e interpretação dos resultados do estudo, podendo serem classificadas como “alto risco de viés” quando a proporção for 49% e abaixo, “moderado risco de viés” entre 50% a 69% e “baixo risco de viés” se alcançar 70% ou mais de proporção. Segue tabela (tabela 2) apresentando o resultado da ferramenta, apresentando um total de 87% com raque baixo risco de viés.

**Tabela 2.** Tabela apresentando o uso da ferramenta de análise de viés para averiguar a situação de risco de viés. Respostas representadas por S (Sim), N (Não), NC (Não claro) e X (Não aplicável). (continua)

<b>Autores</b>	<b>Q1</b>	<b>Q2</b>	<b>Q3</b>	<b>Q4</b>	<b>Q5</b>	<b>Q6</b>	<b>Q7</b>	<b>Q8</b>	<b>Q9</b>	<b>Q10</b>	<b>Q11</b>	<b>%</b>	<b>Ranque</b>
Balermipas et al., 2014	S	S	S	NC	S	S	S	S	S	S	S	90	Baixo
He et al., 2014	S	S	S	S	S	S	S	NC	S	S	S	90	Baixo
Gao et al., 2018	S	S	S	S	S	S	S	NC	S	S	S	90	Baixo
Li et al., 2020	S	S	S	NC	N	S	S	S	S	S	NC	73	Baixo

Hori et al., 2021	S	S	S	S	NC	S	S	S	NC	S	S	82	Baixo
Kai et al., 2021	S	S	S	S	N	S	S	NC	S	S	S	82	Baixo
Pang et al., 2021	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	100	Baixo
Pokřývková et al., 2021	S	S	S	S	S	S	S	N	S	S	S	90	Baixo
<b>87%</b>													

**Tabela 2.** Tabela apresentando o uso da ferramenta de análise de viés para averiguar a situação de risco de viés. Respostas representadas por S (Sim), N (Não), NC (Não claro) e X (Não aplicável). (conclusão)



## **6 DISCUSSÃO**

---

## 6 DISCUSSÃO

É evidente a importância do estudo dos mecanismos biológicos relacionados ao processo de metástase, tanto para uma melhor abordagem terapêutica quanto para melhor previsão do prognóstico clínico, almejando maior sobrevida do paciente. Estudos recentes apontam e comparam os marcadores representativos de células tumorais e de MATs, isoladamente e em conjunto, em tumores primários de diferentes localidades e linfonodos metastáticos correspondentes, reiterando assim, a importância do estudo desse conceito em relação à resposta terapêutica, invasividade e prognóstico (NOGAMI et al., 2014; ORTIZ et al., 2018; SUN et al., 2018).

Estudos indicam que o prognóstico ruim em CECP está intimamente relacionado a macrófagos e que a intensidade de ocorrência e sua infiltração pode ser utilizado como material de estudo de prognóstico (JI et al., 2014; PANG et al., 2020). Foi investigado recentemente a interação entre monócitos e células tumorais e foi evidenciado que estas células conseguem recrutar esses monócitos e principalmente diferenciá-los em macrófagos do tipo M1 e M2, e que esse evento promoveu agressividade tumoral (GAO et al., 2016). Com isso, pode-se evidenciar a importância do sistema imunológico na vigilância do câncer, tanto na progressão quanto na tumorigênese (LI et al., 2020).

Com esse recrutamento de monócitos através do microambiente tumoral, os macrófagos associados ao tumor podem ser apontados como cruciais em tumores, no geral. Estudos apontam que a quantidade e a distribuição de MATs podem ser correlacionados a fatores promotores do câncer, assim como invasividade e supressão tumoral e acarretando em metástases distais, prognóstico ruim e redução de sobrevida (YANG et al., 2019; LI et al., 2020; PANG et al., 2020; KAI et al., 2021). Como destaque entre os MATs, os macrófagos com fenótipo do tipo M1 são referenciados com ação antitumoral e os de fenótipo M2 como promotores de tumores e dentre esses, apontam destaque para alguns marcadores imuno-histoquímicos para ativação de MATs, como o CD163, CD204 e CD206 que são marcadores de M2 (KAI et al., 2021). O CD163 é o mais comumente utilizado e expresso principalmente em macrófagos de tecidos maduros e infiltrados destes em tecidos inflamatórios estão correlacionados na resposta e resolução inflamatória (KOMOHARA et al., 2013). Além disso, esse marcador é relevante quando na análise da atividade de macrófagos na

doença inflamatória (KOMOHARA et al., 2013). Também relevante dar destaque para o CD204, uma vez que é expresso principalmente em macrófagos e células dendríticas, e são relacionados a supressão da resposta inflamatória. O estudo de Kubota e colaboradores (2017) apontou que MATs com marcação positiva para CD163 e CD204 promoveu a invasão e metástase de câncer de boca. Outro marcador de relevância é o CD206, que desempenha papel importante na homeostase imunológica e é expresso principalmente por macrófagos teciduais, células dendríticas, linfáticas ou endoteliais, e foram detectados no microambiente tumoral (AZAD et al., 2014). Ele é associado intimamente a adenocarcinoma de próstata, sendo correlacionado com prognóstico ruim nesses casos (HU et al., 2015).

Os esforços na busca pela elucidação dos mecanismos do microambiente tumoral na progressão tumoral podem acarretar em avanços na terapia do câncer, como a interpretação de mecanismos imunológicos, a imunossupressão de MATs e citocinas e a identificação de novos biomarcadores para prognósticos são conquistas para uma melhor terapia contra o câncer (GILDENER-LEAPMAN et al., 2013; YANG et al., 2019; HORI et al., 2021).

Como parte essencial do presente estudo, todas amostras de câncer foram de CECP, porém foi observado uma amostragem variada quanto aos marcadores de macrófagos. Utilizaram variados marcadores de MATs com ambos fenótipos, sendo eles o CD68, CD163, CD11b, CD80, CD204, CD206. Todos os artigos utilizaram marcadores para os macrófagos de fenótipo M2, porém apenas três artigos não utilizaram qualquer marcador de M1, um motivo para essa decisão pode ser a constatação pelos autores de que marcadores M2 são relacionados com altas taxas de infiltração, tumorigênese, displasia epitelial e também com agressividade tumoral (MORI et al., 2015; KUBOTA et al., 2017; HORI et al., 2021; POKRÝVKOVÁ et al., 2021). Outro resultado apontado pela maioria dos artigos é a validação do marcador M2 como eficiente na relação de predição de prognóstico ruim (BALERMPAS et al. 2014; GAO et al., 2018; LI et al., 2019; KAI et al., 2021), tendo apenas dois artigos apontando os marcadores de M1 também eficientes (BALERMPAS et al., 2014; HE et al., 2014). Importante ressaltar que os tumores sempre apresentam infiltração de M1 e M2, porém o segundo é correlacionado com agravamentos da doença, uma vez que produzem citocinas imunossupressoras (IL-10 e ARG1) (PANG et al., 2021; POKRÝVKOVÁ et al., 2021).

Sobre os marcadores M1, Balermipas e colaboradores (2014) e He e colaboradores (2014) apontam a eficácia do uso do CD68 para detectar prognóstico ruim e agressividade tumoral, porém associam o uso dele com o CD163 (fenótipo M2). Durante a discussão dos estudos, os autores evidenciam ainda que a alta infiltração de CD163 pode ser o principal marcador para prever prognóstico ruim em tumores primários quando comparados com baixa infiltração de MATs. Em contrapartida o Pokrývková e colaboradores (2021) apontam que o uso do CD68 é insuficiente, necessitando marcadores complementares, devido ao fato deles serem pan-macrófagos (características M1 e M2). Quanto aos marcadores de M2, o mais comum e também eficiente, tem-se o CD163. Outros marcadores de M2 foram utilizados apresentando eficácia, como o CD204 (KAI et al., 2021) e CD206 (LI et al., 2020; KAI et al., 2021). Dentre as conclusões dos artigos, apenas o Kai e colaboradores (2021) indicaram que o CD206 isoladamente pode ser correlacionado com prognóstico ruim, enquanto todos os outros indicaram o CD163 como o mais eficiente.

Para análise das expressões e correlações entre macrófagos e outros fatores do microambiente tumoral, os autores utilizam variadas metodologias. Fazem uso de análises semi-quantitativas em diferentes partes dos tumores, análise de Pearson para correlações e Kaplan-Meyer para verificar significância amostral (GAO et al., 2018; KAI et al., 2021). Quanto às análises de prognóstico, utilizam parâmetros de sobrevida geral conforme a expressividade tumoral em amostras de tumores primários e quando no caso de recorrência estimam a sobrevida livre de doenças (BALERMPAS et al., 2014; HE et al., 2014; HORI et al., 2021; PANG et al., 2021; POKRÝVKOVÁ et al., 2021).

Quanto às amostras de tumores que foram utilizados para os estudos, todos os artigos utilizaram tumores primários. Porém, alguns autores realizaram comparação de amostras primárias com amostras recorrentes (BALERMPAS et al., 2014; LI et al., 2020; HORI et al., 2021) e após tratamento de radioterapia e quimioterapia (BALERMPAS et al., 2014; LI et al., 2020). Os autores realizaram estudo imuno-histoquímico nas amostras de câncer analisando em quais regiões foram mais detectados os marcadores de MATs, e identificaram o estroma como a região mais infiltrada pelos macrófagos em geral. Os artigos que utilizaram amostras recorrentes e/ou após algum tratamento, também detectaram alta infiltração por macrófagos em ambos casos, como no artigo do Balermipas e colaboradores (2014). Neste estudo, os tecidos primários detectaram expressão positiva e correlação com sobrevida para

CD68 e CD163, porém nos tecidos recorrentes e com tratamento não apresentaram alteração significativa dos mesmos, entretanto o CD11b, que não apresentou significância nos tumores primários, teve alteração significativa nos tecidos recorrentes com tratamento (BALERMPAS et al., 2014). Ainda sobre recorrência, o artigo do Hori e colaboradores (2021), estuda a situação do macrófago M2 (CD163) em tumores primários e brotamento tumoral com linfonodos metastáticos, e apontam que a combinação de brotamento e a expressão de CD163 possam ser um preditor de metástase oculta no linfonodo. Sendo assim, os autores apresentam que essa situação é correlacionada com prognóstico ruim, devido às altas taxas de macrófagos do tipo M1 e M2 (principalmente M2 com CD163) nesses locais, pois indica que os macrófagos são componentes celulares primários no estroma tumoral do CECP (GAO et al., 2018; POKRÝVKOVA et al., 2021). Por fim, a localização dos MATs no microambiente tumoral é crucial, e variados estudos com outros tipos de câncer apresentaram as mesmas situações, como no trabalho de Medrek e colaboradores (2012) avaliando infiltração de macrófagos M2 (CD163) em carcinoma de mama feminino, em que observaram que a maior infiltração de macrófagos no estroma é correlacionado com pior prognóstico e baixa sobrevida. Esses achados corroboram o estudo de Hu e colaboradores (2017) em amostras de carcinoma de esôfago, que também detectaram grande infiltração de MATs CD163 no estroma, sendo possível correlacionar com baixa sobrevida. Porém, em amostras de carcinoma colorretal, a maior infiltração no estroma de MATs M2 não surtiu nenhum efeito na sobrevida dos pacientes (EDIN et al., 2012). Por fim, independentemente da etiologia do tumor, pode-se observar que o estroma geralmente é mais infiltrado por macrófagos (M1 e M2) do que o parênquima tumoral (POKRÝVKOVÁ et al., 2021).

Um ponto importante a ser apresentado é o estudo de correlação dos macrófagos com outros fatores ligados ao microambiente tumoral. Todos os autores realizaram variadas análises, como imuno-histoquímica, co-cultura, RT-qPCR, citometria, imunofluorescência entre outras metodologias. Como o foco deste trabalho foram as análises dos achados de imuno-histoquímica com os marcadores de macrófagos e sua utilização como preditor de prognóstico, é interessante observar os casos de correlação dos mesmos com outros fatores, a fim de ampliar a interpretação para uma melhor compreensão do microambiente tumoral e suas influências. Como por exemplo, o artigo de He e colaboradores (2014) que utilizaram marcadores conhecidos de células tronco tumorais, ALDH1, CD44 e SOX2 (relacionados a

progressão tumoral e prognóstico ruim) em comparação com MATs CD68 e CD163. Quando correlacionaram os resultados das células tronco tumorais com os MATs, observaram que o CD68 teve relação íntima com SOX2 e ALDH1, enquanto o CD163 foram mais fortemente associados com SOX2, ALDH1 e CD68; então, os autores concluíram que os macrófagos são associados com a expressão das células tronco tumorais responsáveis pela progressão tumoral e baixa sobrevida. Outro exemplo relevante que pode ser apontado é o estudo de CECF com papilomavírus humano (HPV), em que Pokrývková e colaboradores (2021) analisaram a expressão de MATs (CD68, CD80 e CD163) com a expressão da enzima de M2 ARG1 (Arginase 1, modulação de M2) em amostras de tumores primários com e sem HPV+. Detectaram assim a expressão de macrófagos no parênquima e no estroma das amostras com HPV- e HPV+, porém o estroma apresentou os maiores índices de infiltração para ambos os casos. Por fim, os autores correlacionam os achados, apresentando que em HPV- foi detectado maior número de infiltrados de M2 (CD163) e da ARG1 do que em amostras de HPV+ e concluem pontos relevantes para novas pesquisas, como HPV+ pode ser um preditor de sobrevivência e prognóstico bom pois em amostras destes com M2 não foi evidenciado baixa sobrevida. Em contrapartida, quando trata-se de sobrevida livre de progressão a grande presença de M2 CD163 em tumores com HPV- pode ser um preditor de prognóstico ruim (POKRÝVKOVÁ et al., 2021).

Para realizar esta presente pesquisa, foi necessário a leitura de diversos artigos, como descrito nos resultados acima. Os artigos são ótimos, com motivações evidentes, análises satisfatórias com conclusões elucidativas e publicados em revistas de renome no meio científico. Porém, alguns poucos artigos não apresentam informações relevantes para a reprodutibilidade, principalmente na metodologia de imuno-histoquímica, em que, geralmente a informação que falta é o clone utilizado ou empresa que adquiriu o produto (BALERMPAS et al., 2014; LI et al., 2018). Em artigos mais antigos nos deparamos com a descontinuidade do produto, porém nesses casos nada pode ser feito.

Entre os artigos que foram selecionados para a leitura completa de texto das bases de dados descritas nos resultados acima, alguns não foram incluídos na revisão por variados motivos. Dentre eles, artigos que utilizaram outros fatores no microambiente tumoral, que não fosse macrófagos, para análise de prognóstico ou infiltração do tumor e apenas nas discussões correlacionam com macrófagos de alguma forma, como no artigo de Xiao e colaboradores (2019) que realizaram a

pesquisa em células dendríticas e apenas no final fazem uma correlação. Ainda foram encontrados artigos que utilizaram macrófagos para comparar e associar a infiltração de células dendríticas no processo de angiogênese (STASIKOWSKA-KANICKA et al., 2017). Outro exemplo interessante são os artigos sobre Leucoplasia Oral (LO), uma condição na qual manchas brancas ou lesões brancas e espessas se manifestam na mucosa oral, tendo caráter potencialmente maligno e que podem ser ocasionadas pelo tabagismo. Autores utilizaram amostras de leucoplasia oral e realizaram a marcação por imuno-histoquímica de marcadores de MATs M2 (CD136, CD204 e CD206) nessas amostras para avaliar a situação de infiltração destes em LO. Observaram que as amostras apresentaram alto nível de reação por CD163 e um pouco de CD206. Concluem que a expressão de CD163 é intimamente relacionada com fatores clinicopatológicos piores dos pacientes; portanto, o CD163 pode desempenhar fatores importantes na imunossupressão e que abordagens terapêuticas podem ser estabelecidas perante o resultado deles para LO (SHIGEOKA et al., 2019).

Em resumo, fica evidente a importância do estudo de macrófagos associados ao tumor em geral e principalmente em CECP, uma vez que é extremamente evidenciado nos variados artigos a relação destes macrófagos no microambiente tumoral agravando a resposta inflamatória imunossuprimindo o mesmo. Portanto, os MATs são associados ao comportamento agressivo, com características tumorigênicas e contribuindo para a angiogênese. Outras formas de pesquisas sobre MATs e microambiente tumoral em CECP se mostram necessárias e essenciais, pois uma forma de prever características agressivas que podem ocasionar progressão tumoral e fatores que acarretam em baixa sobrevida são extremamente importantes para a população em geral e principalmente com biomarcadores capazes de identificar e avaliar prognósticos ruins de forma menos invasiva, mais rápida e eficaz.

## **7 CONCLUSÕES**

---



## 7 CONCLUSÕES

É possível inferir, após as análises dos artigos mencionados acima relacionando macrófagos associados ao tumor e microambiente tumoral de câncer de cabeça e pescoço, que os marcadores de macrófagos com fenótipo M2 foram fortemente expressos em estromas tumorais. Isto esteve relacionado com prognóstico ruim, pois evidencia que esses macrófagos com características de promotores de proliferação e invasão de células tumorais, além de promoverem angiogênese e metástase tumoral, são componentes celulares primários no estroma tumoral de CECP. Os marcadores de MATs com fenótipo M1 (principalmente CD68) são detectados em tecidos tumorais, mas são insuficientes quando analisados individualmente; em complemento com os M2 podem ser ferramentas válidas. Conclui-se, portanto, que o fenótipo M2, tanto CD163+ quanto CD206+, é ótimo preditor de prognóstico ruim, , embora o marcador CD163 tenha sido o mais utilizado e com os resultados mais relevantes para futuros estudos.

## **8 REFERENCIAS**

---

## 8. REFERÊNCIAS

- ALVEZ, A, M. et al. Macrophages and prognosis of oral squamous cell carcinoma. **J Oral Pathol Med.** v 47, n 5, p 460-467, 2018. DOI 10.1097/JTO.0b013e3181eba692
- ANNAMALAI, R, T. et al. Harnessing macrophage-mediated degradation of gelatin microspheres for spatiotemporal control of BMP2 release. **Biomaterials.** v 161, p 216–27, 2018. DOI 10.1016/j.biomaterials.2018.01.040
- ARNOLD, C, E. et al. A critical role for suppressor of cytokine signalling 3 in promoting M1 macrophage activation and function in vitro and in vivo. **Immunology.** p 141 96, 2014. DOI 110.10.1111/imm.12173
- AROMATARIS, E. et al. Summarizing systematic reviews: methodological development, conduct and reporting of an umbrella review approach. **Int J Evid Based Healthc.** v 13, n 3, p 132-40. DOI 10.1097/XEB.0000000000000055
- AROMATARIS, E; PEARSON, A. The systematic review: an overview. **AJN. Am J Nurs.** v 114, n 3, p 53-8, 2014. DOI 10.1097/01.NAJ.0000444496.24228.2c
- AZAD, A, K. et al. Exploitation of the Macrophages Mannose Receptor (CD206) in Infectious Disease Diagnostic and Therapeutics. **J Cytol Mol Biol.** v 10, n 1, 1000003, 2014. DOI 10.13188/2325-4653.1000003
- BALERMPAS, P. et al. Head and neck cancer relapse after chemoradiotherapy correlates with CD163+ macrophages in primary tumour and CD11b+ myeloid cells in recurrences. **Br J Cancer.** v 111, n 8, p 1509-18, 2014. DOI 10.1038/bjc.2014.446
- BALKWILL, F. et al. The tumor microenvironment at a glance. **J Cell Sci.** v 125, p 5591-6, 2012. DOI 10.1242/jcs.116392
- BASTIAN, H. et al. Seventy-five trials and eleven systematic reviews a day: how will we ever keep up? **PLoS Med.** v 7, n 9, e1000326, 2010. DOI 10.1371/journal.pmed.1000326
- BINNEWIES, M. et al. Understanding the tumor immune microenvironment (TIME) for effective therapy. **Nat Med.** v 24, n 5, p 541-550, 2018. DOI 10.1038/s41591-018-0014-x
- BÔAS, D, S, V. et al. Tumor-Infiltrating macrophage and microvessel density in oral squamous cell carcinoma. **Braz Dent J.** v 24, n 3, p 194-9, 2013. DOI 10.1590/0103-6440201302049
- BRAY, F. et al. The ever-increasing importance of cancer as a leading cause of premature death worldwide. **Cancer.** v 127, n 16, p 3029-3030, 2021. DOI <https://doi.org/10.1002/cncr.33587>

BRUNS, H. et al. Vitamin D-dependent induction of cathelicidin in human macrophages results in cytotoxicity against high-grade B cell lymphoma. **Sci Transl Med.** v 7, n 282, e 282ra47, 2015. DOI 10.1126/scitranslmed.aaa3230

CALIFANO, J. et al. Genetic progression model for head and neck cancer: implications for field cancerization. **Cancer Res.** v 56, p 2488–2492, 1996. PMID: 8653682

CASSETA, L; POLLARD, J, W. Targeting macrophages therapeutic approaches in cancer. **Nat Rev Drug Discov.** v 17, n 12, p 887-904, 2018. DOI 10.1038/nrd.2018.169

CHAFFER, C, L. EMT, cell plasticity and metastasis. **Cancer Metastasis Rev.** v 35, n 4, p 645-54, 2016. DOI 10.1007/s10555-016-9648-7

CHAWLA, H. et al. Association of Macrophages With Angiogenesis in Oral Epithelial Dysplasia, Oral Verrucous Carcinoma, and Oral Squamous Cell Carcinoma: An Immunohistochemical Study. **Appl Immunohistochem Mol Morphol.** v 25, n 3, p 203-208, 2017. DOI 10.1097/PAI.0000000000000284

CHEN, D; MELLMAN, I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle. **Immunity.** v, 39, n 1, p 1-10, 2013. DOI 10.1016/j.immuni.2013.07.012

DONGRE, A; WEINBERG, R, A. New insights into the mechanisms of epithelial mesenchymal transition and implications for cancer. **Nat Rev Mol Cell Biol.** v 20, n 2, p 69–84. DOI 10.1038/s41580-018-0080-4

EDIN, S. et al. The distribution of macrophages with a M1 or M2 phenotype in relation to prognosis and the molecular characteristics of colorectal cancer. **PLoS One.** v 7, n 10, e47045, 2012. DOI 10.1371/journal.pone.0047045

EVARD, D. et al. Macrophages in the microenvironment of head and neck cancer: potential targets for cancer therapy. **Oral Oncol.** v 88, p 29-38, 2019. DOI 10.1016/j.oraloncology.2018.10.040

FANG, J. et al. Prognostic significance of tumor infiltrating immune cells in oral squamous cell carcinoma. **BMC Cancer** v 71, n 1, p 375, 2017. DOI 10.1186/s12885-017-3317-2

FRANKLIN, R, A. et al. The cellular and molecular origin of tumor-associated macrophages. **Science.** v 344, n 6186, p 921-5, 2014. DOI 10.1126/science.1252510

GAO, L. et al. CCL2/EGF positive feedback loop between cancer cells and macrophages promotes cell migration and invasion in head and neck squamous cell carcinoma. **Oncotarget.** v 7, n 52, p 87037-87051, 2016. DOI [10.18632/oncotarget.13523](https://doi.org/10.18632/oncotarget.13523)

GAO, L. et al. Tumor associated macrophages induce epithelial to mesenchymal transition vi EGFR/ERK1/2 pathway in head and neck squamous cell carcinoma. **Oncol Rep.** v 40, n 5, p 2558-2572, 2018. DOI 10.3892/or.2018.6657

GILDENER-LEAPMAN, N; BAUMAN, R, L, F, J. Promising Systemic immunotherapies in head and neck squamous cell carcinoma. **Oral Oncol.** v 49, n 12, p 1089-96, 2013. DOI 10.1016/j.oraloncology.2013.09.009

GRIVENNIKOV, S, I. et al. Adenoma-linked barrier defects and microbial products drive IL-23/IL-17-mediated tumour growth. **Nature.** v 491, n 7423, p 254–8, 2012. DOI 10.1038/nature11465

HANNIFA, M. et al. Human skin dendritic cells in health and disease. **J Dermatol Sci.** v 77, n 2, p 85-92, 2015. DOI 10.1016/j.jdermsci.2014.08.012

HAO, S. et al. Macrophage phenotypic mechanomodulation of enhancing bone regeneration by superparamagnetic scaffold upon magnetization. **Biomaterials.** v 140, p 16-25, 2017. DOI 10.1016/j.biomaterials.2017.06.013

HE, K. et al. CD163+ tumor-associated macrophages correlated with poor prognosis and cancer stem cells in oral squamous cell carcinoma. **Biomed Res Int.** 838632, 2014. DOI 10.1155/2014/838632

HENZE, A, T; MAZZONE M. The impact of hypoxia on tumor-associated macrophages. **J Clin Invest.** v 126, n 10, p 3672–9, 2016. DOI 10.1172/JCI84427

HIGGINS, J; GREEN, S. **Cochrane handbook for systematic reviews of interventions.** Version 5.1.0 ed: The Cochrane Collaboration, 2011.

HORI, Y. et al. Prognostic Role of Tumor-Infiltrating Lymphocytes and Tumor Budding in Early Oral Tongue Carcinoma. **Laryngoscope.** v 131, n 11, p 2512-2518, 2021. DOI 10.1002/lary.29589

HU, J, M. et al. CD163 as a marker of M2 macrophage, contribute to predict aggressiveness and prognosis of Kazakh esophageal squamous cell carcinoma. **Oncotarget.** v 8, n 13, p 21526-21538, 2017. DOI 10.18632/oncotarget.15630

HU, W. et al. Alternatively activated macrophages are associated with metastasis and poor prognosis in prostate adenocarcinoma. **Oncol Lett.** v 10, n 3, p 1390-1396, 2015. DOI 10.3892/ol.2015.3400

IARC – International Agency for Research on Cancer. **Global Cancer Observatory: Cancer Tomorrow.** France, 2022. Disponível em: <https://gco.iarc.fr/>

INCA – Instituto Nacional de Câncer. **Estatísticas de Prevenção.** INCA, Rio de Janeiro, 2022. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/numeros-de-cancer>

INCA – Instituto Nacional do Câncer. **Estimativa 2020: Incidência de Câncer no Brasil.** INCA, 2020. Disponível em:

<https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files/media/document/estimativa-2020-incidencia-de-cancer-no-brasil.pdf>

JETTEN, N. et al. Anti-inflammatory M2, but pro-inflammatory M1 macrophages promote angiogenesis in vivo. **Angiogenesis**. v 1, p 109-18, 2014. DOI 10.1007/s10456-013-9381-6

Jl, W. et al. Monocyte chemotactic protein 1 (MCP-1) modulates pro-survival signaling to promote progression of head and neck squamous cell carcinoma. **PLoS One**. v 9, n 2, e88952, 2014. DOI 10.1371/journal.pone.0088952

JOHNSON, D, E. et al. Head and Neck squamous cell carcinoma. **Nat Rev Dis Primers**. v 6, e 96, 2020. DOI <https://doi.org/10.1038/s41572-020-00224-3>

JORDAN, Z. et al. Now that we're here, where are we? The JBI approach to evidence-based healthcare 20 years on. **Int J Evid Based Healthc**. v 13, n 3, p 117-20, 2015. DOI 10.1097/XEB.0000000000000053

JUNQUEIRA, L, C, U; CARNEIRO, J. **Biologia Celular e Molecular**. 9ª Edição. Editora Guanabara Koogan. Rio de Janeiro, 331 p. 2017

KAI, K. et al. Oral Squamous Cell Carcinoma Contributes to Differentiation of Monocyte-Derived Tumor-Associated Macrophages via PAI-1 and IL-8 Production. **Int J Mol Sci**. v 22, n 17, 9475, 2021. DOI 10.3390/ijms22179475

KEDZIERSKA, K; CROWE, S, W. The role of monocytes and macrophages in the pathogenesis of HIV-1 infection. **Curr Med Chem**. v 9, n 21, p 1893-903, 2002. DOI 10.2174/0929867023368935

KIM, T, H. et al. Antiinflammatory actions of folate-functionalized bioactive ion-releasing nanoparticles imply drug-free nanotherapy of inflamed tissues. **Biomaterials**. v 207, p 23–38, 2019. DOI 10.1016/j.biomaterials.2019.03.034

KOMOHARA, Y. et al. Clinical significance of CD136+ tumor-associated macrophages in patients with adult T-cell leukemia/lymphoma. **Cancer Sci**. v 104, n 7, p 945-51, 2013. DOI 10.1111/cas.12167

KONG, L. et al. Deletion of interleukin-6 in monocytes/macrophages suppresses the initiation of hepatocellular carcinoma in mice. **J Exp Clin Cancer Res**. v 35, n 1, e 131, 2016. DOI 10.1186/s13046-016-0412-1

KUBOTA, K. et al. CD163+ CD204+ tumor-associated macrophages contribute to T cell regulation via interleukin-10 and PD-L1 production in oral squamous cell carcinoma. **Sci Rep**. v 7, 1755, 2017. DOI 10.1038/s41598-017-01661-z

LAOUI, D. et al. Tumor-associated macrophages in breast cancer: distinct subsets, distinct functions. **Int J Dev Biol**. v 55, n 7-9, p 861-7, 2011. DOI 10.1387/ijdb.113371dl

LI, H. et al. Expression and Prognostic Value of IFIT1 and IFITM3 in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. **Am J Clin Oncol**. v 153, n 5, p 618-629, 2020. DOI 10.1093/ajcp/aqz205

LIBERATI A. et al. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate healthcare interventions: explanation and elaboration. **BMJ (Clinical research ed)**. v 339, 2009. DOI 10.1371/journal.pmed.1000100

LIN, Y. et al. Tumor-Associated Macrophages in tumor metastasis: biological roles and clinical therapeutic applications. **J Hematol Oncol**. v 12, n 1, p 76, 2019. DOI 10.1186/s13045-019-0760-3

LIU, Y; CAO, X, T. The origin and function of tumor-associated macrophages. **Cell Mol Immunol**. v 12, n 1, 2015. DOI 10.1038/cmi.2014.83

MANDAL, R. et al. The head and neck cancer immune landscape and its immunotherapeutic implications. **JCI Insight**. v 1, e 89829, 2016. DOI 10.1172/jci.insight.89829

MEDREK, C. et al. The presence of tumor associated macrophages in tumor stroma as a prognostic marker for breast cancer patients. **BMC cancer**. v 12, 306, 2012. DOI 10.1186/1471-2407-12-306

MICHAUD, D, S. et al. High-risk HPV types and head and neck cancer. **Int J Cancer**. v 1, n 135, e 7, p 1653-1661, 2014. DOI 10.1002/ijc.28811

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Plano de ações estratégicas para o enfrentamento das doenças crônicas e agravos não transmissíveis no Brasil 2021-2030**. Brasília: Ministério da Saúde, 2020. 118 p. Disponível em: [https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/publicacoes-svs/doencas-cronicas-nao-transmissiveis-dcnt/09-plano-de-dant-2022\\_2030.pdf/](https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/publicacoes-svs/doencas-cronicas-nao-transmissiveis-dcnt/09-plano-de-dant-2022_2030.pdf/)

MORI, K. et al. Tumor-associated macrophages in oral premalignant lesions coexpress CD163 and STAT1 in Th1-dominated microenvironment. **BMC Cancer**. v 15, 573, 2015. DOI 10.1186/s12885-015-1587-0

MUNN, D, H; BRONTE, V. Immune suppressive mechanisms in the tumor microenvironment. **Curr Opin Immunol**. v 39, p 1-6, 2016. DOI 10.1016/j.coi.2015.10.009

MUNN, Z. et al. Systematic review or scoping review? Guidance for authors when choosing between a systematic or scoping review approach. **BMC Med Res Methodol**. v 18, n 1, 143, 2018. DOI 10.1186/s12874-018-0611-x

MUNN, Z. et al. What kind of systematic review should I conduct? A proposed typology and guidance for systematic reviewers in the medical and health sciences. **BMC Med Res Methodol**. v 18, n 1, p 5, 2018. DOI 10.1186/s12874-017-0468-4

MURRAY, P, J. Macrophage polarization. **Annu Rev Physiol.** v 79, p 541-66, 2017. DOI 10.1146/annurev-physiol-022516-034339

NCD Countdown 2030 collaborators. NCD Countdown 2030: pathways to achieving Sustainable Development Goal target 3.4. **Lancet.** v 369, e 10255, p 918-934, 2020. DOI 10.1016/S0140-6736(20)31761-X

NGAMBENJAWONG, C. et al. Synthesis and evaluation of multivalent M2pep peptides for targeting alternatively activated M2 macrophages. **J Control Release.** v 224, p 103-11, 2017. DOI 10.1016/j.jconrel.2015.12.057

NOGAMI, T. et al. Expression of ALDH1 in axillary lymph node metastases in a prognostic factor of poor clinical outcome in breast cancer patients with 1-3 lymph node metastases. **Breast Cancer.** v 21, n 1, p 58-65, 2014. DOI 10.1007/s12282-012-0350-5

OHTAKI, Y. et al. Stromal macrophage expressing CD204 is associated with tumor aggressiveness in lung adenocarcinoma. **J Thorac Oncol.** v 5, n 10, p 1507-15, 2010. DOI 10.1097/JTO.0b013e3181eba692

OMS – Organização Mundial da Saúde. **Global Health Estimates 2020: Deaths by Cause, Age, Sex, by Country and by Region, 2000-2019.** World Health Organization; 2020

OMS – Organização Mundial da Saúde. **Noncommunicable diseases.** OMS, 2021. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases>

ORTIZ, R. et al. CD44 and ALDH1 immunoeexpression as prognostic indicators of invasion and metastasis in oral squamous cell carcinoma. **J Oral Pathol Med.** v 47, n 8, p 740-747, 2018. DOI 10.1111/jop.12734

PAN, Y. Corrigendum: Tumor-Associated Macrophages in Tumor Immunity. **Front Immunol.** v 10, n 12, p 775758, 2021. DOI 10.3389/fimmu.2021.775758

PANG, X. et al. OSCC-cell secreted exosomal CMTM6 induced M2-like macrophages polarization via ERK1/2 signaling pathway. **Cancer Immunol Immunother.** v 70, n 4, p 1015-1029, 2021, DOI 10.1007/s00262-020-02741-2

PARTLOVA, S. et al. Distinct patterns of intratumoral immune cell infiltrates in patients with HPV-associated compared to non-virally induced head and neck squamous cell carcinoma. **Oncoimmunology.** v 4, e 965570, 2015. DOI 10.4161/21624011.2014.965570

PEARSON, A. Balancing the evidence: incorporating the synthesis of qualitative data into systematic reviews. **JBI Reports.** v 2, p 45-67, 2004. DOI <https://doi.org/10.1111/j.1479-6988.2004.00008.x>



PEARSON, A. et al. Translational science and evidence-based healthcare: a clarification and reconceptualization of how knowledge is generated and used in healthcare. **Nurs Res Pract.** e792519, 2012. DOI 10.1155/2012/792519

PERRY, C, J. et al. Myeloid-targeted immunotherapies act in synergy to induce inflammation and antitumor immunity. **J Exp Med.** v 215, n 3, p 877–93, 2018. DOI 10.1084/jem.20171435

POKRÝVKOVÁ, B. et al. ARG1 mRNA level is a promising prognostic marker in head and neck squamous cell carcinomas. **Diagnostics (Basel).** v 11, n 4, 628, 2021. DOI 10.3390/diagnostics11040628

POLLARD, J, W. Macrophages define the invasive microenvironment in breast cancer. **J Leukoc Biol.** v 84, n 3, p 623-30, 2008. DOI 10.1189/jlb.1107762

QUAIL, D, F; JOYCE, J, A. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastatic. **Nat Med.** v 19, n 11, p 1423-37, 2013. DOI 10.1038/nm.3394

SANTONI, M. et al. CXC and CC chemokines as angiogenic modulators in nonhaematological tumors. **Bio Med Res Int.** e768758, 2014. DOI 10.1155/2014/768758

SANTOS, C, M, C. et al. A estratégia PICO para a construção da pergunta de pesquisa e busca de evidências. **Rev Latino-am Enfermagem.** v 15, n 3, 2007. DOI <https://doi.org/10.1590/S0104-11692007000300023>

SHAH, F. D. et al. A review on salivary genomics and proteomics biomarkers in oral cancer. Indian. **J. Clin. Biochem.** v 26, p 326–334, 2011. DOI 10.1007/s12291-011-0149-8

SHIGEOKA, M. et al. CD163+ macrophages infiltration correlates with the immunosuppressive cytokine interleukin 10 expression in tongue leukoplakia. **Clin Exp Dent Res.** v 5, n 6, p 627-637, 2019. DOI 10.1002/cre2.228

SICA A. et al. Macrophage polarization in tumour progression. **Semin Cancer Biol.** v 18, p 349-55, 2018. DOI 10.1016/j.semcancer.2008.03.004

SONG, W. et al. Translational Significance for Tumor Metastasis of Tumor-Associated Macrophages and Epithelial-Mesenchymal Transition. **Front Immunol.** v 8, p 1106. DOI 10.3389/fimmu.2017.01106

STASIKOWSKA-KANICKA, O. et al. Association of Infiltrating cell with microvessel density in oral squamous cell carcinoma. **Pol J Patrol.** v 68, n 1, p 40-48, 2017. DOI 10.5114/pjp.2017.67614

STEIN, A, P. et al. Prevalence of Human Papillomavirus in Oropharyngeal Cancer: A Systematic Review. **Cancer J.** v 21, n 3, p 138-146. 2015. DOI 10.1097/PPO.0000000000000115

STEINBERG, E. et al. **Clinical practice guidelines we can trust**. Institute of Medicine. Washington, DC: National Academies Press; 2011. DOI 10.17226/13058

SUN, H. et al. TGF-B1/TBRII/Smad3 signaling pathway promotes VEGF expression in oral squamous cell carcinoma tumor-associated macrophages. **Biochem Biophys Res Commun**. v 497, n 2, p 583-590, 2018. DOI 10.1016/j.bbrc.2018.02.104

SUNG, H. et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA Cancer J Clin**. v 71, p 209- 249, 2021. DOI <https://doi.org/10.3322/caac.21660>

WEBER, M. et al. Prognostic significance of macrophage polarization in early stage oral squamous cell carcinomas. **Oral Oncol**. v 52, p 75-84, 2016. DOI 10.1016/j.oraloncology.2015.11.001

WEI, Y. et al. The local immune landscape determines tumor PD-L1 heterogeneity and sensitivity to therapy. **J Clin Invest**. v 129, n 8, p 3347–60, 2019. DOI 10.1172/JCI127726

WYNN, T, A. et al. Macrophage biology in development, homeostasis and disease. **Nature**. v 496, n 7446, p 445-55, 2013. DOI 10.1038/nature12034

XIAO, Y. et al. CD103+ T and Dendritic Cells Indicative a Favorable Prognosis in Oral Cancer. **J Dent Res**. v 98, n 13, p 1480-1487, 2019. DOI 10.1177/0022034519882618

YAMAGATA, Y. et al. CD163-Positive Macrophages within the tumor stroma are associated with lymphangiogenesis and Lymph Node Metastasis in Oral Squamous Cell Carcinoma. **J Oral Maxillofac Surg**. v 75, n 10, p 2144-2153, 2017. DOI 10.1016/j.joms.2017.03.009

YANG, Q. et al. Increased Expression of LAMTOR5 Predicts Poor Prognosis and Is Associated with Lymph Node Metastasis of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. **Int J Med Sci**. v 16, n 6, p 783-792, 2019. DOI 10.7150/ijms.33415

YIN, M. et al. Tumor-associated macrophages drive spheroid formation during early transcoelomic metastasis of ovarian cancer. **J Clin Invest**. v 126, n 11, p 4157-73, 2016. DOI 10.1172/JCI87252

ZHANG, M, Y. et al. A high M1/M2 ratio of tumor-associated macrophages is associated with extended survival in ovarian cancer patients. **J Ovarian Res**. v 7, p 19, 2014. DOI. 10.1186/1757-2215-7-19

ZHOU, J. et al. Tumor-Associated Macrophages: Recent Insights and Therapies. **Front Oncol**. v 25, n 10, p 188, 2020. DOI 10.3389/fonc.2020.00188