



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA  
CAMPUS VIII – PROFESSORA MARIA DA PENHA – ARARUNA  
CENTRO DE CIÊNCIAS, TECNOLOGIA E SAÚDE  
CURSO DE ODONTOLOGIA**

**ARIELLY SANDER DA SILVA ARAÚJO**

**IMUNOEXPRESSÃO DE CXCL12 EM ADENOMA PLEOMÓRFICO DE  
GLÂNDULA SALIVAR**

**ARARUNA - PB**

**2019**

ARIELLY SANDER DA SILVA ARAÚJO

**IMUNOEXPRESSÃO DE CXCL12 EM ADENOMA PLEOMÓRFICO DE  
GLÂNDULA SALIVAR**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba, Campus VIII, como requisito parcial à obtenção do título de Cirurgião-Dentista.

**Orientador:** Prof. Dr. Manuel Antonio Gordón-Núñez

**ARARUNA - PB**

**2019**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

A658i Araujo, Arielly Sander da Silva.  
Imunoexpressão de CXCL12 em Adenoma Pleomórfico de Glandula Salivar [manuscrito] / Arielly Sander da Silva Araujo. - 2019.  
25 p. : il. colorido.  
Digitado.  
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências, Tecnologia e Saúde, 2019.  
"Orientação : Prof. Dr. Manuel Antonio Gordón-Núñez ,  
Coordenação do Curso de Odontologia - CCTS."  
1. Quimiocina CXCL12. 2. Imuno-histoquímica. 3.  
Glândulas salivares. I. Título

21. ed. CDD 617.6

ARIELLY SANDER DA SILVA ARAÚJO

**IMUNOEXPRESSIONÃO DE CXCL12 EM ADENOMÁ PLEOMÓRFICO DE  
GLÂNDULA SALIVAR**

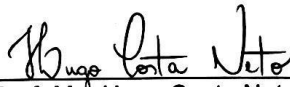
Artigo apresentado a Coordenação do  
Curso de Odontologia da Universidade  
Estadual da Paraíba, como requisito  
parcial à obtenção do título de  
Cirurgião-dentista.

Aprovada em: 27/11/2019.

**BANCA EXAMINADORA**



Prof. Dr. Manuel Antonio Gordon-Núñez (Orientador)  
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Me. Hugo Costa Neto  
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Profa. Me. Amanda Lira Rufino  
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

*Aos meus pais, meus mentores e heróis,  
DEDICO*

*“E se eu tiver o dom de profecia e entender todos os segredos sagrados e todo o conhecimento, e se eu tiver toda a fé, a ponto de mover montanhas, mas não tiver amor, nada sou.” (1 Coríntios 13:2 – Tradução do Novo Mundo da Bíblia Sagrada)*

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>9</b>
<b>2</b>	<b>METODOLOGIA .....</b>	<b>10</b>
<b>2.1</b>	<b>Análise Histomorfológica .....</b>	<b>10</b>
<b>2.2</b>	<b>Análise Imunohistoquímica .....</b>	<b>11</b>
<b>2.3</b>	<b>Análise Estatística .....</b>	<b>11</b>
<b>3</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>12</b>
<b>4</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>16</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>17</b>
<b>6</b>	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>17</b>
	<b>ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA</b>	
	<b>AGRADECIMENTOS</b>	

# IMUNOEXPRESSION DE CXCL12 EM ADENOMA PLEOMÓRFICO DE GLÂNDULA SALIVAR

## IMUNOEXPRESSION OF CXCL12 IN SALIVARY GLAND PLEOMORPHIC ADENOMA

Arielly Sander da Silva Araújo<sup>1</sup>  
Manuel Antonio Gordón-Núñez<sup>2</sup>

### RESUMO

**Introdução:** O Adenoma Pleomórfico (AP) de glândulas salivares é uma neoplasia benigna com variável proporção de componentes epiteliais, mioepiteliais, exibindo diversos arranjos arquiteturais celulares e variáveis aspectos estromais. **Objetivos:** analisar a imunopressão da quimiocina CXCL12 em relação a parâmetros clínico patológicos de uma série de adenomas pleomórficos de glândula salivar. **Métodos:** Numa amostra de adenomas pleomórficos foram coletados dados sociodemográficos e clínico-patológicos os quais foram analisados em relação ao perfil de expressão imunohistoquímica, por meio do método estreptavidina-biotina peroxidase, do anticorpo anti-CXCL12. Os dados foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk e possíveis diferenças nas medianas dos percentuais de positividade para a proteína foi avaliada por meio do teste não paramétrico de Mann-Whitney. **Resultados:** A amostra foi constituída de 20 casos, predominando no sexo feminino (75%), numa ampla faixa etária, com predominância na sexta década de vida, localizados principalmente na glândula parótida (45%) como nódulos assintomáticos. Em relação à classificação de Seifert et al (1976) e dicotomização de Miranda Viana et al (2013) predominaram os casos classificados no grupo clássico/estromal (n = 19; 63,3%). O IP de imunomarcagem para CXCL12 variou de 31,4 a 99,3%, com média de 83,24%, sendo maior nas amostras provenientes de glândulas salivares maiores (mediana = 96,80) e do grupo celularizado (mediana = 97,50). No entanto, estas diferenças não foram estatisticamente significativas (p > 0,05). **Conclusão:** O perfil de imunopressão da CXCL12 na totalidade da amostra, principalmente nos APs mais celularizados sugere que esta quimiocina poderia exercer um papel essencial na patogênese dessa neoplasia, provavelmente através da regulação de mecanismos associados à sobrevivência e proliferação celular.

**Palavras-chave:** Quimiocina CXCL12. Glândulas salivares. Imuno-histoquímica.

---

1 Acadêmico do Curso de Odontologia, Universidade Estadual da Paraíba – Araruna, [asanderaraujoodt@outlook.com](mailto:asanderaraujoodt@outlook.com)

2 Professor de Processos Patológicos do Curso de Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba, Campus VIII – Araruna, [gordonnunez162531@gmail.com](mailto:gordonnunez162531@gmail.com)



## ABSTRACT

**Introduction:** Pleomorphic adenoma (PA) of salivary glands is a benign neoplasm with variable proportion of epithelial and myoepithelial components, exhibiting various cellular architectural arrangements and variable stromal aspects. **Objectives:** To analyze CXCL12 chemokine immunoeexpression in relation to clinical pathological parameters of a series of pleomorphic salivary gland adenomas. **Methods:** In a sample of pleomorphic adenomas, sociodemographic and clinical-pathological data were collected and analyzed for immunohistochemistry expression profile by streptavidin-biotin peroxidase method of anti-CXCL12 antibody. Data were subjected to the Shapiro-Wilk test and possible differences in medians of protein positivity percentages were evaluated using the nonparametric Mann-Whitney test. **Results:** The sample consisted of 20 cases, predominantly female (75%), in a wide age group, predominantly in the sixth decade of life, located mainly in the parotid gland (45%) as asymptomatic nodules. Regarding the classification of Seifert et al (1976) and dichotomization of Miranda Viana et al (2013), the cases classified in the classic / stromal group predominated (n = 19; 63.3%). Positive immunostaining index for CXCL12 ranged from 31.4 to 99.3%, with a mean of 83.24%, being higher in samples from larger salivary glands (median = 96.80) and from the cellular group (median = 97, 50). However, these differences were not statistically significant (p> 0.05). **Conclusion:** The immunoeexpression profile of CXCL12 in the whole sample, especially in the more cellular Aps, suggests that this chemokine could play an essential role in the pathogenesis of this neoplasia, probably by regulating mechanisms associated with cell survival and proliferation.

**Key-Word:** Chemokine CXCL12. Salivary gland. Immunohistochemistry.

## 1 INTRODUÇÃO

O Adenoma Pleomórfico (AP), também conhecido como tumor misto benigno, é a neoplasia benigna de glândulas salivares mais comum. Ocorre predominantemente em glândulas salivares maiores – parótidas (85%), glândulas salivares menores (10%) e submandibulares (5%). No caso das parótidas, é comum originar-se no lobo superficial. Quando acomete as glândulas menores, é clinicamente visto nos limites entre palato duro e mole, mucosa jugal e lábios. A sua etiologia ainda não foi totalmente elucidada, mas sugere-se que se desenvolve a partir de uma mistura de células ductais e mioepiteliais. São capazes de alcançar grandes proporções quando acometem as glândulas maiores (BIGUELINI, SILVA, LINDEN, TRENTIN, MIYAGAKI, CARLI, 2015; JAIN, HASAN, VYAS, SHAH, DALAL, 2015).

Os sinais clínicos do AP se apresentam como um aumento de volume, firme, indolor e de progressão lenta. Devido seu crescimento lento, a doença pode permanecer longo período de diagnóstico. A busca por tratamento especializado ocorre na maioria das vezes quando a lesão atinge grandes proporções e causa desconforto (NEVILLE, DAMM, ALLEN, CHI, 2016). A denominação “Pleomórfico” refere-se à diversidade histomorfológica celular e estromal da lesão. Pode exibir uma cápsula que usualmente confere uma circunscrição regular à lesão, no entanto a proliferação celular pode ultrapassar tal estrutura (PANIGRAHI, SAHOO, PANDA,

LENLA, PADHIARY, BHUYAN, BHUYAN, 2013; JAIN, HASAN, VYAS, SHAH, DALAL, 2015; NEVILLE, DAMM, ALLEN, CHI, 2016).

A proteína CXCL12, também conhecida como fator 1 derivado de células estromais, é um membro da subfamília C-X-C quimiocina e um ligante conhecido para os receptores acoplados à proteína G CXCR4 e CXCR7 (DUDA et al 2011; NAGARSHETF, WICHA, ZOU, 2017). Tem sido relatada sua expressão em vários tecidos do pulmão, fígado, músculo esquelético, cérebro, rim, coração pele e medula óssea. As células neoplásicas secretam de forma autócrina CXCL12, porém também podem secretar de forma parácrina através da interação com seus receptores CXCR4/CXCR7 e essas interações têm sido associadas à regulação de diversos eventos celulares, incluindo diferenciação, proliferação, sobrevivência celular, quimiotaxia, invasão, metástase e a transcrição gênica em algumas neoplasias (ROSTENE, BUCKINGHAM, 2007; HEMBRUFF, CHENG, 2009; TEICHER, FRICKER, 2010; WANG, XIE, OUPICKÝ, 2016). Outros estudos indicam que a CXCL12 também está relacionada à quimiorresistência de células neoplásicas (TEICHER, FRICKER, 2010; GUO et al., 2016; WANG et al, 2017; YU et al., 2017).

Apenas de existir um relativo número de estudos analisando a CXCL12 em diversos tumores, é escassa a literatura relacionada a essa quimiocina em neoplasias glandulares salivares, sendo assim, o presente estudo visou avaliar a expressão imunoistoquímica da quimiocina CXCL12 em adenomas pleomórficos de glândulas salivares relacionando-a com parâmetros clínico-patológicos tumorais no intuito de obter maiores informações que contribuam no conhecimento do papel de tal proteína na patogenia dessa neoplasia.

## 2 METODOLOGIA

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual da Paraíba sob o parecer de número 1.435.401.

Foram selecionados 20 casos de Aps do Hospital Napoleão Laureano, João Pessoa-PB; do Laboratório de Histopatologia Oral da Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande-PB, do Laboratório de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina da UFMG, Belo Horizonte-MG; do Laboratório de Patologia Bucocomaxilofacial da Faculdade de Odontologia da UFMG (LPD-FOUFMG), Belo Horizonte-MG.

A amostra foi de conveniência, sendo selecionados casos provenientes de biópsia excisional e ressecção cirúrgica que apresentavam material suficiente para análise. Os dados clínicos coletados de prontuários e fichas de biópsia constaram de sexo, idade, localização da lesão.

### 2.1 ANÁLISE HISTOMORFOLÓGICA

Todos os espécimes foram fixados em formol a 10% e incluídos em parafina. Para análise microscópica foram analisados cortes de 5µm corados em hematoxilina e eosina, e avaliados por dois pesquisadores independentes. A análise morfológica dos APs foi realizada de acordo com os critérios de Seifert et al 1976:

<b>TIPO</b>	<b>CARACTERIZAÇÃO</b>
<b>I</b>	CLÁSSICO – 50% estroma e 50% células;
<b>II</b>	ESTROMAL – predominância de estroma;
<b>III</b>	CELULARIZADO PLEOMÓRFICO – predomínio de 70% de células;
<b>IV</b>	CELULARIZADO MONOMÓRFICO – arranjo predominantemente monomórfico.

Após a classificação, a amostra foi dicotomizada de acordo com Miranda Viana et al. (2013), sendo o grupo A composto pelos tipos I e II e o grupo B composto pelos tipos III e IV.

## 2.2 ANÁLISE IMUNOISTOQUÍMICA

Os espécimes incluídos em parafinas foram cortados a 3µm de espessura e coletados por lâminas de vidro revestidas por organosilano a 2% (Sigma-Aldrich, St. Louis, Mo.,USA), foram diafanizadas em xilol e reidratados em álcool. A recuperação antigênica foi realizada em citrato, pH 6,0 a 97,5°C em banho maria. A atividade da peroxidase endógena foi bloqueada pelo peróxido de hidrogênio a 3% (*Novolink TM, Novocastra*) por 5 minutos. Seguiu-se a incubação em solução proteinblock (*Novolink TM, Novocastra*) por 5 minutos. Após a lavagem em TBS o anticorpo primário SDF-1 (*FL-93, 1:150, Santa Cruz Biotechnology*) foi incubado a 4°C em câmara úmida (overnight).

Seguiu-se a lavagem em solução de Trinton X-100 em solução tamponada de Tris in (TBS) por 5 min, e todos os casos foram submetidos à técnica imunoistoquímica da imunoperoxidase baseada em polímeros de dextrano (*Novolink TM, Novocastra, USA*). Os cortes foram incubados em 3,3' diaminobenzidine (DAB) (*Novolink TM, Novocastra*) por 5min em temperatura ambiente. E contra-corado sem hematoxilina (*Novolink TM, Novocastra*) e seguiu-se a desidratação, diafanização e montagem. Os controles negativos foram obtidos por meio da omissão do anticorpo primário, com substituição por 1% PBS-BSA. Cortes de carcinoma de células escamosas representaram o controle positivo para CXCL12.

A análise imunoistoquímica foi realizada por dois examinadores previamente treinados. Os cortes histológicos foram examinados por microscopia de luz (*Leica DM 500, Leica Microsystems Vertrieb GmbH, Wetzlar, DE*) sob aumento de 200x para identificação de 10 campos de maior celularidade, as áreas foram fotomicrografadas (*ICC 50HD, Leica Microsystems Vertrieb GmbH*) no aumento de 400x. As imagens obtidas foram transferidas para um computador, com o auxílio do *Leica DM 500, Leica Microsystems Vertrieb GmbH, Wetzlar, DE*.

O número de células positivas e negativas foi determinado em cada campo microscópico por meio do programa *ImageJ® (Imaging Processing and Analysis in Java, National Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland, USA)*, permitindo o posterior cálculo do percentual de células positivas em relação ao número total de acordo com Oliveira et al. (2014). Foi considerada marcação positiva citoplasmática e/ou nuclear.

## 2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos com as análises clínicas, morfológicas e imunoistoquímicas foram organizados em um banco de dados informatizado com o

auxílio do programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) (versão 25.0; IBM Corp., Armonk, NY, USA), no qual foram realizadas as análises estatísticas.

Para a caracterização da amostra, valores médios e percentuais foram estabelecidos por meio de análise estatística descritiva. Os dados obtidos com as análises das imunoexpressões foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk. Dessa forma, possíveis diferenças nas medianas dos percentuais de positividade para a proteína foi avaliada por meio do teste não paramétrico de Mann-Whitney.

As comparações das medianas dos percentuais de positividade para CXCL-12 em relação aos parâmetros clínico-morfológicos (tipo de glândula salivar, subtipo histopatológico dos adenomas pleomórficos) foram realizadas por meio do teste não paramétrico de Mann-Whitney. Foi considerado o nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ).

### 3 RESULTADOS

A tabela 1 exibe os dados sociodemográficos. A maioria dos casos ocorreu no sexo feminino ( $n = 15$ ; 75%), predominando em pessoas não brancas ( $n = 12$ ; 60%), na sexta década de vida ou mais anos ( $n = 10$ ; 50%).

A tabela 2 mostra os dados clínico-patológicos da amostra. A localização mais frequente foi a glândula parótida ( $n = 9$ ; 45%). A maioria das lesões era constituída pela proliferação de células epiteliais dispostas predominantemente em estruturas ductiformes ( $n = 9$ ; 45%), permeadas por estroma frequentemente mixóide ( $n = 13$ ; 65%). Considerando a classificação histopatológica proposta por Seifert et al (1976), a maioria dos casos foi do tipo IV - celularizado ( $n = 7$ ; 35%). De acordo com a classificação dicotômica proposta por Miranda Viana (2013) 10 (50%) dos casos foram do grupo A (Clássico/Estromal) e Grupo B (Celularizado), respectivamente (Figuras 1A e 1B).

Na análise imunoistoquímica mostrou imunopositividade predominantemente citoplasmática para CXCL12 em 100% da amostra. O IP de imunomarcção variou de 31,4 a 99,3%, com média de 83,24%. De acordo com a Tabela 3, verificou-se que o percentual de positividade para CXCL-12 foi maior nas amostras provenientes de glândulas salivares maiores (mediana = 96,80; Q25-Q75 = 91,95-98,60) e do grupo B (mediana = 97,50; Q25-Q75 = 90,40-98,95) (Figuras 1C e 1D). No entanto, estas diferenças não foram estatisticamente significativas ( $p > 0,05$ ).

**Tabela 1.** Distribuição da amostra de acordo com os dados sociodemográficos. Araruna-PB, 2019.

Variáveis	n	%
<b>Sexo</b>		
<i>Masculino</i>	05	25,0
<i>Feminino</i>	15	75,0
<b>Cor da pele</b>		
<i>Branca</i>	08	40,0
<i>Não branca</i>	12	60,0
<b>Idade (em anos)</b>		
<i>Média: 54,3</i>		
<i>Desvio-padrão: 21,31</i>		
<i>Valor mínimo: 24</i>		
<i>Valor máximo: 101</i>		
<b>Faixa etária</b>		
<i>Segunda década</i>	04	20,0
<i>Terceira década</i>	03	15,0
<i>Quinta década</i>	03	15,0
<i>Sexta década ou mais</i>	10	50,0

Nota. Os valores entre [ ] indicam o total de casos válidos para cada variável.  
Fonte: Curso de Odontologia da UEPB, Campus VIII.

**Tabela 2.** Distribuição da amostra de acordo com as características clínico-patológicas das lesões. Araruna-PB, 2019.

Variáveis	n	%
<b>Localização</b>		
<i>Parótida</i>	09	45,0
<i>Palato</i>	08	40,0
<i>Lábio</i>	02	10,0
<i>Submandibular</i>	01	05,0
<b>Arranjo histomorfológico</b>		
<i>Ductiforme</i>	09	45,0
<i>Sólido</i>	06	30,0
<i>Cístico</i>	03	15,0
<i>Ninho e ilhas</i>	02	10,0
<b>Estroma tumoral</b>		
<i>Mixóide</i>	13	65,0
<i>Hialino</i>	07	35,0
<b>Classificação de Seifert et al.</b>		
<i>Tipo I – Clássico</i>	06	30,0
<i>Tipo II – Estromal</i>	04	20,0
<i>Tipo III – Celularizado pleomórfico</i>	03	15,0
<i>Tipo IV – Celularizado monomórfico</i>	07	25,0
<b>Classificação de Seifert adaptada por Miranda, Viana et al.</b>		
<i>Grupo A – Clássico / Estromal</i>	10	50,0
<i>Grupo B - Celularizado</i>	10	50,0

Fonte: Curso de Odontologia da UEPB, Campus VIII.

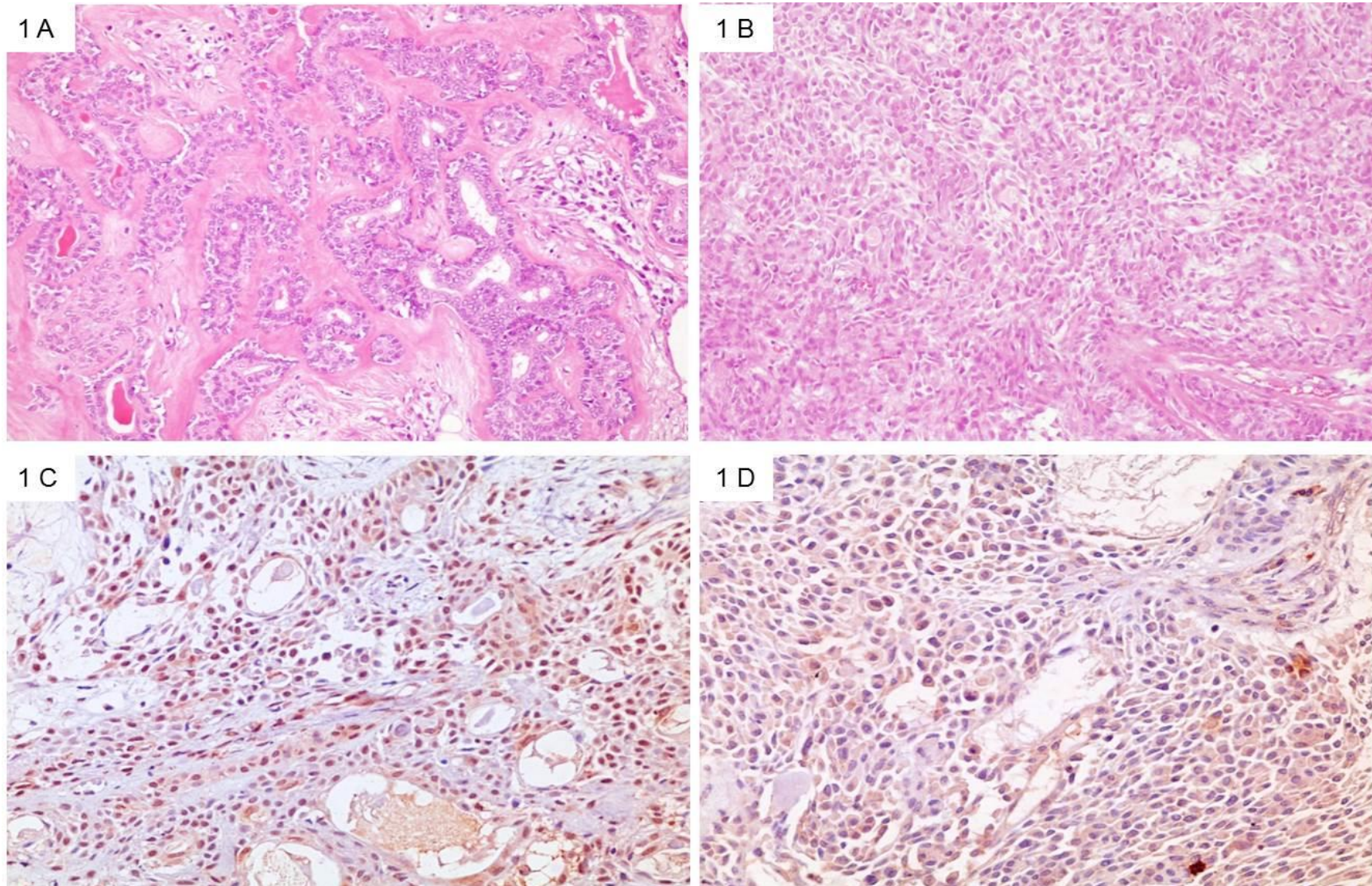
**Tabela 3.** Distribuição absoluta e mediana relativas de imunopositividade para CXCL-12 e suas diferenças de acordo com as características clínico-patológicas dos adenomas pleomórficos. Araruna – PB, 2019.

Características	n	CXCL-12		
		Mediana	Q <sub>25</sub> – Q <sub>75</sub>	p
<b>Glândula salivar</b>				
<i>Menor</i>	10	90,20	90,20-90,20	0,444
<i>Maior</i>	10	96,80	91,95-98,60	
<b>Dicotomização Histopatológica</b>				
<i>Grupo A - Clássico/ stromal</i>	10	96,05	91,43-97,98	0,556
<i>Grupo B - Celularizado</i>	10	97,50	90,40-98,95	

Fonte: Curso de Odontologia da UEPB, Campus VIII.

Nota. Teste de Mann-Whitney.





**Figura 1.** **A-** Arranjo clássico do AP exibindo ilhas de células fusiforme e angulares e estroma hialino, H&E 200x; **B –** Arranjo celularizado do AP exibindo ilhas sólidas de células angulares, fusiformes e escasso estroma mixóide, H&E 100x; **C -** Imunopositividade para CXCL12 em células neoplásicas de AP clássico, LSAB 200x; **D-** Imunopositividade para CXCL12 em células neoplásicas de AP celularizado, LSAB 200x.

## 4 DISCUSSÃO

O Adenoma Pleomórfico é a neoplasia benigna de glândula salivar de maior prevalência na população mundial. Sua etiologia ainda é desconhecida, porém relata-se possível associação a exposição à radiação (ELLIS, AUCLAIR, 1996) e mais recentemente sugere-se a participação com o vírus símio (SV40) (MARTINELLI et al, 2002).

No tocante à sua ocorrência na amostra avaliada os dados corroboram a literatura, uma vez que predominaram em mulheres não-brancas, na faixa etária acima da quinta década de vida (GONZÁLEZ, SKINNER, DIAZ, RAMIREZ, ESPILDORA, GONZÁLEZ, 2018; VARGAS, GERHRARD, ARAÚJO FILHO, CASTRO, 2003). Igualmente quanto à localização das lesões, os achados da presente pesquisa, assemelham-se aos de Biguelini, Silva, Linden, Trentin, Miyagaki, Carli (2015) e Jain, Hasan, Vyas, Shah, Dalal (2015), com predominância dos casos em glândula salivar maior, mais especialmente a parótida, e em glândulas salivares menores, as do palato como as mais acometidas.

Quanto às características clínico-patológicas da amostra verificou-se semelhança aos relatos da literatura, por exemplo, a maioria exibiu proliferação de células neoplásicas arranjadas nas clássicas estruturas ductiformes, permeadas por estroma tumoral predominantemente mixóide. Nesse contexto Neville, Damm, Allen, Chi (2016) relatam que o aspecto mixomatoso do estroma usualmente decorre do extenso acúmulo de material mucoide entre as células epiteliais tumorais. De acordo com a presente pesquisa a maioria da amostra apresentou arranjo celularizado monomórfico. Discordando da literatura clássica que o arranjo celularizado pleomórfico e o clássico apresentam maior predominância (SEIFERT, LANGROCK, DONATH, 1976).

Diversos estudos tem se dedicado a análise da imunoexpressão de proteínas visando obter informações que auxiliem no entendimento da etiopatogenia do adenoma pleomórfico de glândula salivar, no entanto a maioria das pesquisas é inconclusiva nessa questão (GEDLICKA et al., 2010; CAVALCANTE et al., 2017; MITO, JO, CHIOSEA, DAL, CIN, KRANE, 2017; CAVALCANTE et al., 2018). A expressão da quimiocina CXC12 (SDF-1) tem sido analisada em tumores de mama, próstata, colorretal e pâncreas, porém poucos estudos têm avaliado seu papel nas neoplasias de glândula salivares (GUO et al., 2016; MA et al., 2017; YU et al, 2017; YANG, TANG, HUANG, NA, 2018).

A CXCL12 interage usualmente com seu receptor principal denominado CXCR4, induzindo o aumento de cálcio intracelular e participando da geração de sinais relacionados com diversos eventos da progressão tumoral, como proliferação, diferenciação, sobrevivência celular, quimiotaxia, metástase e a transcrição gênica (MYIATA et al, 2019).

Embora não tenha sido observada diferença estatisticamente significativa nos IPs de imunoexpressão da CXCL12 em relação às variáveis clínico-patológicas analisadas, os dados sugerem que provavelmente essa citocina possa estar mais envolvida em eventos patogênicos de APs de glândulas salivares maiores e principalmente naqueles com histomorfologia celularizada, provavelmente regulando mecanismos que estimulam a proliferação celular de forma autócrina ou parácrina como tem sido sugerido na literatura para outros tipos de neoplasias (KOSHIBA et al, 2000; RAMAN, BAUGHER, THU, RICHMOND, 2007; SHEN, ZHEN, LU, JIANG, WANG, HUANG, 2013).



O antes citado pode ser alicerçado na literatura, onde relata-se que a CXCL12 pode interagir com outra quimiocina chamada CXCL6, aumentando os níveis de secreção dessa última e co-regulando assim eventos como a proliferação e angiogênese, dentre outros, mediante a ativação da via de sinalização PI3K-Akt-mTOR (JIA-CHI et al, 2017). Ainda nesse contexto, relata-se que a mTOR pode estimular o crescimento e proliferação celular através da ativação da proteína ribossomo S6 quinase (p70S6K) e inibição da ligação de eIF4E proteínas (4E-BP1) e pode, além disso, aumentar a secreção do fator de crescimento endotelial vascular e promover angiogênese através da expressão da transcrição do fator induzível de hipóxia-1 e seu alvo a jusante genes. Sob uma série de fatores exteriores e interiores, a proliferação e invasão de células cancerígenas podem ser induzidas e apoptose celular pode ser evitada iniciando o Via PI3K / Akt / mTOR (WEEKES et al, 2012).

Considerando o antes citado, relata-se que a interação entre a CXCL12 e seu receptor principal CXCR4 regula eventos importantes na tumorigênese, proliferação celular, dentre outros (MUKAUDA, SASAKI, BABA, 2014, WANG et al., 2017, MA et al., 2017). Embora esses estudos tenham implicado o papel dessa proteína no comportamento tumoral, seu potencial papel ainda permanece desconhecido ou pouco entendido, principalmente em neoplasias glandulares salivares.

O adenoma pleomórfico é uma neoplasia benigna que tem potencial de malignização, principalmente aqueles tumores com predominância de celularidade epitelial (KNIGHT, RATNASINGHAM, 2015; KOYAMA, TERAUCHI, KOIZUMI, TANAKA, SATO, 2018), este fato é importante a ser considerado nos dados deste estudo, uma vez que a maioria dos casos com maior imunoexpressão da quimiocina foram precisamente aqueles mais celularizados. No entanto, pelo reduzido tamanho da amostra e pela ausência de dados sobre a preservação dos casos, não pode-se afirmar que tais casos poderiam ter um comportamento clínico de maior risco de recidivas ou potencial de malignização.

## 5 CONCLUSÃO

O perfil de imunoexpressão da CXCL12 na totalidade da amostra, sugere que esta quimiocina poderia exercer um papel essencial na patogênese dessa neoplasia, provavelmente através da regulação de mecanismos associados à sobrevivência e proliferação celular.

## REFERÊNCIAS

BIGUELINI, G. S.; SILVA, S. O.; LINDEN, M. S. S.; TRENTIN, M. S.; MIYAGAKI, D. C.; CARLI, J. P. Adenoma Pleomórfico: Características Clínicas e Protocolo de Diagnóstico. **Salusvita**. v. 34, n. 2, p. 327-339, 2015.

CAVALCANTE, R.B., NONAKA, C.F., RABENHORST, S.H., DA COSTA MIGUEL, M.C., PINTO, L.P., DE SOUZA, L.B. Pleomorphic adenoma and adenoid cystic carcinoma of salivary glands: E-cadherin immunoexpression and analysis of the CDH1 -160C/A polymorphism. **Archives of Oral Biology**. v.73, p.73:48, 2017.

CAVALCANTE, R.B., NONAKA, C.F., SANTOS, H.B.P., RABENHORST, S.H.B.; PINTO, L.P., DE SOUZA, L.B. Assessment of CTNNB1 gene mutations and  $\beta$ -

catenin immunoexpression in salivary gland pleomorphic adenomas and adenoid cystic carcinomas. **Virchows Archives**. v.472, p.999–1005, 2018.

DERIN, S. et al. Parotid Gland Tumours in Turkish Population: Analysis of 165 Patients. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**. v.16, n.8. p. 3539-3542, 2015.

DUDA, D.G., et al. CXCL12 (SDF1alpha)-CXCR11/CXCR11 pathway inhibition: an emerging sensitizer for anticancer therapies? **Clinical Cancer Research**. v.17, n.8, p.2074-2080, 2011.

GEDLICKA C. et al. Transformation of pleomorphic adenoma to carcinoma ex pleomorphic adenoma of the parotid gland is independent of p53 mutations. **Journal of Surgical Oncology**. v.101, n.2, p.127-30, 2010.

GONZALEZ, A. C.; SKINNER, H. R.; DÍAZ, A. V.; RAMÍREZ, A. L.; ESPILDORA, I. G.; GONZÁLEZ, A. S. Perfil epidemiológico de neoplasias epiteliales de glándulas salivales. **Revista Medica de Chile**. v.146, n. 10, p. 1159-1166, 2018.

GUO, J. C. et al. CXCL12-CXCR7 axis contributes to the invasive phenotype of pancreatic cancer. **Oncotarget**, v.7, n.38, p. 62006 - 62018, 2016

HEMBRUFF, S.L., CHENG, N. Chemokine signaling in cancer: Implications on the tumor microenvironment and therapeutic targeting. **Cancer Therapy**. v.14, p.254-267, 2009.

JAIN, S.; HASAN, S.; VYAS, N.; SHAH, N.; DALAL, S. Pleomorphic Adenoma of the parotid gland: report of a case with review of literature. **Ethiopian Journal of Health Sciences**. v.25, n. 2, p. 189-194, 2018.

KNIGHT, J.; RATNASHINKHAM, K. Metastasising pleomorphic adenoma: Systematic review. **Internacional Journal of Surgery**. v. 19, p.137-145.

KOSHIBA T. et al. Imamura M. Expression of stromal cell-derived factor 1 and CXCR4 ligand receptor system in pancreatic cancer: a possible role for tumor progression. **Clinical Cancer Research**. v.6, n.9, p. 3530-3535, 2000

KOYAMA, M.; TERAUCHI, T.; KOIZUMI, M.; TANAKA, H.; SATO, Y. Metastasizing pleomorphic adenoma in the multiple organs. **Medicine Baltimore**. v.27, n. 23, e. 11077, 2018.

JIA-CHI, M. et al. Fibroblast-derived CXCL12/SDF-1 $\alpha$  promotes CXCL6 secretion and co-operatively enhances metastatic potential through the PI3K/Akt/mTOR pathway in colon cancer. **World Journal of Gastroenterology**. v.23, n.28, p. 5167-5178, 2017.

MARTINELLI, M. et al. Simian virus 40 sequences and expression of the viral large T antigen oncoprotein in human pleomorphic adenomas of parotid glands. **American Journal of Pathology**. v.161, n.4, p.1127-33, 2002.

MELO, R. C. C.; FERRO, K. P. V.; DUARTE, A. D. S. S.; SAAD, S. T. O. CXCR7 participates in CXCL12-mediated migration and homing of leukemic and normal hematopoietic cells. **Stem Cell Research & Therapy**. v.9, n.1, p. 34, 2018.

MIYATA, T et al. CXCL12 expression in intrahepatic cholangiocarcinoma is associated with metastasis and poor prognosis. **Cancer Science**. v.110, n.10, p. 3197-3203, 2019.

MIRANDA VIANA, A. C., RIBEIRO, D.C.; FLORÊNCIO, T.N.; SANTOS V. T.; SOUSA, A. A.; AGUIAR, M. C. Immunohistochemical expression of metallothionein in pleomorphic adenoma of minor salivary glands: a role in the control of apoptosis? **Acta Histochemica**. v.115, n.6, p. 564-568, 2013.

MITO, J.K., JO, V.Y., CHIOSEA, S.I., DAL CIN, P., KRANE, J.F. HMGA2 is a specific immunohistochemical marker for pleomorphic adenoma and carcinoma ex-pleomorphic adenoma. **Histopathology**. v.71, n.4, p.511-521, 2017.

MUKAIDA, N.; SASAKI, S. I.; BABA, T. Chemokines in Cancer Development and Progression and Their Potential as Targeting Molecules for Cancer Treatment. **Hindavi Publishing Corporation**. Epub 2014.

NAGARSHETH, N., WICHA, M.S., ZOU, W. Chemokines in the cancer micro-environment and their relevance in cancer immunotherapy. **Nat Rev Immunol**. v.17, n.9, p.559-572, 2017.

NEVES, J. C.; SOBRAL, A. P. V.; e ABREU e LIMA, M. C. Expressão da proteína p53 em 106 adenomas pleomórficos de glândula salivar maior. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. v.45. n.4. p.305-31. 2009

NEVILLE, ALLEN, DAMM, CHI. **Patologia: Oral & Maxilofacial**. 4ª Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016.

OLIVEIRA, K. B. et al. Envolvimento das quimiocinas e seus receptores na patogênese de doenças infecciosas e inflamatórias. **Biosaúde**. v.9, n.1/2. p.41-64. 2007.

PANIGRAHI, H. G.; SAHOO, S. R.; PANDA, S.; LENKA, S.; PADHIARY, S. K.; BHUYAN, R.; BHUYAN, S. Juvenile pleomorphic adenoma of masticator space: The first case report. **Contemporary Clinical Dentistry**. V.4, n.4. 2013.

PORTO, D. E.; CAVALCANTE, J. R.; CAVALCANTE JR, J. R.; COSTA, M. C. F.; PEREIRA, S. M. Adenoma Pleomórfico na Parótida – Relato de Caso. **Revista de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial**. v.14, n.2, p. 15-18, 2014.

RITO, M.; FONSECA, I. Salivary Gland Neoplasms: Does Morphological Diversity Reflect Tumor Heterogeneity? **Pathobiology**. v.85, n.1-2, p. 85-95, 2018.

ROSTENE, W., BUCKINGHAM, J.C. Chemokines as modulators of neuroendocrine functions. **Journal of Molecular Endocrinology**. v.38, p.351-3, 2007.

SEIFERT, G.; LANGROCK, I.; DONATH, K. A pathological classification of pleomorphic adenoma of the salivary glands. **HNO**. v.24, n. 12, p. 415-426, 1976.

SHEN, B.; ZHENG, M.Q.; LU, J.W.; JIANG, Q.; WANG, T.H.; HUANG, X. E. CXCL12-CXCR4 promotes proliferation and invasion of pancreatic cancer cells. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevencion**. v.14, n.9, p. 5403-5408, 2013.

TAGHAVI, SARGOLZAEI, MASHHADIABBAS, AKBARZADEH e KARDOIUNI. Salivary Gland Tumors: A 15- year Report from Iran. **Turkish Journal of Pathology**. v.32, n.1, p. 35-39, 2016.

TAKAHAMA JR, A.; ALMEIDA, O. P.; KOWALSKI, L. P. Neoplasias de parótida: análise de 600 pacientes atendidos em uma única instituição. **Brazilian Journal Otorhinolaryngoly**. v.75, n.4, p. 497-501, 2009.

TEICHER, B. A.; FRICKER; S. P. CXCL12 (SDF-1)/CXCR4 Pathway in Cancer. **Clinical Cancer Research**. v.16, n.05, p.2927-31, 2010.

VARGAS, P. A.; GERHARD, R.; ARAUJO FILHO, V. J. Salivary gland tumors in a Brazilian population: a retrospective study of 124 cases. **Revista do Hospital das Clínicas São Paulo**. v.57, n.6, p. 271-276, 2003.

YANG, J.; TANG, H.; HUANG, J.; AN. Upregulation of CXCR7 Is Associated with Poor Prognosis of Prostate Cancer. **Medical Science Monitor**. v.24, n.06, p. 5185-5191, 2018.

YU, P. F. et al. Downregulation of CXCL12 in mesenchymal stromal cells by TGF $\beta$  promotes breast cancer metastasis. **Oncogene**. v.36, n. 6, p840-849, 2017.

WANG, Y., XIE, Y., OUPICKÝ, D. Potential of CXCR4/CXCL12 Chemokine Axis in Cancer Drug Delivery. **Current Pharmacology Reports**. v.2, n.01, p.1-10, 2016.

WANG, X. et al. Stem cell autocrine CXCL12/CXCR4 stimulates invasion and metastasis of esophageal cancer. **Oncotarget**. v.8, n.22, p. 36149-36160, 2017.

WEEKES C.D. et al. Stromal cell-derived factor 1 $\alpha$  mediates resistance to mTORdirected therapy in pancreatic cancer. **Neoplasia**. v.14, n.8, p. 690-701, 2012.

## ANEXO A

### PARECER DO CEP / UEPB

UNIVERSIDADE ESTADUAL DA  
PARAÍBA - UEPB / PRÓ-  
REITORIA DE PÓS-



#### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

##### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** IMUNOEXPRESSÃO DE CXCL12, CXCR4, MMP9, BCL-2, KI-67, MUC1 E VEGF: SUA RELEVÂNCIA NO COMPORTAMENTO BIOLÓGICO DE NEOPLASIAS DE GLÂNDULAS SALIVARES

**Pesquisador:** MANUEL ANTONIO GORDÓN NÚÑEZ

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 53329316.4.0000.5187

**Instituição Proponente:** Universidade Estadual da Paraíba - UEPB

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

##### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 1.435.401

##### Apresentação do Projeto:

Projeto encaminhado ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual da Paraíba, para Análise e parecer com fins de desenvolvimento da pesquisa para elaboração de dissertação de conclusão do curso de Mestrado em Odontologia, do programa de Pós-Graduação em Odontologia, da UEPB. Trata-se de um estudo de caráter descritivo probabilístico correlacional entre as características clínico-histomorfológicas de uma série de Adenomas pleomórficos, Mioepiteliomas, Carcinomas Mucoepidermóides e Carcinomas adenóides císticos e a análise qualitativa e semi-quantitativa da expressão imunohistoquímica das proteínas CXCL12, CXCR4, MMP-9, Bcl-2, Ki-67, MUC-1 e VEGF, no intuito de obter maiores informações que contribuam ao conhecimento do papel de tais proteínas em relação ao comportamento biológico das neoplasias acima citadas. A população do estudo será composta por casos registrados e diagnosticados nos Arquivos dos Laboratórios de Patologia Oral do Programa de Pós-Graduação em Odontologia do Departamento de Odontologia da UEPB e do Arquivo de Anatomia Patológica do Hospital Napoleão Laurenano/João Pessoa-PB, serão selecionados espécimes de AP, Mioepitelioma, CME e CAC que constituirão a amostra. A amostra será intencional, baseada na quantidade de material disponível no bloco e constituída 30 amostras teciduais de AP, 30 mioepitelioma, 30 CME e 30 CAC proveniente de glândulas salivares maiores e menores. O procedimento de coleta dos dados

**Endereço:** Av. das Baraúnas, 351- Campus Universitário  
**Bairro:** Bodocongó **CEP:** 58.109-753  
**UF:** PB **Município:** CAMPINA GRANDE  
**Telefone:** (83)3315-3373 **Fax:** (83)3315-3373 **E-mail:** cep@uepb.edu.br

UNIVERSIDADE ESTADUAL DA  
PARAÍBA - UEPB / PRÓ-  
REITORIA DE PÓS-



Continuação do Parecer: 1.435.401

epidemiológicos basear-se-á nas informações constantes nas fichas de registro e laudos de exame histopatológico da amostra, os quais serão transcritos para uma ficha padrão especialmente confeccionada para esta análise. Idade, sexo, cor de pele do paciente, localização anatômica da lesão, tamanho e características histopatológicas corresponderão às variáveis estudadas. As informações nesta pesquisa serão coletadas através dos prontuários dos pacientes e de cortes histológicos dos blocos parafinados pertencentes ao arquivo do Laboratório de Patologia do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da UEPB e do Hospital Napoleão Laureano (Apêndice A) e autorização de tais instituições será solicitada (Anexo A, B e C). Todos os documentos de apêndices e anexos foram apresentados diretamente ao CEP-UEPB, bem como se encontram disponibilizados na Plataforma Brasil.

**Objetivo da Pesquisa:**

Tem como objetivo geral: realizar uma análise clínica e histopatológica de adenomas pleomórficos/mioepiteliomas, carcinomas mucoepidermoides e carcinomas adenoides císticos, e através da imunohistoquímica analisar a expressão da CXCL12, CXCR4, MMP-9, Bcl-2, Ki-67, MUC1 e VEGF nas lesões citadas, buscando determinar se existem alterações quali-quantitativas na expressão dessas proteínas e se essa expressão guarda relação com aspectos do comportamento biológico, quer seja, potencial de malignização nas lesões benignas e índice de apoptose e invasão tumoral nas malignas. Enquanto Objetivos Específicos busca-se: Determinar o perfil clínico e histopatológico de uma amostra de adenoma pleomórfico, mioepitelioma, carcinoma mucoepidermoide e carcinoma adenoide cístico; Analisar se existe associação entre as características histomorfológicas da amostra avaliada e a expressão imunohistoquímica de CXCL12, CXCR4, MMP-9, Bcl-2, Ki-67, MUC1 e VEGF; Analisar se existe diferença da localização e intensidade da expressão imunohistoquímica de CXCL12, CXCR4, MMP-9, Bcl-2, Ki-67, MUC1 e VEGF em relação ao tipo de neoplasia de glândula salivar; Determinar se existe associação entre a expressão imunohistoquímica de CXCL12, CXCR4, MMP-9, Bcl-2, Ki-67, MUC1 e VEGF e o grau histológico de malignidade do carcinoma mucoepidermoide ;Analisar se existe associação entre a expressão imunohistoquímica da CXCL12/CXCR4 com expressão da MMP-9 e Bcl-2 considerando a natureza benigna ou maligna da amostra avaliada; Determinar se existe associação entre a expressão imunohistoquímica de CXCL12, CXCR4, MMP-9, Bcl-2, Ki-67, MUC1 e VEGF e o padrão histológico do Carcinoma adenoide cístico; Avaliar se a expressão imunohistoquímica da CXCL12, CXCR4 possui alguma correlação com a expressão de MMP-9, Bcl-2, Ki-67, MUC1 e VEGF em adenomas pleomórfico e mioepiteliomas.

Endereço: Av. das Baraúnas, 351- Campus Universitário  
 Bairro: Bodocongó CEP: 58.109-753  
 UF: PB Município: CAMPINA GRANDE  
 Telefone: (83)3315-3373 Fax: (83)3315-3373 E-mail: cep@uepb.edu.br

UNIVERSIDADE ESTADUAL DA  
PARAÍBA - UEPB / PRÓ-  
REITORIA DE PÓS-



Continuação do Parecer: 1.435.401

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Segundo os pesquisadores responsáveis: Por se tratar de um estudo retrospectivo de dados clínicos, análise morfológica e imunoistoquímica de lâminas que contem cortes de tecidos de peças cirúrgicas advindas de biopsia e excisão cirúrgica, o risco oferecido aos pacientes é mínimo, já que não há intervenção do estudo nos pacientes. Enquanto benefícios: O estudo visa analisar a expressão de CXCL12, CXCR4, MMP-9, Bcl-2, Ki-67, MUC-1 e VEGF em Adenoma pleomórfico, Mioepitelioma, Carcinoma mucocpidermoide e Carcinoma adenoide cístico, testar a possível associação dessas proteínas com o comportamento biológico das lesões. Não existe benefícios diretos sobre os participantes dessa pesquisa, mas ao final, a expressão das proteínas poderá ser utilizado como fator de prognóstico de outros pacientes acometidos com as mesmas lesões, possibilitando o diagnóstico mais fidedigno, tratamento adequado ao comportamento biológico da lesão e melhora da qualidade de vida do paciente.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

A presente proposta de pesquisa é de suma importância quanto papel e atribuições das Instituições de Ensino Superior (IES), mormente pesquisa (bem como extensão), estando dentro do perfil das pesquisas de construção do ensino-aprendizagem significativa, perfilando a formação profissional baseada na tríade conhecimento-habilidade-competência, preconizada pelo MEC. Portanto, tem retorno social, caráter de pesquisa científica e, contribuição na formação de profissionais da área de saúde (graduando e pós-graduados), dentre outras áreas do saber científico.

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

Os termos necessários e obrigatórios encontram-se presentes.

**Recomendações:**

Sem recomendações.

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

O projeto encontra-se completo, sem pendências. Diante do exposto, somos pela aprovação.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Sendo o protocolo de pesquisa um conjunto de documentos contemplando a descrição de pesquisa em seus aspectos fundamentais o atual projeto, atende assim aos critérios e diretrizes da Resolução 466/12 do CNS/MS.

Endereço: Av. das Baraúnas, 351- Campus Universitário  
 Bairro: Bodocongó CEP: 58.109-753  
 UF: PB Município: CAMPINA GRANDE  
 Telefone: (83)3315-3373 Fax: (83)3315-3373 E-mail: cep@uepb.edu.br



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA  
PARAÍBA - UEPB / PRÓ-  
REITORIA DE PÓS-



Continuação do Parecer: 1.435.401

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_637546.pdf	16/02/2016 21:00:33		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_dissertacao.doc	16/02/2016 20:59:15	JOSE MATHEUS ALVES DOS SANTOS	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	carta.pdf	16/02/2016 20:54:32	JOSE MATHEUS ALVES DOS SANTOS	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	autorizacao_institucional.jpg	16/02/2016 20:49:04	JOSE MATHEUS ALVES DOS SANTOS	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	autorizacao_uepb.jpg	16/02/2016 20:46:07	JOSE MATHEUS ALVES DOS SANTOS	Aceito
Declaração de Pesquisadores	compromisso_pesquisadores.jpg	16/02/2016 20:45:15	JOSE MATHEUS ALVES DOS SANTOS	Aceito
Declaração de Pesquisadores	compromisso_coordenador.pdf	29/12/2015 03:29:26	JOSE MATHEUS ALVES DOS SANTOS	Aceito
Folha de Rosto	folh_de_rosto.pdf	29/12/2015 03:21:57	JOSE MATHEUS ALVES DOS SANTOS	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

CAMPINA GRANDE, 03 de Março de 2016

\_\_\_\_\_  
**Assinado por:**  
**Doralúcia Pedrosa de Araújo**  
**(Coordenador)**

Endereço: Av. das Baraúnas, 351- Campus Universitário  
Bairro: Bodocongó CEP: 58.109-753  
UF: PB Município: CAMPINA GRANDE  
Telefone: (83)3315-3373 Fax: (83)3315-3373 E-mail: cep@uepb.edu.br



## AGRADECIMENTOS

*Ao meu Pai Celestial, Jeová Deus, que me concedeu toda a força vital para atingir meus objetivos e alçar meus vôos (Filipenses 4:13);*

*Aos meus pais, Adelson e Luísa, por me fornecerem todo o apoio necessário durante toda a vida até aqui;*

*Aos meus irmãos, Aline e Adelson Jr, por todo o companheirismo e cumplicidade que nossa relação de irmãos nos permite ter;*

*A toda minha família – cunhados, tios, primos, avós – por toda a força e confiança que sempre depositaram em mim;*

*Ao meu orientador, Manuel Antonio Gordón-Núñez, por todas as oportunidades que me ofereceu e todas as orientações que me prestou;*

*A minha dupla de clínica, Evellynne Thaynara, que foi uma benção na minha vida. Acompanhou-me e suportou durante toda a graduação em todos os trabalhos e atendimentos;*

*A meu grupo de trabalhos – Ana Karoline, Andrea, Lucrécia e Raissa – por toda a convivência e momentos compartilhados;*

*A minha dupla de vida e aperfeiçoamento, Danielly Porto, por toda amizade e companhia em vários momentos dentro e fora da universidade;*

*A todos os amigos que fiz nessa jornada que permitiram que essa caminhada se fizesse mais leve e animadora.*

*A todos eu agradeço!*