



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGÍA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
NIVEL DOUTORADO
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO PATOLOGIA BUCAL

COMPORTAMIENTO BIOLÓGICO DEL CARCINOMA ORAL DE CÉLULAS ESCAMOSAS.
ESTUDIO INMUNOHISTOQUIMICO DE CD44 Y ALDH1A

Aurita Verónica Beovide Cortegoso

Porto Alegre 2020

AURITA VERONICA BEOVIDE CORTEGOSO

**COMPORTAMIENTO BIOLÓGICO DEL CARCINOMA ORAL DE CÉLULAS
ESCAMOSAS. ESTUDIO INMUNOHISTOQUIMICO DE CD44 Y ALDH1A.**

Tese apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de
Doutorado em Patologia Bucal ao Programa de Pós-Graduação em
Odontologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio
Grande do Sul.

Orientador: Prof. Dr. Pantelis Varvaki Rados

Porto Alegre 2020

CIP - Catalogação na Publicação

Beovide Cortegoso, Aurita Verónica
COMPORTAMIENTO BIOLÓGICO DEL CARCINOMA ORAL DE
CÉLULAS ESCAMOSAS. ESTUDIO INMUNOHISTOQUIMICO DE CD44
Y ALDH1A / Aurita Verónica Beovide Cortegoso. --
2020.
122 f.
Orientador: Pantelis Varvaki Rados.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Faculdade de Odontologia, Programa de
Pós-Graduação em Odontologia, Porto Alegre, BR-RS,
2020.

1. Câncer bucal. 2. Comportamineto biologico . 3.
Células Madre tumorales . 4. CD44. 5. ALDH1A. I.
Varvaki Rados, Pantelis, orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Dedicado a Pablo Federico Sofia Elisa y Rosina

AGRADECIMENTOS

MUITO ESPECIALMENTE AO MEU TUTOR, O PROFESSOR PANTELIS VARVAKI RADOS, POR SUA DISPOSIÇÃO, PACIÊNCIA E POR SEMPRE TER UMA PALAVRA DE AFETO.

AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL, QUE ATRAVÉS DA PARCERIA NO CONVÊNIO COM A FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE DA REPUBLICA DE URUGUAY TEM CONTRIBUÍDO COM A FORMAÇÃO ACADÊMICA DE PÓS-GRADUAÇÃO DOS DOCENTES, ENTRE AS QUAIS TENHO TENHO O PRAZER DE PERTENCER.

À FACULDADE DE ODONTOLOGIA, A TODOS OS PARCEIROS DE COOPERAÇÃO E À ESCOLA DE PÓS-GRADUAÇÃO QUE TORNARAM ISSO POSSÍVEL.

AOS MEUS COMPANHEIROS DA CÁTEDRA DE ANATOMÍA PATOLÓGICA: CÉSAR, NATALIA , NATALIA, MARIA LAURA, ROSINA, SOFÍA E NATALIE , QUE SEMPRE ME APOIARAM NESSE CAMINHO DE DESAFIOS E REALIZAÇÕES QUE COMPARTILHO COM TODOS ELES.

AOS MEUS COMPANHEIROS DA FACULDADE FERNANDO E CELESTE QUE COLABORARAM NAS ANÁLISES ESTATÍSTICAS E NA DOCUMENTAÇÃO FOTOGRÁFICA, FUNDAMENTAIS PARA ESTE TRABALHO.

MUITO OBRIGADA!!

RESUMEN

BEOVIDE CORTEGOSO, A.V. Comportamiento Biológico Del Carcinoma Oral De Células Escamosas. Estudio Inmunohistoquímico De CD44 y ALDH1A. 2020. 122 f. Tese de Doutorado em Patologia Bucal – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2020

El presente estudio abarcó un período de 4 a 5 años de trabajo en un proyecto de doctorado donde se abordó la temática del cáncer bucal desde diferentes líneas de estudio. En el primer artículo se realizó una actualización sobre el comportamiento biológico del carcinoma oral de células escamosas, donde se describe la importancia de ese comportamiento agresivo y su implicancia en la invasión tumoral, la diseminación y la producción de metástasis a distancia, características que describen al cáncer bucal. En el segundo artículo se realizó una revisión sobre la importancia de las células madre tumorales y la cancerización de campo en el cáncer oral, allí se describe a esta subpoblación de células como las conductoras de la tumorigénesis y el crecimiento tumoral. Esta subpoblación de células serían las conductoras de la tumorigénesis y el crecimiento tumoral y las encargadas de dirigir los procesos que llevan a la resistencia a las terapias y a la producción de metástasis a distancia. El tercer artículo de pesquisa, donde se realizó un trabajo de identificación de células epiteliales en el carcinomas oral de células escamosas y displasia epitelial mediante inmunohistoquímica con los biomarcadores CD44 y ALDH1A. Donde se observó la asociación de la positividad de ALDH1A en la sobrevida de los

pacientes, como un posible marcador pronóstico y al no poder identificar asociación de la positividad de ALDH1A con las células tumorales y el tejido no tumoral adyacente, se demuestra que es de poco valor para la patogenia del cáncer de cabeza y cuello.

Palabras claves- Cáncer bucal, células madre tumorales, desordenes potencialmente malignos, CD44, ALDH1A

ABSTRACT

BEOVIDE CORTEGOSO, A.V Comportamiento Biológico Del Carcinoma Oral De Células Escamosas. Estudio Inmunohistoquímico De CD44 y ALDH1A-2020. 122 p. Doctorate Thesys – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2020.

The present study comprise a period of 4 to 5 years of work in a doctoral project where the topic of oral cancer was approached from different lines of study. In the first article, an update was made on the biological behavior of oral squamous cell carcinoma, describing the importance of this aggressive behavior and its implication in tumor invasion, dissemination and the production of distant metastases, characteristics that describe the Oral cancer. In the second article, a review was made on the importance of cancer stem cells and field cancerization in oral cancer. This subpopulation of cells would be the conductors of tumorigenesis and tumor growth and responsible for directing the processes that lead to resistance to therapies and the production of distant metastases. The third research article, where an epithelial cell identification work was performed in oral squamous cell carcinomas and epithelial dysplasia by immunohistochemistry with the CD44 and ALDH1A biomarkers. Where the association of ALDH1A positivity in the survival of patients was observed, as a possible prognostic marker and since it was not possible to identify an association of ALDH1A positivity with tumor cells and adjacent non-tumor tissue, it is shown to be of little value for the pathogenesis of head and neck cancer.

Key Words- Oral Cancer, Cáncer Stem Cells, potentially malignant disorders, CD44, ALDH1A.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALDH1A Aldheído Deshidrogenasa 1 Miembro de la familia A

ATP adenosin trifosfato

Bcl-2 Linfoma de células B

CD44 Antígeno CD44

COCE Carcinoma Oral de Células Escamosas

CCC Cáncer Cabeza y Cuello

CCECC Carcinoma de Células Escamosas de Cabeza y Cuello

CCE Carcinoma de Células Escamosas

CM Células Madre

CME Componentes Matriz Extracelular

CMT Células Madre Tumorales

COX-2 Ciclooxygenasa – 2

CSC Del inglés, Cancer Stem Cell

CTL Citotóxicos T Linfocitos

DE Displasia Epitelial

DPM Desórdenes Potencialmente Malignos

EGF Del inglés, Epidermal Growth Factor, traducido como factor de crecimiento epidérmico

EGFR Del inglés, Epidermal Growth Factor Receptor, traducido como

receptor del factor de crecimiento epidérmico

EO Eritroplasia Oral

HA Hialuronidasa

VPH Por sus siglas en inglés, Human Papiloma Virus, traducido como
Virus Papiloma Humano

IHQ Inmunohistoquímica

LO Leucoplasia Oral

LOH Por sus siglas en inglés (Loss of Heterozygosity) Pérdida de
Heterocigosidad

ME Matriz extracelular

MT Microambiente Tumoral

PD-L1 Ligando 1 de muerte celular programado

PD-1 Receptor Ligando 1 de muerte celular programado

PI Profundidad de Invasión

TEM Transición Epitelio Mesenquima

UFRGS Universidad Federal de Rio Grande del Sur

UdelaR Universidad de la República

SUMARIO

RESUMEN	6
ABSTRACT.....	8
1. INTRODUCCION.....	12
2. OBJETIVO GENERAL	17
3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
4 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	19

1. INTRODUCCION

El cáncer oral (CO) es el 6to. más común en el mundo, con 600.000 nuevos casos por año (SHIELD et al., 2017; SOLOMON; YOUNG; RISCHIN, 2018), siendo una de las neoplasias más agresivas entre los tumores malignos de cabeza y cuello. El carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (CCECC) comprende la mayoría de los cánceres de cabeza y cuello (CCC). El CCECC está constituido por un grupo heterogéneo de tumores que emergen del epitelio escamoso de la cavidad oral, orofaringe, laringe e hipofaringe, donde el carcinoma oral de células escamosas (COCE) es la variante histológica más frecuente, constituyendo el 90% de todos los cánceres de la región de cabeza y cuello (LI et al., 2018a; WESTRA; LEWIS, 2017). La clasificación de los tumores de la cavidad bucal por subsitio es útil, porque los patrones de diseminación y resultados clínicos varían de acuerdo con su localización, esto se relaciona a la variabilidad de la diseminación linfática en relación al sitio anatómico del tumor (IANCU; IANCU, 2015). La presentación clínica del COCE varía según el sitio de origen, más del 40% de los pacientes presentan involucramiento de los nódulos linfáticos regionales en el momento inicial de la enfermedad y el 10% presenta metástasis a distancia (MARUR; FORASTIERE, 2016). Esto es importante para entender el comportamiento biológico de los tumores malignos de la boca (HUANG; O'SULLIVAN, 2017).

La mortalidad por esta enfermedad sigue siendo alta debido al desarrollo de metástasis a distancia y la aparición de recurrencias locales y regionales, eventualmente inoperables que tienen una baja capacidad de respuesta a la radiación y/o a la quimioterapia. Por lo tanto, a pesar de las mejoras significativas en cirugía, radiación y quimioterapia, las tasas de supervivencia a largo plazo en pacientes con CCECC en estadios avanzados no han aumentado significativamente en los últimos 30 años (HANAHAN et al., 2011; SASAHIRA; KIRITA, 2018) .

Incluso en el estadio I de la enfermedad donde el 90% de los pacientes pueden curarse, el 10% recae en un desenlace fatal. En etapas más avanzadas, el subconjunto de pacientes que no responden a la terapia o sufren recurrencias aumenta, por razones hasta ahora desconocidas. Por lo tanto, es deseable desarrollar una comprensión más profunda de la biología de esta enfermedad para adaptar las estrategias terapéuticas actuales y desarrollar terapias que sean más efectivas (BAIS, 2019b; FERLAY et al., 2015).

A pesar de los avances en el diagnóstico del cáncer y tratamiento, la tasa de supervivencia general a los 5 años para COCE sigue siendo la más baja entre las malignidades, de hecho los valores de supervivencia no ha variado en las últimas tres décadas con valores <50% (International Agency for Research on Cancer et al., 2008; Siegel et al., 2017; Bais, 2019).

Los COCE de la mucosa bucal asociados con una exposición crónica al tabaco y al alcohol, presentan una alta carga mutacional, los carcinomas asociados con el virus tienen una patogénesis distinta, incorporan el material genómico del virus (HOLMES; WENIG, 2018). Los COCE asociados al HPV afectan a una población de pacientes que se superpone, pero es divergente de aquellos no relacionados al virus. Los pacientes con COCE positivos al HPV tienen más probabilidades de ser hombres, blancos, de mayor estatus socio-económico y 2 a 4 años más jóvenes que los carcinomas negativos al HPV (Stenmark et al., 2017; Holmes & Wenig, 2018).

A pesar de monitorear al paciente, luego de una terapia quirúrgica y no quirúrgica, la tasa de mortalidad general se mantiene sin cambios, probablemente debido a la recurrencia del tumor ya sea localmente o en un sitio remoto. El desarrollo de recurrencias y segundos tumores primarios, incluso cuando los márgenes quirúrgicos están histopatológicamente libres de tumor, esto se asocia al concepto de cancerización

de campo (Slaughter et al., 1953; Feller et al., 2013).

La evaluación precisa del estado de los ganglios linfáticos es de gran importancia para el pronóstico y la decisión terapéutica (SHAH JP, 2009). Si bien el manejo del cuello en COCE con nódulos positivo está claramente definido, es más discutible en COCE que se presenta sin evidencia clínica de enfermedad cervical (DA SILVA SD, HIER M, MLYNAREK A, KOWALSKI LP, 2012). En los casos de COCE T3-T4, existe un consenso en cuanto a tratar el cuello de manera electiva, ya que la probabilidad de metástasis ocultas en los ganglios linfáticos es alta y el acceso a los vasos del cuello a menudo es necesario para la reconstrucción del colgajo libre. En la enfermedad local temprana T1-T2, el riesgo de metástasis oculta en el cuello es más bajo, alrededor del 20% - 40%, y es menos probable la necesidad de la reconstrucción con un colgajo libre (STOECKLI SJ., 2007; D'CRUZ AK, VAISH R, KAPRE N, 2015).

Actualmente es recomendado por algunos autores la evaluación de la profundidad de invasión (PI) del tumor primario (BALASUBRAMANIAN D, EBRAHIMI A, GUPTA R, 2014) (MADANA J, LALIBERTE F, MORAND GB, 2015). El impacto de la PI en el pronóstico del COCE ha sido abordado en la edición más reciente del sistema de clasificación TNM, por la American Joint Committee on cancer (AJCC) (LYDIATT WM, PATEL SG, O'SULLIVAN B, 2017), donde establece que un tumor con una PI de más de 10 mm se clasifica nuevamente como T3, donde 4-5 mm PI se utiliza como umbral para la cirugía electiva de cuello (LYDIATT WM, PATEL SG, O'SULLIVAN B, 2017).

Los tumores epiteliales, incluido el COCE, presentan una heterogeneidad celular, que se explica por las mutaciones que se producen debido a la inestabilidad genética y a factores ambientales. La hipótesis que explica la heterogeneidad funcional es que no todas las células cancerosas en los tumores sólidos tienen la misma o similar capacidad para impulsar la formación de tumores (REYA, T., MORRISON, S. J., CLARKE, M. F.,

& WEISSMAN, 2001). Esta observación se sustenta con la presencia de un subconjunto de células llamadas células madre tumorales (CMT), que sugiere que un tumor puede verse como un órgano alterado que se sostiene, de manera similar a los tejidos normales, por una célula madre que impulsa la carcinogénesis además de una gran población de células diferenciadas que constituye la mayor parte del volumen tumoral, pero que carecen de potencial tumorigénico (PRINCE et al., 2007a).

Un concepto jerárquico actual de la carcinogénesis propone que las CMT se sitúen jerárquicamente por encima de una población de células heterogéneas dentro del tumor, y las CMT se definan funcionalmente como un subconjunto de células que muestran características de células madre, incluida la capacidad de dividirse asimétricamente, lo que resulta en la autorenovación y la producción de poblaciones de células cancerosas heterogéneas que están por debajo en la escala jerárquica (SABRINA DANIELA DA SILVA ET AL., 2011).

La incorporación de las CMT en el análisis de la información molecular no solo proporcionaría una determinación más sensible y específica de los restos de células tumorales, sino que también permitiría la detección del campo "defectuoso" o alterado que no se pueden definir histológicamente, y por lo tanto permitiría una mejor comprensión de la progresión de la enfermedad y la recurrencia del tumor (CLARK; MAO, 2017). Fue reportado que estos campos pueden tener un diámetro bastante grande, y un estudio observó un campo "defectuoso" de más de 7 cm, que incluía alteraciones genéticas en la mucosa histológicamente normal (BANIEBRAHIMI; MIR; KHANMOHAMMADI, [s.d.]; TABOR MP, BRAKENHOFF RH; AL., 2002).

Las CMT son un tipo de CM que se diferencian de manera aberrante y puede producir poblaciones de células tumorales que son fenotípicamente diferentes, las CMT conducen la tumorigénesis y el crecimiento tumoral. Sin embargo, el conocimiento de

las proporciones de CMT y CM normales en el tejido sano o tumoral se ve dificultado por la falta de marcadores específicos de CM y CMT, especialmente en COCE y los CCC (BOMAN BM, 2008). Fue informado que un COCE contiene menos de una CMT por cada 2500 células (ISHIZAWA K, RASHEED Z, 2010).

Las proteínas son interesantes como biomarcadores potenciales debido al hecho de que posiblemente participan más diversamente en las actividades celulares que el ADN y el ARN. Por lo tanto, se sugiere que las proteínas pueden ser biomarcadores ideales, particularmente aquellas que son moléculas reguladoras en vías celulares relevantes. Los métodos para medir las proteínas mediante el ensayo inmunoenzimático (ELISA) y la inmunohistoquímica (IHQ) están bien establecidos (SCHAAIJ-VISSER TB, BRAKENHOFF RH, LEEMANS CR, HECK AJ, 2010).

El destino de las CMT está determinado por sus interacciones con las células del microambiente tumoral, incluidos los fibroblastos y las células hematopoyéticas, los componentes de la matriz extracelular (CME), como la fibronectina, la laminina, el colágeno, la osteopontina o el hialuronidasa (HA). Estas señales extracelulares contribuyen a la formación de un nicho que regula la quiescencia, la proliferación y la diseminación de las CMT.

CD44 es una proteína de la superficie celular que interactúa con una variedad de componentes de la CME, citoquinas y factores de crecimiento secretados por células presentes en el microambiente del tumor. Por lo tanto, CD44 ha sido identificado como un marcador de CMT en una variedad de tumores (MORATH; HARTMANN; ORIAN-ROUSSEAU, 2016) . El primer marcador de CMT que se usó en el cáncer de mama fue CD44, Prince et al. en 2007 identificaron un grupo de células CD44 + consideradas como CMT en COCE que podrían reproducir en serie in vivo el tumor original (PRINCE et al., 2007a).

ALDH1A es una isoforma de la aldehído deshidrogenasa, que se expresa en los humanos como una isoenzima detoxificante citosólica que oxida los aldehídos intracelulares y contribuye a la oxidación del retinol a ácido retinoico en la diferenciación temprana de las células madre (MARCATO P, DEAN CA, 2011). Estudios previos han demostrado que ALDH1A es un marcador específico para la identificación de CMT de CCC, y desempeña un papel crucial en el mantenimiento de las propiedades de autorenovación y tumorigenicidad de las CMT derivadas de COCE (CHEN YC, CHEN YW, HSU HS, TSENG LM, HUANG PI, LU KH, CHEN DT, TAI LK, YUNG MC, 2009; CLAY MR, TABOR M, OWEN JH, CAREV TE, BRADFORD CR, GOLF GT, 2010). La sobreexpresión de ALDH1A y podoplanin fueron evaluadas en LO, y concluyeron son buenos marcadores de transformación maligna y los asociaron con el riesgo de transformación de las LO (HABIBA et al., 2017).

Las CMT se consideran importantes en la iniciación y progresión del cáncer y ejercen sus funciones de tumorigénesis afectando vías celulares y moleculares. Varios estudios documentaron que estas subpoblaciones de células cancerosas están asociadas a diferentes propiedades del cáncer, como metástasis, tumorigenicidad y recurrencia. Por lo cual apuntar a las CMT sería una de las opciones de tratamiento más alentadoras, cuyo objetivo es mejorar la eficacia y la especificidad para erradicar los tumores. Las investigaciones sobre los tratamientos dirigidos hacia las CMT serían uno de los campos en pleno desarrollo. Por lo tanto, una mayor y mejor comprensión de las acciones de las CMT puede brindar oportunidades únicas para desarrollar nuevas plataformas terapéuticas para atacar las CMT (BANIEBRAHIMI; MIR; KHANMOHAMMADI, 2020).

2. OBJETIVO GENERAL

- 2.1. Identificar las células epiteliales CD44 + y ALDH1AA +, en distintas etapas de la carcinogénesis oral.

3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 3.1. Actualizar y revisar los aspectos relacionados con la carcinogénesis y la relación de la células madre tumorales en el cáncer de cabeza y cuello.
- 3.2. Identificar y localizar la inmunexpresión positiva de CD44 y ALDH1A, en las células epiteliales de las lesiones con y sin displasia epitelial.
- 3.3. Identificar y localizar la inmunexpresión positiva de CD44 y ALDH1A, en las células epiteliales de los carcinomas de células escamosas de la mucosa bucal y el tejido epitelial no tumoral adyacente.
- 3.4. Identificar y localizar la inmunexpresión positiva de CD44 y ALDH1A, en las células epiteliales de las lesiones benignas de la mucosa bucal (grupo control).
- 3.5. Analizar la asociación entre la inmunexpresión positiva de CD44 y ALDH1A en las distintas etapas de la carcinogénesis oral con los parámetros clínico-patológicos.

4 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

BAIS, M. V. Impact of Epigenetic Regulation on Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. **Journal of Dental Research**, [s. l.], p. 268–276, 2019.

BALASUBRAMANIAN D, EBRAHIMI A, GUPTA R, Et al. Tumour thickness as a predictor of nodal metastases in oral cancer: comparison between tongue and floor of mouth subsites. **Oral Oncol.**, [s. l.], v. 50(12), p. 1165–1168, 2014.

BANIEBRAHIMI, Ghazaleh; MIR, Fatemeh; KHANMOHAMMADI, Razieh. Cancer stem cells and oral cancer: Insights into molecular mechanisms and therapeutic approaches. **Cancer Cell International**, [s. l.], v. 20, n. 1, p. 1–15, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s12935-020-01192-0>>

BOMAN BM, Wicha MS. Cancer stem cells: a step toward the cure. **J Clin Oncol**, [s. l.], v. 26, p. 2795–2799, 2008.

CHEN YC, CHEN YW, HSU HS, TSENG LM, HUANG PI, LU KH, CHEN DT, TAI LK, YUNG MC, Chang SC. Aldehyde dehydrogenase 1 is a putative marker for cancer stem cells in head and neck squamous cancer. **Biochem Biophys Res Commun**, [s. l.], v. 385, p. 307–313, 2009.

CLARK, David J.; MAO, Li. Understanding the Surgical Margin. **Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America**, [s. l.], v. 29, n. 3, p. 245–258, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.coms.2017.03.002>>

CLAY MR, TABOR M, OWEN JH, CAREV TE, BRADFORD CR, GOLF

GT, Wicha MS and Prince ME. Single-marker identification of head and neck squamous cell carcinoma cancer stem cells with aldehyde dehydrogenase. **Head Neck**, [s. l.], v. 32, p. 1195–1201, 2010.

D'CRUZ AK, VAISH R, KAPRE N, Et al. Elective versus therapeutic neck dissection in node-negative oral cancer. **N Engl J Med.**, [s. l.], v. 373(6), p. 521–529., 2015.

DA SILVA SD, HIER M, MLYNAREK A, KOWALSKI LP, Alaoui-Jamali MA. Recurrent oral cancer: current and emerging therapeutic approaches. **Front Pharmacol.**, [s. l.], v. 3, p. 149, 2012.

FELLER, Liviu L. et al. Oral squamous cell carcinoma in relation to field precancerisation: Pathobiology. **Cancer Cell International**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 1–8, 2013.

FERLAY, Jacques et al. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. **International Journal of Cancer**, [s. l.], v. 136, n. 5, 2015.

HABIBA, Umma et al. ALDH1A and podoplanin expression patterns predict the risk of malignant transformation in oral leukoplakia. **Oncology Letters**, [s. l.], v. 13, p. 321–328, 2017.

HANAHAHAN, Douglas et al. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. **Cell**, [s. l.], v. 144, n. 5, p. 646–74, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/nm.2328%5Cnhttp://dx.doi.org/10.1038/nrc3080%5Cnhttp://iopscience.iop.org/0034->

4885/777/076602/article/%5Cnhttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21376230>

HOLMES, Brittany J.; WENIG, Bruce M. Virus-associated carcinomas of the head & neck: Update from the 2017 WHO classification. **Annals of Diagnostic Pathology**, [s. l.], v. 38, n. October 2018, p. 29–42, 2018. Disponivel em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S109291341830323X>>

HUANG, Shao Hui; O’SULLIVAN, Brian. **Overview of the 8th Edition TNM Classification for Head and Neck Cancer Current Treatment Options in Oncology**, 2017.

IANCU, D. T.; IANCU, Roxana Irina. Oral Cavity Cancers – General Review. **Romanian Journal of Functional & Clinical, Macro- & Microscopical Anatomy & of Anthropology I**, [s. l.], v. XIV, n. 4, 2015.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER; BOYLE, Peter; LEVIN, Bernard. World Cancer report 2008. **Cancer Control**, [s. l.], v. 199, p. 512, 2008.

ISHIZAWA K, RASHEED Z, Karisch R. Tumor-initiating cells are rare in many human tumors. **Cell Stem Cell**, [s. l.], v. 7, p. 279–282, 2010.

LI, Chia Cheng et al. Oral Cancer: Genetics and the Role of Precision Medicine. **Dental Clinics of North America**, [s. l.], v. 62, n. 1, p. 29–46, 2018.

LYDIATT WM, PATEL SG, O’SULLIVAN B, Et al. Head and neck cancers-major changes in the American Joint Committee on cancer eighth edition cancer staging manual. **CA Cancer J Clin.**, [s. l.], v. 67(2), p. 122–137, 2017.

MADANA J, LALIBERTE F, MORAND GB, Et al. Computerized

tomography based tumor-thickness measurement is useful to predict postoperative pathological tumor thickness in oral tongue squamous cell carcinoma. **J Otolaryngol Head Neck Surg.**, [s. l.], p. 44:49, 2015.

MARCATO P, DEAN CA, Giacomantonio CA and Lee PW. Aldehyde dehydrogenase: Its role as a cancer stem cell marker comes down to. **Cell Cycle**, [s. l.], v. 10, p. 1378–1384, 2011.

MARUR, Shanthi; FORASTIERE, Arlene A. Head and Neck Squamous Cell Carcinoma: Update on Epidemiology, Diagnosis, and Treatment. **Mayo Clinic Proceedings**, [s. l.], v. 91, n. 3, p. 386–396, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.mayocp.2015.12.017>>

MORATH, I.; HARTMANN, T. N.; ORIAN-ROUSSEAU, V. CD44: More than a mere stem cell marker. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, [s. l.], v. 81, p. 166–173, 2016. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1357272516302710>>. Acesso em: 1 abr. 2019.

PRINCE, M. E. et al. Identification of a subpopulation of cells with cancer stem cell properties in head and neck squamous cell carcinoma. **PNAS**, [s. l.], v. 104, p. 973–978, 2007.

REYA, T., MORRISON, S. J., CLARKE, M. F., & WEISSMAN, I. L. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. **Nature**, [s. l.], v. 414, p. 105–111, 2001.

SASAHIRA, Tomonori; KIRITA, Tadaaki. **Hallmarks of cancer-related newly prognostic factors of oral squamous cell carcinoma**International

Journal of Molecular Sciences, 2018.

SCHAAIJ-VISSER TB, BRAKENHOFF RH, LEEMANS CR, HECK AJ, Slijper M. Protein biomarker discovery for head and neck cancer. **J Proteomics.**, [s. l.], p. 1790–803, 2010.

SHAH JP, Gil Z. Current concepts in management of oral cancer--surgery. **Oral Oncol**, [s. l.], v. 45(4-5), p. 394–401, 2009.

SHIELD, Kevin D. et al. The global incidence of lip, oral cavity, and pharyngeal cancers by subsite in 2012. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, [s. l.], v. 67, n. 1, p. 51–64, 2017. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.3322/caac.21384>>

SIEGEL, Rebecca L.; MILLER, Kimberly D.; JEMAL, Ahmedin. Cancer Statistics, 2017. **CA: a cancer journal for clinicians**, [s. l.], v. 67, n. 1, 2017.

SILVA, Sabrina Daniela Da et al. Advances and applications of oral cancer basic research. **Oral Oncology**, [s. l.], v. 47, n. 9, p. 783–791, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.oraloncology.2011.07.004>>

SLAUGHTER, Danely P.; SOUTHWICK, Harry W.; SMEJKAL, Walter. “Field cancerization” in oral stratified squamous epithelium. Clinical implications of multicentric origin. **Cancer**, [s. l.], v. 6, n. 5, p. 963–968, 1953.

SOLOMON, Benjamin; YOUNG, Richard J.; RISCHIN, Danny. **Head and neck squamous cell carcinoma: Genomics and emerging biomarkers for immunomodulatory cancer treatments** **Seminars in Cancer Biology**, 2018.

STENMARK, Matthew H. et al. Influence of human papillomavirus on the

clinical presentation of oropharyngeal carcinoma in the United States.

Laryngoscope, [s. l.], v. 127, n. 10, p. 2270–2278, 2017.

STOECKLI SJ. Sentinel node biopsy for oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma of the head and neck. **Laryngoscope.**, [s. l.], v. 117(9), p. 1539–1551, 2007.

TABOR MP, BRAKENHOFF RH, Ruijter-Schippers HJ; AL., Et. Multiple head and neck tumors frequently originate from a single preneoplastic lesion. **Am J Pathol**, [s. l.], v. 161(3), p. 1051–60, 2002.

WESTRA, William H.; LEWIS, James S. Update from the 4th Edition of the World Health Organization Classification of Head and Neck Tumours: Oropharynx. **Head and Neck Pathology**, [s. l.], v. 11, n. 1, 2017.