



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

GABRIELA OLIVEIRA BORG

**CÉLULAS TRONCO TUMORAIS E SUA RELAÇÃO
COM CARCINOMAS ESPINOCELULARES DE
CABEÇA E PESCOÇO: REVISÃO DE LITERATURA**

Piracicaba
2019

GABRIELA OLIVEIRA BORG

**CÉLULAS TRONCO TUMORAIS E SUA RELAÇÃO
COM CARCINOMAS ESPINOCELULARES DE
CABEÇA E PESCOÇO: REVISÃO DE LITERATURA**

Monografia apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Especialista em Estomatologia.

Orientador: Prof. Dr. Pablo Agustin Vargas

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA MONOGRAFIA APRESENTADA PELA ALUNA GABRIELA OLIVEIRA BORG E ORIENTADA PELO PROF. DR. PABLO AGUSTIN VARGAS.

Piracicaba

2019

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba
Marilene Girello - CRB 8/6159

B644c Borgo, Gabriela Oliveira, 1995-
Células tronco tumorais e sua relação com carcinomas espinocelulares de cabeça e pescoço : revisão da literatura / Gabriela Oliveira Borgo. – Piracicaba, SP : [s.n.], 2019.

Orientador: Pablo Agustin Vargas.
Trabalho de Conclusão de Curso (especialização) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Neoplasias de cabeça e pescoço. 2. Células-tronco neoplásicas. 3. Carcinoma de células escamosas. I. Vargas, Pablo Agustin, 1973-. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Informações adicionais, complementares

Título em outro idioma: Cancer stem cells and their relationship with head and neck squamous cell carcinomas: a literature review

Palavras-chave em inglês:

Head and neck neoplasms

Neoplastic stem cells

Carcinoma, squamous cell

Área de concentração: Estomatologia

Titulação: Especialista

Data de entrega do trabalho definitivo: 30-11-2019

DEDICATÓRIA

Dedico essa monografia aos meus pais, Rosimarcy e Claudio, e a minha irmã, Luiza, por todo amor, incentivo e apoio incondicional que tive ao longo dos anos.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Pablo Agustin Vargas, pela oportunidade, pela orientação e pelo cuidado durante toda a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Márcio Ajudarte Lopes e ao Prof. Dr. Alan Roger dos Santos Silva, por me coroarem com seu vasto conhecimento e me proporcionaram um imensurável aprendizado.

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba, na pessoa do seu Diretor, Prof. Dr. Francisco Haiter Neto, por permitir que esse trabalho tenha sido realizado.

À toda equipe de profissionais do Orocentro, por todo acolhimento e confiança durante os períodos de atendimento.

RESUMO

Dentre os tipos de tumores que acometem a região de cabeça e pescoço, o carcinoma espinocelular (CEC) é o tipo que se desenvolve com maior frequência nessa área. Além de possuírem uma alta taxa de mortalidade, os CECs também estão relacionados a recidivas e metástases a distância, fatores ligados a piores prognósticos, e acredita-se que tais características estejam ligadas a heterogenicidade do tumor, onde uma grande parcela de suas células constituintes contribuem para o seu crescimento, e apenas uma pequena porcentagem participa ativamente da regeneração e migração celular, as chamadas células-tronco tumorais (CTTs). Esse trabalho avaliou o papel das CTTs sobre a progressão tumoral e os possíveis fatores que podem desencadear uma resposta negativa do tumor frente aos tratamentos oncológicos existentes. As CTTs são caracterizadas por se localizarem próximo aos vasos sanguíneos, em microambientes tumorais onde as demais células ali presentes favorecem o seu crescimento e multiplicação, e, devido a alterações em seu fenótipo (transição epitelial-mesenquimal e transição mesenquimal-epitelial), são capazes de não só evadir da identificação por parte do sistema imune do paciente, mas também de formarem novos focos tumorais a distância. Existem poucos estudos que visem a compreensão de suas propriedades dentro dos CECs de cabeça e pescoço, e ainda não há a formulação de um protocolo de tratamento ideal que auxilie na completa erradicação das CTTs. Apesar disso, acredita-se que o controle dos mecanismos responsáveis pela sua sobrevivência frente aos tratamentos oncológicos já existentes seja uma boa alternativa para se evitar a formação de metástases e recidivas.

Palavras-chave: Tumor de cabeça e pescoço. Células tronco tumorais. Carcinoma espinocelular. Revisão da literatura.

ABSTRACT

Among the types of tumors that affect the head and neck region, squamous cell carcinoma (SCC) is the type that most frequently develops in this area. In addition to having a high mortality rate, SCCs are also related to recurrence and distant metastasis, two factors that are linked to worse prognosis, and these factors are related to tumor's heterogeneity, where a large portion of its cells contribute for the tumor growth, and only a small fraction of cells actively participate in self-regeneration and migration, the so-called cancer stem cells (CSC). This paper reviewed the role of CSC on tumor progression and the possible factors that may trigger a negative tumor response to existing cancer treatments. CSC are characterized by cells who are located near the blood vessels, in tumor microenvironments where other cells favor their growth and multiplication, and due to changes in their phenotype (epithelial-mesenchymal transition and mesenchymal-epithelial transition), they are able to not only evade the patient's immune system, but also to form new tumors. There are still only a few studies aimed to understand the properties of CSCs within head and neck SCCs, and there is no formulation of an ideal treatment protocol that assists in the complete eradication of CSCs. Nevertheless, it is relevant to know the cells mechanisms responsible for their survival against cancer treatments is a good alternative to avoid the formation of metastases and recurrences.

Keywords: Head and neck. Cancer Stem Cells. Squamous cell carcinoma. Literature review.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CEC	–	Carcinoma espinocelular
CTT	–	Células-tronco tumorais
EGFR	–	Fator de crescimento epidérmico
HDAC2	–	histona desacetilase 2
HIF-1 α	–	Fator indutor de hipóxia 1 α
HLA	–	Antígeno leucocitário humano
IFN- γ	–	intérferon gama
IL-6	–	interleucina 6
MHC	–	complexo principal de histocompatibilidade
NF- κ B	–	Fator nuclear kappa B
NI	–	Não informa
pSTAT1	–	Transdutor de sinal e ativador de transcrição 1 ativado
TEM	–	Transição epitelial-mesenquimal
TME	–	Transição mesenquimal-epitelial

SUMÁRIO

1.	1 INTRODUÇÃO	10
2.	2 PROPOSIÇÃO	12
3.	3 REVISÃO DA LITERATURA	13
	3.1 Evolução clonal versus CTT	13
	3.2 CTT	14
	3.3 Microambiente tumoral	16
	3.4 Transição epitelial-mesenquimal	17
	3.5 Identificação das CTT em cec de cabeça e pescoço	19
	3.6 Terapias alvo contra CTT	23
4.	4 DISCUSSÃO	28
5.	5 CONCLUSÃO	34
	REFERÊNCIAS	35

1 INTRODUÇÃO

Câncer de cabeça e pescoço é o nome dado ao conjunto de tumores que acometem os tecidos da cabeça, face, pescoço e estruturas da cavidade oral (Nör e Gutkind, 2018). Apesar desse grupo abranger uma grande variedade de tumores com etiologias e patobiologias complexas, o carcinoma espinocelular (CEC) (Figura 1) é o tipo que se desenvolve com maior frequência nessa região, com uma incidência alta e uma taxa de mortalidade acima de 50% (Ferlay et al., 2010). Os maiores fatores de risco para esse tipo de câncer estão relacionados com o uso de tabaco e álcool, e também pela infecção do Papilomavirus humano (HPV) (Gillison et al., 2000; Argiris et al., 2008; Worden et al., 2008).

Atualmente, sabe-se que os tumores são estruturas complexas, compostos por células tumorais que sofreram uma mutação prévia e que necessitam de interações com os tecidos saudáveis adjacentes para garantir a sua sobrevivência (Hanahan e Weinberg, 2011). Alguns pesquisadores tomam como hipótese nula a ideia de que todos os tumores são formados por células cancerosas homogêneas, onde todas as células têm a mesma capacidade e probabilidade de gerar um tumor ou metástase (Krishnamurthy e Nör, 2012). Porém, essa hipótese já foi negada com a presença de fenótipos heterogêneos nas células que compõem os tumores (Albers et al., 2012). Paralelamente, outros estudos sugerem que, apesar de um tumor possuir uma hierarquização celular em seu interior, a grande maioria de suas células contribuem apenas para o crescimento e a expansão do tumor. As células tumorais que possuem de fato a capacidade de gerar um novo câncer, as células denominadas células-tronco tumorais (CTT), na verdade constituem uma parte muito pequena do tumor (Reya et al., 2001; Ailles e Weissman, 2007).

Célula-tronco é uma “célula-mãe” não especializada que dá origem a toda uma linha germinativa (Till e McCulloch, 1961; Ramalho-Santos e Willenbring, 2007). Hoje, é possível distinguir quatro tipos de células-tronco no organismo: embrionárias, somáticas ou adultas, manipuladas, e as tumorais. Apesar de promoverem uma doença, as CTT compartilham das mesmas habilidades das demais, como a capacidade de auto-renovação (produção de novas células-tronco), além de ser capaz de originar uma diversidade de células diferenciadas, resultando assim na formação e no crescimento tumoral (Girouard e Murphy, 2011).

Devido à grande variedade de características atribuídas às CTTs, em 2006, a Associação Americana para Pesquisa do Câncer (AACR) determinou que essa célula está localizada dentro de um tumor, e que possui a capacidade de se auto-renovar e de se diferenciar para gerar linhagens heterogêneas de células cancerosas que compõem tal tumor (Clarke et al., 2007).

Enquanto alguns estudos apontam que as CTTs são originadas de células-tronco somáticas que sofreram mutação (Reya et al., 2001), outros autores sugerem que as CTTs não são apenas originadas dessa forma (Clarke et al., 2006), mas que também são capazes de surgir a partir de células progenitoras danificadas (Clarke et al., 2006), e da transformação oncogênica de células amplificadoras transitórias (Jamieson et al., 2004; Krivtsov et al., 2006). Paralelamente, outros autores indicam que as CTTs possam ter sua origem a partir de outros tipos celulares que chegaram ao fim de sua diferenciação (Sun et al., 2005), ou até mesmo a partir de células somáticas que foram reativadas (Gupta et al., 2009; Welte et al., 2010) ou que se uniram a outra célula somática mutada (Bjerkvig et al., 2005).

Outro fator que vem sendo levado em consideração é a relação entre as células tumorais e as células normais, e como isso pode interferir no desenvolvimento do tumor. Sabe-se que as células-tronco, tanto normais quanto neoplásicas, dependem de seu microambiente local para que possam sobreviver e exercer sua função (Borovski et al., 2011). Quando se fala de tumores, entende-se que os componentes celulares e não celulares de seu microambiente atuam diretamente na proliferação e na auto-renovação das células, mantendo as CTT em seu estado indiferenciado (Kuhn e Tuan, 2010). Dentre os componentes de seu microambiente, pode-se observar principalmente células estromais não epiteliais, células inflamatórias e uma intensa vascularização, que dão apoio e suporte para as células-tronco neoplásicas (Fuchs et al., 2004).

Além disso, sabe-se que os CECs têm uma alta taxa de recidiva, beirando os 20-40%, com possibilidade de desenvolvimento de metástase nos dois anos subsequentes (Forastiere et al., 2003). Essa porcentagem se deve às CTT, que são capazes de resistir e sobreviver ao tratamento quimioterápico (Okamoto et al., 2009; Zhang et al., 2010; Nör et al., 2014). Apesar de não se saber quais mecanismos tornam essas células resistentes, é de extrema importância que sejam desenvolvidos métodos de identificação e isolamento de tais células para que seja possível compreender seus processos fisiológicos a fim de encontrar métodos para superar a resistência à quimioterapia (Prince e Ailles, 2008; Kim et al., 2016).

2 PROPOSIÇÃO

Esse trabalho se propôs a fazer uma revisão da literatura sobre o papel de células-tronco tumorais em carcinomas espinocelulares de cabeça e pescoço, visando entender o conhecimento atingido sobre este assunto na literatura científica atual.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Evolução clonal versus CTT

Hanahan e Weinbert (2011) descrevem que, depois de muito estudo nas últimas décadas, os pesquisadores foram capazes de definir o câncer como um complexo tecido formado por células tumorais, as quais dependem de interações com os tecidos e células saudáveis adjacentes para progredirem em direção à malignidade, de forma que se tornam capazes de superar as defesas de seu hospedeiro. Posteriormente, Krishnamurthy e Nör (2012) reforçaram o conceito de que um tumor pode ser visto como um “órgão” como outro qualquer, formado por células modificadas e que necessitam de interações com outras células saudáveis adjacentes ao microambiente tumoral.

De um lado, existe a hipótese “estocástica” ou “evolução clonal”, proposta por Nowell (1976), Reya et al. (2001), e por Campbell e Polyak (2007), onde todas as células tumorais são homogêneas e possuem a mesma probabilidade de iniciar e propagar tumores e metástases. Com base nisso, eles afirmam que não há seletividade entre as células cancerosas em um tecido, uma vez que cada célula tem o mesmo potencial de iniciar um novo tumor. Neste modelo, a heterogeneidade do tumor é definida por diferenciação celular, variação genética e epigenética intraclonal, e influências microambientais

Do outro lado, Wang e Dick (2005) e Albers et al. (2011) reforçam que existe uma hipótese que sugere a heterogeneidade dos tumores, explicada por mudanças espontâneas nos fenótipos das células tumorais, onde apenas uma pequena quantidade de células é responsável pelo desenvolvimento e crescimento do tumor. Dentro dessa hipótese, Clarke et al. (2006) afirmam que as CTT possuem tal capacidade, e ainda afirmam que elas são as únicas capazes de produzir novas gerações de células heterogêneas cancerígenas responsáveis por compor o tumor.

Os primeiros estudos capazes de identificar as CTT foram realizados por Lapidot et al. (1994) e por Bonnet e Dick (1997), onde tais células oriundas de pacientes com leucemia mieloide aguda foram isoladas e implantadas em camundongos imunocomprometidos. Em ambos os estudos, foi possível observar que as células cancerígenas foram selecionadas com base em marcadores de superfície de células-tronco normais, e elas possuíam a mesma capacidade de auto-manutenção, extensa proliferação e

alta capacidade de diferenciação, além de gerarem outras linhagens de células com as mesmas propriedades nos tumores.

Depois de outros pesquisadores identificarem tais células em diversos tipos de tumores, Prince et al. (2007) foram capazes de identificar e isolar uma subpopulação de células que expressavam o marcador de superfície CD44 e que também exibiam características semelhantes às células-tronco normais, sendo capazes de reproduzir o tumor em camundongos imunossuprimidos após a implantação de tais células.

Zhang, Filho e Nör (2012) destacam que alguns fatores cruciais para o desenvolvimento fisiológico do corpo humano também desempenham um papel importante nos estágios iniciais da formação de um tumor. Um bom exemplo seria a sinalização Wnt, que é crítica para o desenvolvimento embrionário e para a auto-renovação homeostática (Clevers, 2006), porém, quando sofre mutações somáticas, esta se associa à formação de vários tipos tumorais (Reya e Clevers, 2005; Clevers, 2006). Além disso, eles também destacam a importância da via de sinalização Notch1, que, conforme observado previamente em outros estudos (Swiatek et al., 1994), além de ter um papel fundamental no processo de embriogênese, também é necessário na formação de CTT em diversos tipos de tumor (Sikandar et al., 2010), e suas mutações são frequentemente encontradas em tumores de cabeça e pescoço (Agrawal et al., 2011; Stransky et al., 2011)

3.2 CTT

Mesmo após numerosas pesquisas, não se sabe ao certo se as CTT são originadas unicamente da transformação de células-tronco normais (Satpute et al., 2013). Visvader e Lindeman (2008) também questionam se essas células também podem ser derivadas de progenitores restritos ou de células diferenciadas que adquiriram propriedades de auto-renovação como consequência de alterações genéticas e epigenéticas.

Zhou e Jian (2008) questionam ainda a origem de tais células em CEC em boca, uma vez que o epitélio oral humano demora em média 14-24 dias para sua renovação (Squier e Kremer, 2001), um período de tempo relativamente curto para que tais células sejam capazes de acumular alterações genéticas suficientes para resultar na iniciação de um tumor (Braakhuis et al., 2004). Levando em conta a estratificação da mucosa oral e suas características funcionais (Tudor et al., 2004; Stephens e Genever, 2007), espera-se que as

CTT sejam originadas de células-tronco adultas derivadas da camada basal, de células progenitoras, ou até mesmo de células maduras diferenciadas, que são capazes de acumular alterações genéticas adicionais com o tempo (Figura 1). Quando se trata da patogênese dos cânceres de cabeça e pescoço, as CTT têm se mostrado cada vez mais importantes, uma vez que estas não possuem um único perfil molecular predominante, são capazes de esquivar-se das terapias oncológicas tradicionais, e ainda são capazes de formar um tumor com poucas células (Pearson et al., 2016).

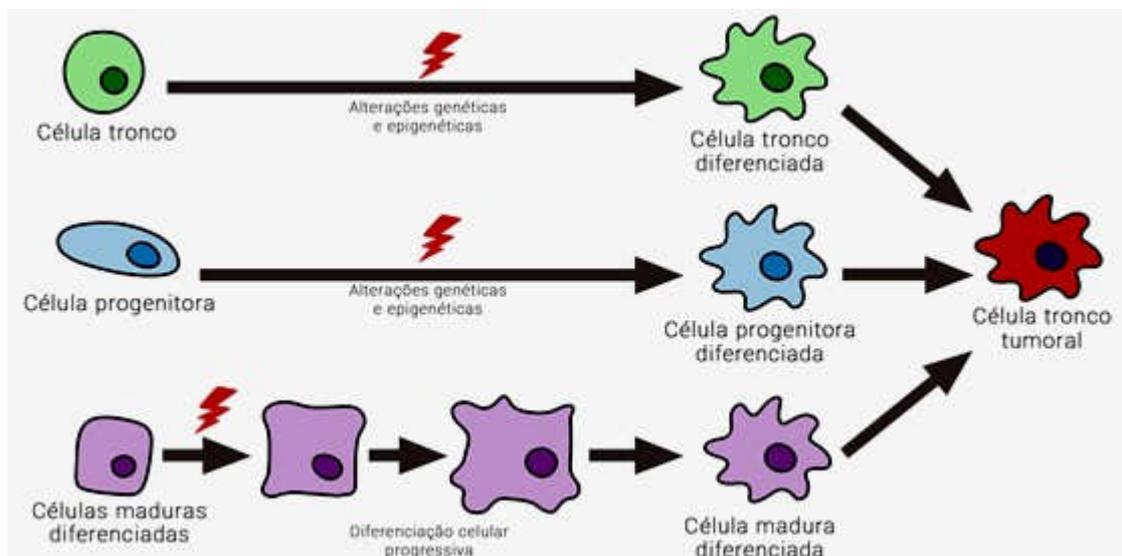


Figura 1 - Hipótese sobre a origem das CTT

Graziano et al. (2008) especificam as principais características das células-tronco normais, sendo elas: 1) a capacidade de se proliferar extensivamente de forma que sejam originadas células-filhas ou células progenitoras, que se diferenciam em diferentes tipos celulares que dão origem aos tecidos e órgãos; 2) a sua capacidade de auto-renovação. Seguindo esses mesmos princípios, as CTT foram definidas por Bonnet et al. (1997) e Reya T et al. (2001) como um subconjunto de células presentes dentro do tumor que também exibem a capacidade de auto-renovação e de multipotência, atuando então como células progenitoras do câncer.

Prince e Ailles (2008) enumeraram em seu artigo as principais características relacionadas à hipótese de CTT, sendo elas: 1) Apenas uma pequena porção das células tumorais tem potencial de gerar um novo tumor quando transplantadas em ratos imunossuprimidos; 2) As subpopulações de CTT podem ser separadas de outras células tumorais a partir de marcadores de superfície distintos; 3) Tumores resultantes de CTT possuem células tumorigênicas e não-tumorigênicas; e 4) as subpopulações de CTT podem

ser transplantadas serialmente a partir de múltiplas gerações, o que sinaliza a existência de uma população que se renova automaticamente.

Quando se fala de CTT, algumas características inerentes às células-tronco saudáveis permanecem, como a alta capacidade de migração, a auto-renovação, a sua resistência às drogas e a alta capacidade de proliferação. Reya et al. (2001) salientam que os tumores sólidos são formados principalmente por populações de células heterogêneas que possuem tais propriedades, garantindo ao tumor uma alta proliferação e expansão, e inclusive um crescimento em tecidos diferentes do seu de origem.

Satpute et al. (2013) destacam em seu artigo que as CTT são divididas em pequenas subpopulações no interior do tumor, e cada uma desempenha sua função. A primeira subpopulação diz respeito às células que permanecem incorporadas ao epitélio e que participam do aumento de volume do tumor, além de serem resistentes aos tratamentos de químico e radioterapia. A segunda subpopulação refere-se às células que se localizam nas margens do tumor e que passam pelo processo de transição epitelial-mesenquimal (TEM), adquirindo então a capacidade de migrar para outros locais do corpo e formar focos metastáticos.

3.3 Microambiente tumoral

Borovski et al. (2011) destacam que, tanto células-tronco fisiológicas quanto CTT dependem de seu microambiente para sobrevivência e funcionamento adequado. Ainda nesse contexto, a presença de sinais proliferativos e de autorrenovação oriundos dos componentes do nicho tumoral são os principais responsáveis por manterem às CTT em um estado indiferenciado (Kuhn e Tuan, 2010).

Dentro do microambiente tumoral, pode-se observar a presença de células inflamatórias, células estromais não-epiteliais, e vasos sanguíneos (Fuchs et al., 2004). Krishnamurthy et al. (2012) foram capazes de demonstrar que, em tumores de cabeça e pescoço, a grande maioria das CTT estão localizadas próximas a vasos sanguíneos, o que sugere a existência de um nicho perivascular. Também foi observado que as substâncias secretadas pelas células endoteliais promovem a sobrevivência e a autorrenovação das CTT nesses tipos de cânceres por meio da regulação positiva da expressão de Bmi-1. Além disso, tais fatores são capazes ainda de aumentar a migração de células tumorais, além de protegê-

las de uma morte celular programada pela ativação das principais vias de sinalização (Neiva et al., 2009).

Prince et al. (2007) explicam que o tumor pode ser visto como um órgão que se mantém de uma maneira muito próxima dos tecidos saudáveis. Uma pequena porção de células, as CTT, têm o papel de contribuir com o crescimento do tumor, conferem-lhe a capacidade de resistir aos tratamentos oncológicos tradicionais, e ainda promovem a formação de focos metastáticos. As demais células que compõem a maior parte do tumor são apenas células diferenciadas que não possuem mais a capacidade de se replicarem.

Dentro do microambiente tumoral, destaca-se ainda a existência de populações laterais de células, que seriam células enriquecidas em células-tronco hematopoiéticas (Goodell et al., 1997) e identificadas a partir de uma população de células derivadas da medula óssea (Goodell et al., 1996). Em tumores de cabeça e pescoço, essas células são reconhecidas como células com um alto potencial tumorigênico e um fenótipo semelhante ao de células-tronco (Zhang et al., 2009; Song et al., 2010; Wan et al., 2010; Tabor et al., 2011). As células que compõem as populações laterais tendem a ter um comportamento mais agressivo (Song et al., 2010), uma maior probabilidade de gerar metástases (Song et al., 2010), além de exibirem uma sinalização Wnt anormal (Song et al., 2010) e serem resistentes à quimioterapia (Song et al., 2010; Tabor et al., 2011).

Simple et al. (2015) também discutem a participação das CTT no campo de cancerização, ou seja, nas células adjacentes ao tumor primário que já sofreram algum tipo de transformação. Em sua revisão, eles destacam que, independente do modelo de cancerização (seja monoclonal ou policlonal), o campo de cancerização é formado e instalado em um estágio onde as células alteradas encontram-se em um estágio pré-maligno de displasia, formadas a partir de uma célula-tronco saudável do epitélio que recebeu uma agressão carcinogênica. Diante da presença de uma segunda agressão, uma dessas células já alteradas dará origem ao tumor primário.

3.4 Transição epitelial-mesenquimal

Kalluri e Neilson (2003) descrevem a TEM como um processo que permite células epiteliais polarizadas adquirirem um fenótipo de células mesenquimais, garantindo assim as tais células uma mobilidade aumentada e a possibilidade de invasão tecidual, dois

fatores que podem contribuir para a invasão local e formação de metástases em tumores de cabeça e pescoço, uma vez que tais células passam a ter a capacidade de penetrar o sistema linfático e/ou cardiovascular (Zhang et al., 2012).

Baseado nessa transição, Richard e Pillai (2010) levantaram uma hipótese que correlaciona a incidência de uma “doença mínima residual” ao modelo de CTTs em CEC de boca, uma vez que o modelo de progressão tumoral em tais lesões propõe a existência de dois modos de resistência ao tratamento quimioterápico devido à presença de CTT. Segundo eles, devido à característica de heterogeneidade, é possível observar tais células-tronco em três estágios de diferenciação. O primeiro estágio envolve células-tronco quimiossensíveis e hiperplásicas, que podem ser facilmente erradicadas por quimioterapia e radioterapia. O segundo estágio envolve células com proteínas transportadoras de fármacos capazes de sobreviver mais tempo, atuando como células quimioresistentes e que constituem a maior parte do tumor após o tratamento oncológico. O último estágio é marcado por CTT quimiorresistentes, até então adormecidas, que causam recidivas ou então migram para locais distantes e resultam em metástases ou segundos tumores primários.

Zhang, Filho e Nör (2012) ainda salientam que a transição epitelial-mesenquimal é o resultado da interação entre as células tumorais em tumores de cabeça e pescoço e outras células adjacentes ao seu microambiente, que facilitam o desenvolvimento e a mobilidade das CTT.

Complementando esse processo, as células que passaram pela transição epitelial-mesenquimal ainda podem revertê-lo depois de instaladas em um novo sítio, o que recebe o nome de transição mesenquimal-epitelial (TME) (Brabletz, 2012) (MET), adquirindo assim o seu fenótipo proliferativo e formando outros focos tumorais.

Chen et al. (2013) ressaltam que a inibição das transições realizadas pelas CTT parece ser uma abordagem terapêutica relevante para reduzir a invasão tecidual por parte das células tumorais e a formação de metástases, e assim ajudar a diminuir as taxas de mortalidade e morbidades associadas aos CEC de cabeça e pescoço. Apesar dos estudos recentes, eles destacam que ainda há alguns desafios com relação ao desenvolvimento do tratamento, como a toxicidade das drogas utilizadas em terapias-alvo com essa finalidade, o melhor estágio para realizar a intervenção, as vias de sinalização exatas ou fatores de transcrição relacionados.

3.5 Identificação das CTT em cec de cabeça e pescoço

A identificação das CTT em pacientes com CEC de cabeça e pescoço se faz necessária uma vez que, devido a alta heterogeneidade das células que compõem o tumor e suas alterações de comportamento durante o tratamento oncológico, isso poderia garantir o aumento da eficácia dos tratamentos convencionais já utilizados, além de possibilitar o desenvolvimento de terapias alvos ainda mais efetivas (Routray e Mohanty, 2014; Krause et al., 2017). Isso pode ser feito com o uso de marcadores celulares já conhecidos para identificação de tais células, por vias de sinalização intercelular e de propriedades específicas do nicho do tumor (Bhaijee et al., 2012), ou até por meio da comparação dos perfis de expressões gênicas de células saudáveis, células tumorais, e de células-tronco, sejam elas cancerosas ou normais (Mannelli e Gallo, 2012; Patel et al., 2014).

Apesar das diferenças entre as células-tronco saudáveis e as tumorais, sabe-se que tais células possuem características tão semelhantes que sugerem que os princípios biológicos das células normais podem ser aplicados em estudos para identificação das CTT, além de ajudar a compreender seu papel no desenvolvimento do tumor (Pardal et al, 2003). Diante disso, Costea et at. (2006) enumeram em sua revisão as formas de identificação das CTT que mais são empregadas, sendo elas a retenção de marcadores celulares *in vivo*, a clonogenicidade *in vitro*, e o isolamento com base na classificação de células ativadas por fluorescência.

Em contrapartida, Zhang, Filho e Nör (2012) ressaltam que existe muita dificuldade em realizar pesquisas experimentais que visem estudar minuciosamente as CTT devido a essas semelhanças, além do desenvolvimento de possíveis terapias-alvo. Para identificação dessas células, utiliza-se então marcadores moleculares, que apesar de não serem tão específicos, podem ser combinados entre si para obtenção de uma maior especificidade, como o CD44 e o ALDH1 (Rodini et al., 2017).

Para CTT em tumores de cabeça e pescoço, o marcador ALDH1 é considerado o mais específico (Okamoto et al., 2009; Chen et al., 2009; Clay et al., 2010; Isfoss et al., 2012). Ele é uma enzima intracelular que, em tumores de cabeça e pescoço, está relacionado com a nutrição das CTT e com a transição epitelial-mesenquimal (Chen et al., 2009). Segundo a meta-análise de Zhou e Sun (2014), o aumento da expressão de ALDH1 em pacientes com CEC de cabeça e pescoço é frequentemente relacionado com piores prognósticos.

Outro marcador que é frequentemente utilizado é o CD44, uma glicoproteína de superfície que está diretamente relacionada à migração e adesão celular (Isacke et al., 2002; Kajita et al., 2001). Para tumores de cabeça e pescoço, esse marcador pode ser utilizado, pois é capaz de identificar subpopulações celulares com tumorigenicidade aumentada (Prince et al., 2007). Alguns pesquisadores foram capazes de demonstrar ainda que esse marcador está relacionado com a iniciação (Baumann e Krause, 2010; Chikamatsu et al., 2012), a progressão (Wang et al., 2009), e a formação de focos metastáticos (Wang et al., 2009) em tumores de cabeça e pescoço.

O marcador CD133 também pode ser utilizado para CEC de cabeça e pescoço, uma vez que sinalizam células com fenótipo de transição epitelial-mesenquimal, com capacidade de autorrenovação, proliferação e diferenciação, além de níveis aumentados de genes relacionados às características de células-tronco e de tumorigenicidade (Wu e Wu, 2009).

Mohanta et al. (2017) relatam que a associação entre os marcadores CD44 e CD147 também apresentam uma melhora na diferenciação tumoral, uma vez que esses marcadores podem ser determinantes das características de diferenciação, conferindo às células tumorais habilidades como a auto-renovação, a migração e a invasão.

Em seu estudo, Ortiz et al. (2018) avaliaram a expressão de CD44 e ALDH1 em CEC de boca como indicadores de prognóstico em invasões teciduais e metástases. Enquanto o ALDH1 se mostrou diretamente associado à invasão angiolinfática, o CD44 estava relacionado às metástases para linfonodos cervicais, dois fatores associados a um prognóstico ruim.

Bourguignon et al. (2017) destacam também a importância do ácido hialurônico em CEC de cabeça e pescoço, uma vez que este estimula uma variedade de funções das CTT como a formação de clones, sua diferenciação, e a sua função de auto-renovação. Além disso, sua interação com o CD44v3 desempenha um papel relevante na regulação da expressão dos marcadores celulares, na expressão de suas propriedades de células-tronco, e na resistência aos tratamentos quimioterápicos.

Lim et al. (2014) avaliaram a participação do fator de crescimento de hepatócito (HGF) e de seu respectivo receptor (c-Met), no desenvolvimento de CEC de cabeça e pescoço. Em seu estudo, foi observado que o tratamento com HGF foi capaz de promover a formação de esferas de células-tronco tumorais, além de aumentar a expressão de marcadores

celulares como Oct4, Sox2 e CD44. Células com altos níveis de ALDH1 apresentaram níveis transcricionais elevados de c-Met. Em contrapartida, ao diminuírem os níveis de c-Met, foi observado uma atenuação das características citadas anteriormente, além de promover um aumento da sensibilidade à cisplatina e uma inibição da iniciação tumoral.

Para localização das populações laterais dentro do microambiente tumoral, pode-se também fazer uso da capacidade de efluxo dessas células altamente tumorigênicas com um corante fluorescente que se liga ao seu DNA (Zhang et al., 2009). Tal habilidade é similar à capacidade de excreção de drogas quimioterápicas, e estão relacionadas à expressão de um grupo de transportadores transmembrana (Hirschmann-Jax et al., 2004).

Mohajertehran et al. (2018) ainda enumeram em seu artigo a influência de receptores de fatores de crescimento epiteliais de células-tronco em CEC em boca, como a E-caderina, o receptor 1 do fator de crescimento epidérmico (EGFR), e a molécula de adesão celular epitelial (EpCAM/CD326), onde observa-se uma expressão aumentada de todos os marcadores moleculares de uma forma geral.

Mishra et al. (2018) avaliaram padrões de expressões gênicas distintas em CTT com altos níveis de expressão de CD33 em CEC em boca. Em seu estudo, foi observado a suprarregulação de genes que se relacionavam à regulação imunológica, ao mesmo tempo que os genes que sofreram a infrarregulação foram enriquecidos para genes referentes à adesão celular. Dentre os genes onde foram observadas expressões reduzidas, a baixa expressão da molécula PCDH18 foi relacionada com uma pior sobrevida pelo Atlas Genômico do Cancer para esses tipos de tumores, evidenciando-o com um fator prognóstico negativo.

Featherston et al. (2016) observaram a expressão de componentes do sistema renina-angiotensina em CTT em CEC moderadamente diferenciados em mucosa bucal, como o receptor (pro)renina, a enzima conversora da angiotensina, o receptor 1 de angiotensina II e o receptor 2 de angiotensina II. Foi constatado a presença do receptor (pro)renina nas subpopulações de CTT dentro da massa tumoral, no estroma peri-tumoral, e no endotélio dos vasos sanguíneos ali presentes. Enquanto a enzima conversora da angiotensina foi encontrada apenas no endotélio dos vasos sanguíneos do estroma peri-tumoral, os receptores 1 e 2 de angiotensina II foram observados nas subpopulações no estroma peri-tumoral e dentro da massa tumoral.

Posteriormente, Featherston et al. (2017) apuraram a localização e a expressão de Catepsinas B, D e G, além de sua relação com as subpopulações de CTT nos mesmos tipos de tumores previamente estudados. Foi possível observar a expressão de tais proteases com imunohistoquímica, e, quanto à sua localização, foi observado que, enquanto a catepsina D se localizava no interior da massa tumoral, a catepsina B estava tanto no interior do tumor quanto no estroma peri-tumoral, o mesmo local onde a catepsina G se relacionava com os mastócitos triptase+ fenotípicos.

Apesar disso, como Dionne, Driver e Wang (2005) ressaltam, os métodos para identificação e isolamento das CTT ainda apresentam diversas limitações. Com relação à realização da citometria de fluxo para identificação dessas células, diversos fatores intrínsecos e extrínsecos podem afetar significativamente a precisão e a reprodutibilidade dos resultados obtidos em pesquisas já realizadas. Além disso, ainda há a inespecificidade dos marcadores de superfície (Chen et al., 2014), e a alteração das características de células-tronco por parte das células cancerosas, que podem ser perdidas ou recuperadas por dependerem de suas interações com o estroma tumoral (Chaffer et al., 2011).

Teixeira e Corrêa (2018) avaliaram a qualidade dos relatos disponíveis na literatura com relação aos marcadores para CTT e sua relação com os fatores prognósticos para CEC em boca. Ao final do estudo, concluiu-se que altos índices de marcadores celulares, assim como a localização intracelular destes, possuem uma associação significativa com os fatores prognósticos da doença, e que estes se relacionam principalmente à presença de metástases linfonodais e à taxa de sobrevivência dos pacientes. Entretanto, foi observado que, em alguns estudos, a marcação imunológica positiva é contraditória para alguns marcadores com relação a um prognóstico bom ou ruim, e foi questionado se essa discrepância possa ser causada devido a falta de métodos padronizados para realização de imuno-histoquímica.

González-Moles et al. (2013) frisam que a identificação de CTT deveria ser a maior preocupação dos pesquisadores atualmente, uma vez que isso poderia oferecer um conhecimento ainda mais específico sobre os tipos de células relacionadas com o aparecimento de um tumor, sua distribuição pelos tecidos, as suas relações com suas células sucessoras, além de sua implicação na proliferação e na invasão tecidual no prognóstico de um paciente oncológico. Ademais, o desenvolvimento de tratamentos efetivos que destruam essas células depende diretamente da compreensão de sua biopatologia.

3.6 Terapias alvo contra CTT

Apesar de todos os esforços, mesmo com a combinação das modalidades de tratamento disponíveis para CEC de cabeça e pescoço (químio e radioterapia, podendo ou não estarem associadas à cirurgia), este tipo de tumor ainda apresenta uma grande porcentagem de falhas. (Hombach-Klonisch et al., 2008). Mannelli e Gallo (2012) enfatizam que a determinação da falha do tratamento oncológico pode estar diretamente ligado à presença das CTT e seus mecanismos que lhes permitem escapar das modalidades terapêuticas aplicadas.

Facompre et al. (2012) ressaltam que tal dificuldade pode estar ligada à resistência inerente das células-tronco adultas em tecido saudável, uma vez que estas devem ser capazes de sobreviver a diferentes fatores estressantes nos tecidos, como a falta de nutrientes, a hipóxia, a presença de toxinas e até a radiação. A hipótese das CTT avalia a possibilidade de tais células possuírem as mesmas características, o que garantiria a elas a resistência aos tratamentos oncológicos convencionais e também atuaria na formação de recidivas. Shah et al. (2014) salientam ainda que o transporte e o metabolismo acelerados de drogas e o aumento do reparo de DNA são os principais mecanismos por trás da resistência à quimioterapia e à radioterapia, respectivamente. Sinha et al. (2013) especificam que resposta tumoral diante de uma modalidade terapêutica e a sensibilidade das CTT em cânceres de boca podem ser avaliadas através da sua capacidade de formação de esferas, da presença de populações laterais de células, e da atividade de ALDH frente as drogas quimioterápicas e as doses variáveis de radiação.

Rodini et al. (2017) destacam que, muitas vezes, apesar das altas doses administradas nos tratamentos de rádio e quimioterapia e das terapias alvo já existentes serem capazes de eliminar muitas células, tais doses podem não ser suficiente para matar todas as CTT. Isso resulta em um tumor que aparentemente foi eliminado, mas que recidivará posteriormente devido às células-tronco residuais, que começarão a proliferar novamente. Nesse contexto, Jian et al. (2017) salientam que, embora tais células possam ser difíceis de se eliminar, tratamentos específicos devem ser desenvolvidos para inibir seus mecanismos e funções que lhes garantem resistência aos tratamentos convencionais.

Em contrapartida, Shakib et al. (2011) ressaltam que o contrário também é válido. A realização de um tratamento oncológico apenas com o uso de terapias-alvo voltadas para a destruição de CTT pode não ser o suficiente para completa eliminação do câncer, uma

vez que as células saudáveis que circundam o tumor podem ser capazes de sobreviver e sustentá-lo por longos períodos.

Li, Prince e Moyer (2015) evidenciam que a modulação do sistema imunológico dos pacientes portadores de CEC de cabeça e pescoço pode ser uma forma de melhorar os resultados obtidos com o tratamento oncológico. Segundo eles, focando nas CTT, uma vacina de células dendríticas ativadas por peptídeos (Schlom et al., 2014) pode ser uma abordagem racional e inovadora que poderia atingir especificamente as subpopulações mais resistentes aos tratamentos e que apresentam as maiores taxas de reprodução, uma vez que tais vacinas se aproveitam da capacidade de apresentação de antígenos de tais células dendríticas para estimular as respostas imunes primárias e secundárias de linfócitos T e B.

Baillie et al. (2017) ressaltam que, apesar de ainda não haver uma intervenção única que elimine de forma efetiva todas as CTT, o uso de um tratamento alternativo que utilize uma combinação de medicamentos já existentes para intervir nas etapas críticas do sistema renina-angiotensina pode contribuir para uma abordagem futura na destruição dessas células durante o tratamento oncológico, uma vez que as CTT também parecem expressar componentes desse sistema.

Qian et al. (2015) comentam em seu artigo que o desenvolvimento e a introdução de imunoterapia para tumores de cabeça e pescoço pode ser uma ótima opção de tratamento complementar aos tratamentos oncológicos tradicionais, como a rádio e a quimioterapia, uma vez que essa modalidade de tratamento visa atingir as células tumorais diretamente, evitando assim um grande número de efeitos colaterais para o paciente. Ao mesmo tempo que o sistema imunológico parece ser capaz de reconhecer as CTT e preparar uma resposta efetiva contra ela, tais células também parecem ter um papel imunossupressor dentro de seu microambiente tumoral (Wei et al., 2010; Liao et al., 2013). Como exemplo disso, temos um defeito no processo de reconhecimento de antígenos do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) classe 1 em tumores de cabeça e pescoço, que é responsável pela evasão das células tumorais do reconhecimento por linfócitos T citotóxicos (Lopez-Albaitero et al., 2006; Leibowitz et al., 2013).

Qian et al. (2018) discutem a possibilidade de desenvolver uma terapia-alvo com base nas espécies reativas de oxigênio, uma vez que tais compostos estão relacionados com o desenvolvimento tumoral e a formação de metástases (Rodic e Vincent, 2018), e são frequentemente observadas em vários tipos de cânceres, incluindo os CEC de cabeça e

pescoço. Em células cancerosas, apesar de ser possível observar crescimento do tumor na presença de um leve aumento nos níveis de tais moléculas, observa-se supressão do crescimento do tumor e morte celular caso estes sejam excessivamente altos (Hampton e Orrenius, 1997; Wu e Hua, 2007; Zhang et al., 2016; Lin et al., 2018). Em outras palavras, as CTT que possuem baixos índices de espécies reativas de oxigênio intracelulares são resistentes aos tratamentos de rádio e quimioterapia além de serem menos sensíveis às respostas imunológicas, ao mesmo tempo que as células tumorais com altos índices são eliminadas.

Krishnamurthy et al. (2010) sugerem que uma terapia alvo voltada para a interrupção da relação entre as células endoteliais e cancerosas possa ser benéfica para o tratamento de pacientes com CEC de cabeça e pescoço, com base na existência de um nicho perivascular funcionalmente relevante para as células-tronco de tais tumores. Em contrapartida, Moharil et al. (2017) ressaltam em seu trabalho que a hipoxia tumoral também é um fator importante dentro do microambiente tumoral, uma vez que leva ao aumento do potencial metastático, malignidade e resistência ao tratamento, pois aumentam a expressão de genes resistentes às drogas, facilitam a invasão tumoral e a formação de metástases, e diminuem não só a expressão de genes supressores de tumor, mas também sua estabilidade genômica. Outros estudos ainda demonstram que a hipóxia tumoral pode ainda regular a diferenciação celular, o que pode facilitar ainda mais a sobrevivência das CTT (Harris e Sinha, 2013).

Em sua revisão, Gammon e Mackenzie (2016) resumizam o papel da hipóxia e do fator indutor de hipóxia 1-alfa (HIF-1 α), dois elementos que estão relacionados com a supra-regulação transcricional de vários genes responsáveis pelo comportamento celular em CEC de cabeça e pescoço. A indução de alterações fenotípicas por meio da hipóxia é capaz de aumentar a migração de células tumorais além de promover a invasão tecidual (Zhong et al., 1999; Pennacchietti et al., 2003; Kuwai et al., 2003; Lester et al., 2007; Chang et al., 2011; Jing et al., 2013), e, conseqüentemente, em prognósticos desfavoráveis.

Ritchie e Nör (2013) propõem então que uma interrupção dos eventos de sinalização oriundos das células endoteliais possa ser uma alternativa eficaz para eliminar as CTT sem causar a hipóxia de tais células. Por outro lado, sugere-se que a interrupção direcionada das principais vias de sinalização que sustentam a sobrevivência e o comportamento das CTT, como sua pluripotência e sua capacidade de iniciar novos tumores,

sem causar hipóxia possa ser uma estratégia ainda mais eficaz no tratamento de cânceres mais avançados.

Kim et al. (2017) avaliaram o papel da interleucina 6 (IL-6) secretada por células endoteliais na motilidade de CTT em tumores de cabeça e pescoço, e foi observado que a expressão de seu receptor (IL-6R) ou de seu co-receptor (gp130) em tumores primários estavam relacionados com uma baixa sobrevida dos pacientes. Os resultados desse estudo demonstraram que a interleucina 6 secretada pelas células endoteliais é capaz de induzir um fenótipo migratório em CTT, sugerindo que a formação de metástases e recorrências em CEC de cabeça e pescoço pode ser prevenida ou até atrasada por meio de um bloqueio da via dessa interleucina.

Le et al. (2014) avaliaram as alterações epigenéticas em CEC de cabeça e pescoço, a resposta de CTT diante de modificações em suas histonas e da metilação do seu DNA, e o papel de alterações na cromatina na resistência tumoral frente as modalidades terapêuticas. Com relação as alterações epigenéticas, a ativação da sinalização do fator nuclear kappa B (NFκB) é capaz de induzir a compactação da cromatina e da resistência adquirida à quimioterapia em CEC de cabeça e pescoço (Almeida et al., 2013), além de ser essencial para a formação de esferas tumorais em alguns tipos de tumor (Gallardo-Pérez et al., 2009). Ademais, as alterações epigenéticas também parecem ser capazes de controlar as CTT por meio a desacetilação das histonas, o que resulta na condensação da cromatina e na reativação de programas de transcrição semelhantes às das células-tronco saudáveis (Pardal et al., 2003). Em outras palavras, o comportamento dos tumores de cabeça e pescoço parece depender diretamente das alterações na organização da cromatina e suas consequentes transcrições gênicas.

Pensando em drogas já utilizadas em tratamentos quimioterápicos, Ohnishi et al. (2017) avaliaram o efeito de cetuximabe e de lapatinib sobre a proliferação celular e a via de transdução de sinal de migração em CEC orais. Foi observado que o cetuximabe é capaz de interferir na migração celular, e que sua associação com o inibidor HGF/c-Met parece ser ainda mais benéfico na realização de terapias-alvo que visem impedir a separação de CTT do tumor primário para a formação de metástases. Além disso, notou-se que o lapatinib é capaz de diminuir a proliferação celular, além de inibir a sua capacidade de formação de esferas, tanto em células diferenciadas no tumor primário quanto em células metastáticas.

Setúbal Destro Rodrigues et al. (2018) avaliaram os efeitos de cetuximabe e erlotinibe sobre as CTT em CEC de cabeça e pescoço, e como tais substâncias bloqueiam o receptor do fator de crescimento epidérmico, uma vez que o aumento de sua atividade têm sido associado à resistência ao tratamento oncológico e a um prognóstico desfavorável (Argiris et al., 2017; Bhatia et al., 2017; Juergens et al., 2017). Foi observado que a inibição de tal receptor resulta em alterações morfológicas e moleculares, como a diminuição da expressão do CD44 e a diferenciação de CTT, além de uma diminuição no nível de proliferação celular, porém não há indução de morte celular. Também observou-se que ambas as drogas são capazes de atuar na transição epitelial-mesenquimal, alterando os fenótipos das CTT para um estado que restrinja a invasão local e a formação de metástases.

Outra modalidade de tratamento que vem sendo frequentemente investigada é o uso de *Abrus agglutinin*, uma lectina vegetal que exhibe um potencial anticancerígeno (Mukhopadhyay et al., 2014; Bhutia et al., 2016). Sinha et al. (2017) observaram que essa substância é capaz de diminuir a expressão do CD44+ em células tumorais orais, além de reduzir sua capacidade de autorrenovação por meio da inibição da via de sinalização Wnt- β -catenina.

Papagerakis et al. (2014) evidenciam que um melhor entendimento do comportamento de CTT com relação ao seu controle e seu potencial de diferenciação celular e sua programação epigenética é essencial para futuras aplicações clínicas, uma vez que a caracterização das subpopulações de CTT em cânceres de cabeça e pescoço poderá abrir caminhos para novas e mais efetivas terapias, visando a compreensão dos fatores que resultam na formação de metástases e de recidivas, e na resistência aos tratamentos já disponíveis.

Sayed et al. (2011) ressaltam que o desenvolvimento de modelos experimentais *in vitro* e *in vivo* ainda são extremamente importantes, uma vez que as CTT compartilham as mesmas vias moleculares que as células-tronco saudáveis, e terapias oncológicas projetadas para combater tais células cancerosas podem afetar as células normais devido a sua toxicidade.

4 DISCUSSÃO

Ao fazer uma análise da literatura, é possível observar que ainda há poucos estudos relacionados às CTTs em CECs de cabeça e pescoço, conforme demonstrado no quadro 1. Os estudos presentes nessa revisão dividem-se entre estudos *in vitro* e *in vivo* (em camundongos), e suas finalidades variam entre a compreensão dos mecanismos de ação das CTTs e os efeitos obtidos sobre tais mecanismos com o uso de possíveis terapias alvo.

Pensando na apresentação de células tumorais para o sistema imunológico dos pacientes, Lopez-Albaitero et al. (2006) mediram os níveis de componentes no processamento de dois antígenos diferentes (receptor do fator de crescimento epidérmico humano tipo 2 e antígeno associado ao melanoma 3) em CECs de cabeça e pescoço sob condições basais e após incubação com interferons-gama (IFN- γ). Seu estudo sugere que a falta de detecção de antígeno leucocitário humano (HLA) classe I não comprova que tais células realizem a apresentação de peptídeos aos linfócitos T apesar da expressão de hla classe I e da existência de uma resposta linfocitária específica de antígenos tumorais. Além disso, a resistência ao reconhecimento de células tumorais em CECs de cabeça e pescoço por parte de linfócitos T com regulação negativa de alguns componentes do mecanismo de processamento de antígenos fornece um mecanismo em potencial para a associação com a regulação negativa de seus componentes. Porém, o reestabelecimento da expressão adequada de componentes do mecanismo de processamento de antígenos em CECs de cabeça e pescoço através de injeções intra-lesionais de IFN- γ poderia ter um resultado positivo sobre o curso clínico da doença e sobre a imunoterapia baseada em linfócitos T, uma vez que pode-se observar uma melhora no reconhecimento imunológico e uma diminuição da incidência tumoral na presença de uma regulação positiva de TAP1 endovenoso em camundongos submetidos a esse tratamento.

Ainda sobre identificação de CTTs, em seu estudo, Krishnamurthy et al. (2010) utilizaram a expressão de ALDH e CD44 para selecionar células-tronco putativas em CECs primários de cabeça e pescoço. Inicialmente, foi observado que, do grupo de 15 camundongos que receberam uma menor quantidade de CTTs, 13 obtiveram o desenvolvimento do tumor, ao mesmo tempo que 2 dos 15 camundongos que receberam uma grande quantidade de células-tronco saudáveis obtiveram o mesmo resultado, demonstrando que ambos os marcadores são capazes de selecionarem células altamente tumorigênicas. Também foi observado que as células ALDH+CD44+Lin- possuem a capacidade de auto-

renovação e de formação de esferas, além de se localizarem próximo a vasos sanguíneos, sugerindo então a formação de nichos perivasculares. Estudos *in vitro* demonstraram ainda que fatores secretados por células endoteliais são capazes de promover a auto-renovação das CTTs, e a ablação seletiva de células endoteliais associadas ao tumor é capaz de causar uma redução acentuada na fração de CTTs em tumores xenoinxertados.

Leibowitz et al. (2013) avaliaram o efeito da superexpressão de fosfatase sobre o transdutor de sinal e ativador de transcrição 1 ativado (pSTAT1), e seu consequente escape imunológico do mecanismo de processamento de antígenos. Em seu estudo, foi possível observar a regulação positiva de SHP2 em células tumorais, e a depleção de tal componente foi capaz de resultar na expressão positiva de pSTAT1 e de ALH classe I do mecanismo de processamento de antígenos. A expressão aumentada de SHP2 em queratinócitos saudáveis também foi capaz de inibir a fosforilação de STAT1 mediada por IFN- γ , e a depleção de SHP2 em STAT1 de células tumorais não induziu significativamente a expressão de componentes do mecanismo de processamento de antígenos mediados por IFN- γ , verificando então a dependência da atividade de SHP2 por parte do STAT1. Por fim, a depleção de SHP2 foi capaz de induzir o reconhecimento de células tumorais por linfócitos T citotóxicos restritos à ALH classe I além da secreção de quimiocinas inflamatórias capazes de atrair as células-T, sugerindo que SHP2 pode ter um importante papel no escape de células tumorais do mecanismo de processamento de antígenos e do reconhecimento de linfócitos T citotóxicos.

Subsequentemente, Liao et al. (2013) avaliaram a suscetibilidade de CTTs frente a resposta imune mediada por linfócitos T citotóxicos CD8⁺ específico de aloantígeno. Notou-se que as CTTs derivadas de uma cultura esférica apresentaram maiores expressões de ALDH, ICAM1 e de marcadores celulares de células-tronco/progenitoras para todas as linhas de células avaliadas, enquanto houve uma expressão diminuída de MHC classe I para as linhas de células de tumores cervicais. Observou-se que o tratamento com IFN- γ resultou no aumento da expressão de ICAM1 e de MHCI, além de ocasionar em lise celular melhorada em CTTs derivadas da cultura esférica. Além disso, as CTTs se mostraram menos sensíveis a lise celular por linfócitos T citotóxicos CD8⁺ específicos do aloantígeno restrito a MHC classe I, porém se mostraram mais sensíveis com níveis altos de expressão de ALDH.

Sobre o comportamento tumoral, Chang et al. (2011) avaliaram a expressão de histona desacetilase 2 (HDAC2) em CEC de boca, uma vez que esta se relaciona a estágios avançados desses tipos de tumores e piores prognósticos. Em seu estudo, foi observado que as alterações nos níveis de HDAC2 eram capazes de modular a invasão tecidual de células tumorais de forma positiva. Em modelo animal, foi observado que a rápida diminuição da expressão de HDAC2 em células que originalmente possuíam uma alta expressão endógena resultou na diminuição da iniciação e da progressão tumoral. Além disso, constatou-se que a estabilidade da proteína HIF-1 α foi mantida em células tumorais com expressão aumentada de HDAC2, o que contribuiu para um aumento da invasão tecidual e da migração celular durante a progressão tumoral.

Almeida et al. (2013) também avaliaram a importância do Nf κ B sobre a resistência tumoral através da modificação de histonas. Observou-se que células de CEC de cabeça e pescoço resistentes ao tratamento quimioterápico com sinalização Nf κ B ativada são capazes de responder à quimioterapia através da redução dos níveis de BRCA1 nuclear a partir da desacetilação de histonas (compactação da cromatina). A ativação dessa assinatura molecular resultou ainda em problemas no reparo de danos do DNA, acumulação prolongada da histona γ H2AX e aumento da instabilidade genômica. Com base nisso, notou-se que a indução farmacológica da desacetilação de histonas com o auxílio de inibidores de HDAC foi capaz de prevenir a resistência à cisplatina induzida por Nf κ B. Consequentemente, o silenciamento de Nf κ B em CECs de cabeça e pescoço é capaz de induzir a acetilação de histonas tumorais, o que resulta em uma menor resistência aos tratamentos quimioterápicos e uma maior citotoxicidade frente ao tratamento com cisplatina.

Posteriormente, Kim et al. (2017) avaliaram o papel da IL-6 secretada por células endoteliais sobre a progressão tumoral através do fenótipo migratório e da sobrevivência de CTTs. Em seu estudo, foram analisados 77 casos de pacientes com CECs de cabeça e pescoço em 11 anos de acompanhamento pós-tratamento oncológico, e foi possível observar que altos níveis do receptor de IL-6 e de seu co-receptor gp130 estavam relacionados aos baixos índices de sobrevivência, uma vez que os fatores secretados por células endoteliais são capazes de induzir a TEM além de aumentar a capacidade de invasão tecidual das CTTs desse tipo de tumor. O bloqueio da expressão de IL-6 secretado por células endoteliais não parece afetar a habilidade de formação de novos vasos sanguíneos por parte de tais células, porém foi capaz de gerar tumores xenoinxertados menores e de diminuir as populações celulares com altos índices de ALDH e CD44. Além disso, observou-se que o uso de um

anticorpo anti-IL-6R (tocilizumabe) inibiu a motilidade induzida por células endoteliais *in vitro* e diminuiu a fração de CTTs *in vivo*.

Em seguida, Setúbal Destro Rodrigues *et al.* (2018) avaliaram o efeito de cetuximabe e erlotinibe sobre subpopulações de células em CECs de cabeça e pescoço com relação ao receptor do EGFR, que é comumente superexpressado nesses tipos de tumores e é responsável pela ativação de vias de sinalização intracelular que controlam crescimento, diferenciação, sobrevivência e invasão tumoral. Em seu estudo, observou-se que tais drogas são capazes de diminuir a proliferação celular de todas as linhas celulares avaliadas por meio da interrupção do EGFR, porém promovem pouca morte celular. Ademais, cetuximabe e erlotinibe foram capazes de alterar os processos de TEM e TME além da diferenciação celular. A alteração na TEM resultou em diminuição da motilidade das células, e espera-se que também seja capaz de diminuir a invasão tecidual e a formação de metástases. Por fim, o bloqueio do EGFR foi capaz de alterar o fenótipo das CTTs para um mais sensível a químico e a radioterapia, um efeito desejado para melhorar a resposta tumoral frente as terapias oncológicas adjuvantes, além de diminuir a expressão do CD44, um marcador que se relaciona a manutenção das CTTs.

Ohnishi *et al.* (2018) avaliaram o efeito de cetuximabe, um anticorpo monoclonal específico anti-EGFR, e de lapatinibe, um inibidor de EGFR/ErbB2 com efeitos anti-proliferativos, sobre os mecanismos que levam à resistência de três linhas de células de CECs de boca (HSC3, HSC4 e SAS). Inicialmente, observou-se que o cetuximabe é capaz de inibir a proliferação celular apenas de HSC3 e HSC4, apesar de todas apresentarem EGFR em sua membrana celular. Em seguida, constatou-se que apenas as linhas de células SAS, resistentes ao cetuximabe, são capazes de formar esferas a partir de células unitárias, e que a sensibilidade do cetuximabe ao crescimento dessas populações é dependente da via EGFR-PI3K-Akt. Notou-se também que o cetuximabe ainda atua na inibição da migração das células tumorais, de forma expressiva em SAS e de forma moderada em HSC3, mas praticamente não altera a atividade de HSC4. Com relação ao Lapatinibe, observou-se que tal inibidor é capaz de reduzir a proliferação das populações de células de CECs sem a capacidade de formação de esferas, porém tal efeito não é observado em células resistentes a esse composto, uma vez que tais células possuem características de CTTs. Também observou-se que o lapatinibe pode ser usado para o bloqueio do processo de formação de esferas das células SAS através da inibição da via de sinalização e ErbB/AKT/cyclin D2.

Apesar de se tratarem de estudos diferentes, todos obtiveram resultados positivos frente a modulação dos mecanismos de ação das células tumorais que lhes atribuem características de células-tronco, como a identificação de tais células por linfócitos T (Lopez-Albaitero et al., 2006), a sua sensibilização para a ocorrência de lise celular (Liao et al., 2013), e a interrupção na formação de metástases (Ohnishi et al., 2018; Setúbal Destro Rodrigues et al., 2018).

Talvez a chave para a erradicação dos CECs em cabeça e pescoço mais resistentes esteja na associação dos resultados já obtidos. Bloquear os processos de TEM e TME inicialmente resultaria na diminuição da motilidade das CTTs, o que, quando associado às terapias que impedem a formação de novas esferas tumorais e às terapias anti-angiogências, limitaria a formação de metástases. Além disso, ao manter o fenótipo das CTTs estabilizado e regular a expressão de seus marcadores de superfície, a detecção de tais células por parte do sistema imunológico se tornaria mais facilitada, reduziria suas propriedades de células-tronco, auxiliaria no processo de lise celular, e diminuiria a resistência de tais células frente aos tratamentos quimioterápicos já existentes.

Embora seja possível observar um grande interesse sobre os mecanismos de ação das CCTs, nota-se que ainda existem poucos estudos na literatura referente ao papel de tais células em CECs de cabeça e pescoço. Contudo, ainda é necessário avaliar a aplicabilidade dos resultados obtidos em outros modelos animais, para então dar início a realização de estudos clínicos.

Quadro 1 - Terapias-alvo voltadas para CTTs em carcionas espinocelulares de cabeça e pescoço.

Publicação	Amostra	Análise	Marcador	Resultados
Lopez-Albaitero et al. (2006)	SCC-4, SCC-90, PCI-13, PCI-30, PCI-4A, PCI-4B, PCI-6A, PCI-6B, PCI-15A, PCI-15B, PCI-37A, PCI-37B	Citometria de fluxo, PCR	HLA classe I	A resistência ao reconhecimento de linfócitos T citotóxicos se relaciona à desregulação do processamento de antígenos e se associa a um curso clínico ruim da doença. Sugere-se que a administração intra-lesional de IFN- γ pode ter um efeito positivo sobre o curso clínico da doença, e a imunoterapia baseada em células-T pode restaurar o reconhecimento de células tumorais.
Krishnamurthy et al. (2010)	UM-SCC-1, UM-SCC-74A, UM-SCC-74B, UM-SCC-17A, UM-SCC-17B, UM-SCC-11B	Microscopia confocal	ALDH e CD44	Foi observado que as células ALDH+ se localizam comumente ao redor de vasos sanguíneos. Além disso, as células endoteliais parecem ser as responsáveis pelo início dos eventos de sinalização que aumentam a sobrevivência e a auto-renovação das CTTs.
Chang et al. (2011)	Ca9-22, Cal-27, HSC-3, SAS, TW2.6	PCR	NI	Alterações nos níveis de histona HDAC2 são capazes de modular a capacidade invasiva de células tumorais de forma positiva, e o silenciamento de sua expressão resulta em diminuição da iniciação e progressão tumoral. A superexpressão dessa enzima não parece afetar a estabilidade da HIF-1 α .
Almeida et al. (2013)	HN6, HN12, HN13, Cal27, UM-SCC17B, UM-SCC74A	Imunofluorescência, morfometria, ensaio cometa e Immunoblotting	NI	Células quimiorresistentes com sinalização ativa de Nf κ B respondem à quimioterapia com a redução dos níveis de BRCA1 nuclear e com a promoção da desacetilação de histonas (compactação da cromatina). A indução farmacológica da acetilação das histonas por meio de inibidores de HDAC também foi capaz de prevenir a resistência à cisplatina induzida por Nf κ B.
Leibowitz et al. (2013)	PCI-13, SCC-90, SCC-4, PCI-15B	Imunohistoquímica, PCR, citometria de fluxo	NI	A expressão aumentada de SHP2 pode contribuir para a baixa regulação do processamento de antígenos e para a evasão de linfócitos T citotóxicos por células cancerígenas.
Liao et al. (2013)	UD-SCC2, UM-SCC11B	Citometria de fluxo, PCR	ALDH, ICAM1 e marcadores celulares de células-tronco e células progenitoras	A morte celular provocada pelas terapias-alvo está diretamente relacionada ao nível de expressão dos marcadores celulares e de seu reconhecimento. O pré-tratamento com IFN- γ parece sensibilizar as células e as torna mais propensas a sofrer lise celular.
Kim et al. (2017)	77 casos de CECCB invasivo (UM-SCC-1, UM-SCC-22B)	Imunohistoquímica	ALDH, IL-6, DAPI	A expressão do receptor e do co-receptor de IL-6 se relaciona a uma baixa sobrevida dos pacientes. A IL-6 secretada é capaz de induzir a TEM e aumenta a migração de CTT.
Setúbal Destro Rodrigues et al. (2018)	CA1 and Luc4	Imunohistoquímica, citometria de fluxo, blotting ocidental, imunofluorescência, PCR	CD44	Cetuximabe e erlotinibe são capazes de promover a inibição do receptor do fator de crescimento epidérmico (resulta na diminuição da expressão do CD44 e na diferenciação de CTTs), além de diminuir o nível de proliferação celular, porém não induzem morte celular. Também atuam na TEM (alteram o fenótipo das células e restringem a invasão local e a formação de metástases).
Ohnishi et al. (2018)	HSC3, HSC4, SAS	Imunofluorescência	EGFR	Observou-se que o cetuximabe é capaz de interferir na migração celular, e acredita-se que sua associação com o inibidor HGF/c-Met possa impedir a formação de metástases. Também notou-se que o lapatinibe é capaz de diminuir a proliferação celular, além de inibir a sua capacidade de formação de esferas, tanto em células diferenciadas no tumor primário quanto em células metastáticas.

5 CONCLUSÃO

A descoberta de células heterogêneas em CEC de cabeça e pescoço representa um grande avanço no entendimento e no tratamento de lesões tumorais, principalmente para aquelas que apresentam altas porcentagens de metástases e recidivas como os CECs em boca. Apesar disso, a literatura ainda precisa avançar para uma melhor compreensão das propriedades das CTTs e para o desenvolvimento de novos protocolos de tratamento em estudos clínicos, visando o controle de tais células e levando em conta suas vias de sinalização e os processos de TEM e TME a fim de evitar a resistência das células tumorais aos tratamentos rádio e quimioterápicos. Considerando o prognóstico dos pacientes acometidos por CECs de boca, a erradicação desses tumores poderá melhorar a sobrevivência desses pacientes, diminuindo as taxas de mortalidade e melhorando a sua qualidade de vida.

REFERÊNCIAS

1. Agrawal N, Frederick MJ, Pickering CR, Bettegowda C, Chang K, Li RJ, et al. Exome sequencing of head and neck squamous cell carcinoma reveals inactivating mutations in NOTCH1. *Science*. 2011 Aug 26;333(6046):1154-7.
2. Ailles LE, Weissman IL. Cancer stem cells in solid tumors. *Curr Opin Biotechnol*. 2007 Oct;18(5):460-6.
3. Albers AE, Chen C, Köberle B, Qian X, Klussmann JP, Wollenberg B, et al. Stem cells in squamous head and neck cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2012 Mar;81(3):224-40.
4. Almeida LO, Abrahao AC, Rosselli-Murai LK, Giudice FS, Zagni C, Leopoldino AM, et al. NFκB mediates cisplatin resistance through histone modifications in head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC). *FEBS Open Bio*. 2013 Dec 30;4:96-104.
5. Argiris A, Harrington KJ, Tahara M, Schulten J, Chomette P, Ferreira Castro A, et al. Evidence-Based Treatment Options in Recurrent and/or Metastatic Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck. *Front Oncol*. 2017 May 9;7:72.
6. Argiris A, Karamouzis MV, Raben D, Ferris RL. Head and neck cancer. *Lancet*. 2008 May 17;371(9625):1695-709.
7. Baillie R, Tan ST, Itinteang T. Cancer Stem Cells in Oral Cavity Squamous Cell Carcinoma: A Review. *Front Oncol*. 2017 Jun 2;7:112.
8. Baumann M, Krause M. CD44: a cancer stem cell-related biomarker with predictive potential for radiotherapy. *Clin Cancer Res*. 2010 Nov 1;16(21):5091-3.
9. Bhaijee F, Pepper DJ, Pitman KT, Bell D. Cancer stem cells in head and neck squamous cell carcinoma: a review of current knowledge and future applications. *Head Neck*. 2012 Jun;34(6):894-9.
10. Bhatia S, Monkman J, Toh AKL, Nagaraj SH, Thompson EW. Targeting epithelial-mesenchymal plasticity in cancer: clinical and preclinical advances in therapy and monitoring. *Biochem J*. 2017 Sep 20;474(19):3269-306.
11. Bhutia SK, Behera B, Nandini Das D, Mukhopadhyay S, Sinha N, Panda PK, et al. Abrus agglutinin is a potent anti-proliferative and anti-angiogenic agent in human breast cancer. *Int J Cancer*. 2016 Jul 15;139(2):457-66.

12. Bjerkvig R, Tysnes BB, Aboody KS, Najbauer J, Terzis AJ. Opinion: the origin of the cancer stem cell: current controversies and new insights. *Nat Rev Cancer*. 2005 Nov;5(11):899-904.
13. Bonnet D, Dick JE. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat Med*. 1997; 3(7):730-7.
14. Borovski T, De Sousa E Melo F, Vermeulen L, Medema JP. Cancer stem cell niche: the place to be. *Cancer Res*. 2011 Feb 1;71(3):634-9.
15. Bourguignon LYW, Earle C, Shiina M. Activation of Matrix Hyaluronan-Mediated CD44 Signaling, Epigenetic Regulation and Chemoresistance in Head and Neck Cancer Stem Cells. *Int J Mol Sci*. 2017 Aug 24;18(9). pii: E1849.
16. Braakhuis BJ, Leemans CR, Brakenhoff RH. A genetic progression model of oral cancer: current evidence and clinical implications. *J Oral Pathol Med*. 2004 Jul;33(6):317-22.
17. Brabletz T. EMT and MET in metastasis: where are the cancer stem cells? *Cancer Cell*. 2012 Dec 11;22(6):699-701.
18. Campbell LL, Polyak K. Breast tumor heterogeneity: cancer stem cells or clonal evolution? *Cell Cycle*. 2007 Oct 1;6(19):2332-8.
19. Chaffer CL, Brueckmann I, Scheel C, Kaestli AJ, Wiggins PA, Rodrigues LO, et al. Normal and neoplastic nonstem cells can spontaneously convert to a stem-like state. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011 May 10;108(19):7950-5.
20. Chang CC, Lin BR, Chen ST, Hsieh TH, Li YJ, Kuo MY. HDAC2 promotes cell migration/invasion abilities through HIF-1alpha stabilization in human oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med*. 2011 Aug;40(7):567-75.
21. Chen C, Zimmermann M, Tinhofer I, Kaufmann AM, Albers AE. Epithelial-to-mesenchymal transition and cancer stem(-like) cells in head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Lett*. 2013 Sep 10;338(1):47-56.
22. Chen J, Zhou J, Lu J, Xiong H, Shi X, Gong L. Significance of CD44 expression in head and neck cancer: a systemic review and meta-analysis. *BMC Cancer*. 2014 Jan 13;14:5.

23. Chen YC, Chen YW, Hsu HS, Tseng LM, Huang PI, Lu KH, et al. Aldehyde dehydrogenase 1 is a putative marker for cancer stem cells in head and neck squamous cancer. *Biochem Biochem Biophys Res Commun*. 2009 Jul 31;385(3):307-13.
24. Chikamatsu K, Ishii H, Takahashi G, Okamoto A, Moriyama M, Sakakura K, et al. Resistance to apoptosis-inducing stimuli in CD44+ head and neck squamous cell carcinoma cells. *Head Neck*. 2012 Mar;34(3):336-43.
25. Clarke MF, Dick JE, Dirks PB, Eaves CJ, Jamieson CH, Jones DL, et al. Cancer stem cells—perspectives on current status and future directions: AACR Workshop on cancer stem cells. *Cancer Res*. 2006 Oct 1;66(19):9339-44.
26. Clarke MF, Fuller M. Stem cells and cancer: two faces of eve. *Cell*. 2006 Mar 24;124(6):1111-5.
27. Clay MR, Tabor M, Owen JH, Carey TE, Bradford CR, Wolf GT, et al. Single-marker identification of head and neck squamous cell carcinoma cancer stem cells with aldehyde dehydrogenase. *Head Neck*. 2010 Sep;32(9):1195-201.
28. Clevers H. Wnt/ β -catenin signaling in development and disease. *Cell*. 2006; 127(3):469-80.
29. Costea DE, Tsinkalovsky O, Vintermyr OK, Johannessen AC, Mackenzie IC. Cancer stem cells - new and potentially important targets for the therapy of oral squamous cell carcinoma. *Oral Dis*. 2006 Sep;12(5):443-54.
30. Dionne LK, Driver ER, Wang XJ. Head and Neck Cancer Stem Cells: From Identification to Tumor Immune Network. *J Dent Res*. 2015 Nov;94(11):1524-31.
31. Facompre N, Nakagawa H, Herlyn M, Basu D. Stem-like cells and therapy resistance in squamous cell carcinomas. *Adv Pharmacol*. 2012;65:235-65.
32. Featherston T, Marsh RW, van Schaijik B, Brasch HD, Tan ST, Itinteang T. Expression and Localization of Cathepsins B, D, and G in Two Cancer Stem Cell Subpopulations in Moderately Differentiated Oral Tongue Squamous Cell Carcinoma. *Front Med (Lausanne)*. 2017 Jul 20;4:100.

33. Featherston T, Yu HH, Dunne JC, Chibnall AM, Brasch HD, Davis PF, et al. Cancer Stem Cells in Moderately Differentiated Buccal Mucosal Squamous Cell Carcinoma Express Components of the Renin-Angiotensin System. *Front Surg*. 2016 Sep 27;3:52. eCollection 2016.
34. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer*. 2010 Dec 15;127(12):2893-917.
35. Forastiere AA, Goepfert H, Maor M, Pajak TF, Weber R, Morrison W, et al. Concurrent chemotherapy and radiotherapy for organ preservation in advanced laryngeal cancer. *N Engl J Med*. 2003 Nov 27;349(22):2091-8.
36. Fuchs E, Tumber T, Guasch G. Socializing with the neighbors: stem cells and their niche. *Cell*. 2004 Mar 19;116(6):769-78.
37. Gallardo-Pérez JC, Espinosa M, Ceballos-Cancino G, Daniel A, Rodríguez-Enríquez S, Aviles A, et al. NF-kappa B is required for the development of tumor spheroids. *J Cell Biochem*. 2009 Sep 1;108(1):169-80.
38. Gammon L, Mackenzie IC. Roles of hypoxia, stem cells and epithelial-mesenchymal transition in the spread and treatment resistance of head and neck cancer. *J Oral Pathol Med*. 2016 Feb;45(2):77-82.
39. Gillison ML, Koch WM, Capone RB, Spafford M, Westra WH, Wu L, et al. Evidence for a causal association between human papillomavirus and a subset of head and neck cancers. *J Natl Cancer Inst*. 2000 May 3;92(9):709-20.
40. Girouard SD, Murphy GF. Melanoma stem cells: not rare, but well done. *Lab Invest*. 2011 May;91(5):647-64.
41. González-Moles MA, Scully C, Ruiz-Ávila I, Plaza-Campillo JJ. The cancer stem cell hypothesis applied to oral carcinoma. *Oral Oncol*. 2013 Aug;49(8):738-46.
42. Goodell MA, Brose K, Paradis G, Gonner AS, Mulligan RC. Isolation and functional properties of murine hematopoietic stem cells that are replicating in vivo. *J Exp Med*. 1996 Apr 1;183(4):1797-806.

43. Goodell MA, Rosenzweig M, Kim H, Marks DF, DeMaria M, Paradis G, et al. Dye efflux studies suggest that hematopoietic stem cells expressing low or undetectable levels of CD34 antigen exist in multiple species. *Nat Med.* 1997; 3(12):1337-45
44. Graziano A, d'Aquino R, Tirino V, Desiderio V, Rossi A, Pirozzi G. The stem cell hypothesis in head and neck cancer. *J Cell Biochem.* 2008 Feb 1;103(2):408-12.
45. Gupta PB, Chaffer CL, Weinberg RA. Cancer stem cells: mirage or reality? *Nat Med.* 2009 Sep;15(9):1010-2.
46. Hampton MB, Orrenius S. Dual regulation of caspase activity by hydrogen peroxide: implications for apoptosis. *FEBS Lett.* 1997 Sep 15;414(3):552-6.
47. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell.* 2011 Mar 4;144(5):646-74.
48. Harris BN, Sinha UK. Cancer stem Cells: A review of the literature and the implications in head and neck cancer. *J Cancer Res Cells Updates* 2013;2:186-93
49. Hirschmann-Jax C, Foster AE, Wulf GG, Nuchtern JG, Jax TW, Gobel U, et al. A distinct "side population" of cells with high drug efflux capacity in human tumor cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004 Sep 28;101(39):14228-33.
50. Hombach-Klonisch S, Paranjothy T, Wiechec E, Pocar P, Mustafa T, Seifert A, et al. Cancer stem cells as targets for cancer therapy: selected cancers as examples. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2008 May-Jun;56(3):165-80.
51. Isacke CM, Yarwood H The hyaluronan receptor, CD44. *Int J Biochem Cell Biol.* 2002 Jul;34(7):718-21.
52. Isfoss BL, Holmqvist B, Alm P, Olsson H. Distribution of aldehyde dehydrogenase 1-positive stem cells in benign mammary tissue from women with and without breast cancer. *Histopathology.* 2012 Mar;60(4):617-33
53. Jamieson CH, Ailles LE, Dylla SJ, Muijtjens M, Jones C, Zehnder JL, et al. Granulocyte-macrophage progenitors as candidate leukemic stem cells in blast-crisis CML. *N Engl J Med.* 2004 Aug 12;351(7):657-67
54. Jian Z, Strait A, Jimeno A, Wang XJ. Cancer Stem Cells in Squamous Cell Carcinoma. *J Invest Dermatol.* 2017 Jan;137(1):31-7.

55. Jing SW, Wang YD, Chen LQ, Sang MX, Zheng MM, Sun GG, et al. Hypoxia suppresses Ecadherin and enhances matrix metalloproteinase-2 expression favoring esophageal carcinoma migration and invasion via hypoxia inducible factor-1 alpha activation. *Dis Esophagus*. 2013 Jan;26(1):75-83.
56. Juergens RA, Bratman SV, Tsao MS, Laurie SA, Sara Kuruvilla M, Razak AR, et al. Biology and patterns of response to EGFR-inhibition in squamous cell cancers of the lung and head & neck. *Cancer Treat Rev*. 2017 Mar;54:43-57.
57. Kajita M, Itoh Y, Chiba T, Mori H, Okada A, Kinoh H, et al. Membrane-type 1 matrix metalloproteinase cleaves CD44 and promotes cell migration. *J Cell Biol*. 2001 May 28;153(5):893-904.
58. Kalluri R, Neilson EG. Epithelial-mesenchymal transition and its implications for fibrosis. *J Clin Invest*. 2003; 112(12):1776–84.
59. Kim HS, Chen YC2, Nör F, Warner KA, Andrews A, Wagner VP, et al. Endothelial-derived interleukin-6 induces cancer stem cell motility by generating a chemotactic gradient towards blood vessels. *Oncotarget*. 2017 Nov 1;8(59):100339-52.
60. Kim HS, Pearson AT, Nör JE. Isolation and Characterization of Cancer Stem Cells from Primary Head and Neck Squamous Cell Carcinoma Tumors. *Methods Mol Biol*. 2016;1395:241-9.
61. Krause M, Dubrovskaja A, Linge A, Baumann M. Cancer stem cells: Radioresistance, prediction of radiotherapy outcome and specific targets for combined treatments. *Adv Drug Deliv Rev*. 2017 Jan 15;109:63-73.
62. Krishnamurthy S, Dong Z, Vodopyanov D, Imai A, Helman JI, Prince ME, et al. Endothelial cell-initiated signaling promotes the survival and self-renewal of cancer stem cells. *Cancer Res*. 2010 Dec 1;70(23):9969-78.
63. Krishnamurthy S, Nör JE. Head and Neck Cancer Stem Cells. *J Dent Res*. 2012 Apr; 91(4): 334-40.
64. Krivtsov AV, Twomey D, Feng Z, Stubbs MC, Wang Y, Faber J, et al. Transformation from committed progenitor to leukaemia stem cell initiated by MLL-AF9. *Nature*. 2006 Aug 17;442(7104):818-22.

65. Kuhn NZ, Tuan RS. Regulation of stemness and stem cell niche of mesenchymal stem cells: implications in tumorigenesis and metastasis. *J Cell Physiol.* 2010 Feb;222(2):268-77.
66. Kuwai T, Kitadai Y, Tanaka S, Onogawa S, Matsutani N, Kaio E, et al. Expression of hypoxia-inducible factor-1alpha is associated with tumor vascularization in human colorectal carcinoma. *Int J Cancer.* 2003 Jun 10;105(2):176-81
67. Lapidot T, Sirard C, Vormoor J, Murdoch B, Hoang T, Caceres-Cortes J, et al. A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCIDmice. *Nature.* 1994 Feb 17;367(6464):645-8.
68. Le JM, Squarize CH, Castilho RM. Histone modifications: Targeting head and neck cancer stem cells. *World J Stem Cells.* 2014 Nov 26;6(5):511-25.
69. Leibowitz MS, Srivastava RM, Andrade Filho PA, Egloff AM, Wang L, Seethala RR, et al. SHP2 is overexpressed and inhibits pSTAT1-mediated APM component expression, T-cell attracting chemokine secretion, and CTL recognition in head and neck cancer cells. *Clin Cancer Res.* 2013 Feb 15;19(4):798-808.
70. Lester RD, Jo M, Montel V, Takimoto S, Gonias SL. uPAR induces epithelial-mesenchymal transition in hypoxic breast cancer cells. *J Cell Biol.* 2007 Jul 30;178(3):425-36.
71. Li Q, Prince ME, Moyer JS. Immunotherapy for head and neck squamous cell carcinoma. *Oral Oncol.* 2015 Apr;51(4):299-304.
72. Liao T, Kaufmann AM, Qian X, Sangvatanakul V, Chen C, Kube T, et al. Susceptibility to cytotoxic T cell lysis of cancer stem cells derived from cervical and head and neck tumor cell lines. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2013 Jan;139(1):159-70.
73. Lim YC, Kang HJ, Moon JH. C-Met pathway promotes self-renewal and tumorigenicity of head and neck squamous cell carcinoma stem-like cell. *Oral Oncol.* 2014 Jul;50(7):633-9.
74. Lin S, Li Y, Zamyatnin AA Jr, Werner J, Bazhin AV. Reactive oxygen species and colorectal cancer. *J Cell Physiol.* 2018 Jul;233(7):5119-32.

75. Lopez-Albaitero A, Nayak JV, Ogino T, Machandia A, Gooding W, DeLeo AB, et al. Role of antigen processing machinery in the in vitro resistance of squamous cell carcinoma of the head and neck cells to recognition by CTL. *J Immunol.* 2006 Mar 15;176(6):3402-9
76. Mannelli G1, Gallo O. Cancer stem cells hypothesis and stem cells in head and neck cancers. *Cancer Treat Rev.* 2012 Aug;38(5):515-39.
77. Mishra A, Sriram H, Chandarana P, Tanavde V, Kumar RV, Gopinath A, et al. Decreased expression of cell adhesion genes in cancer stem-like cells isolated from primary oral squamous cell carcinomas. *Tumour Biol.* 2018 May;40(5):1010428318780859.
78. Mohajertehran F, Sahebkar A, Zare R, Mohtasham N. The promise of stem cell markers in the diagnosis and therapy of epithelial dysplasia and oral squamous cell carcinoma. *J Cell Physiol.* 2018 Nov;233(11):8499-507.
79. Mohanta S, Siddappa G, Valiyaveedan SG, Dodda Thimmasandra Ramanjanappa R, Das D, Pandian R, et al. Cancer stem cell markers in patterning differentiation and in prognosis of oral squamous cell carcinoma. *Tumour Biol.* 2017 Jun;39(6):1010428317703656.
80. Moharil RB, Dive A, Khandekar S, Bodhade A. Cancer stem cells: An insight. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2017 Sep-Dec;21(3):463.
81. Mukhopadhyay S, Panda PK, Das DN, Sinha N, Behera B, Maiti TK, et al. Abrus agglutinin suppresses human hepatocellular carcinoma in vitro and in vivo by inducing caspase-mediated cell death. *Acta Pharmacol Sin.* 2014;35(6):814-24
82. Neiva KG, Zhang Z, Miyazawa M, Warner KA, Karl E, Nör JE. Cross talk initiated by endothelial cells enhances migration and inhibits anoikis of squamous cell carcinoma cells through STAT3/ Akt/ERK signaling. *Neoplasia.* 2009 Jun;11(6):583-93.
83. Nör C, Zhang Z, Warner KA, Bernardi L, Visioli F, Helman JI, et al. Cisplatin induces Bmi-1 and enhances the stem cell fraction in head and neck cancer. *Neoplasia.* 2014 Feb;16(2):137-46.
84. Nör JE, Gutkind JS. Head and Neck Cancer in the New Era of Precision Medicine. *J Dent Res.* 2018 Jun;97(6):601-2.

85. Nowell PC. The clonal evolution of tumor cell populations. *Science*. 1976 Oct 1;194(4260):23-8.
86. Ohnishi Y, Yasui H, Nozaki M, Nakajima M. Molecularly-targeted therapy for the oral cancer stem cells. *Jpn Dent Sci Rev*. 2017 May;54(2):88-103.
87. Okamoto A, Chikamatsu K, Sakakura K, Hatsushika K, Takahashi G, Masuyama K. Expansion and characterization of cancer stem-like cells in squamous cell carcinoma of head and neck. *Oral Oncol*. 2009 Jul;45(7):633-9.
88. Ortiz RC, Lopes NM, Amôr NG, Ponce JB, Schmerling CK, Lara VS, et al. CD44 and ALDH1 immunoexpression as prognostic indicators of invasion and metastasis in oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med*. 2018 Sep;47(8):740-7
89. Papagerakis S, Pannone G, Zheng L, About I, Taqi N, Nguyen NP, et al. Oral epithelial stem cells - implications in normal development and cancer metastasis. *Exp Cell Res*. 2014 Jul 15;325(2):111-29.
90. Pardal R, Clarke MF, Morrison SJ. Applying the principles of stem-cell biology to cancer. *Nat Rev Cancer*. 2003 Dec;3(12):895-902.
91. Patel SS, Shah KA, Shah MJ, Kothari KC, Rawal RM. Cancer stem cells and stemness markers in oral squamous cell carcinomas. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014;15(20):8549-56.
92. Pearson AT, Jackson TL, Nör JE. Modeling head and neck cancer stem cell-mediated tumorigenesis. *Cell Mol Life Sci*. 2016 Sep;73(17):3279-89.
93. Pennacchietti S, Michieli P, Galluzzo M, Mazzone M, Giordano S, Comoglio PM. Hypoxia promotes invasive growth by transcriptional activation of the met protooncogene. *Cancer Cell*. 2003 Apr;3(4):347-61.
94. Prince ME, Ailles LE. Cancer stem cells in head and neck squamous cell cancer. *J Clin Oncol*. 2008 Jun 10;26(17):2871-5.
95. Prince ME, Sivanandan R, Kaczorowski A, Wolf GT, Kaplan MJ, Dalerba P, et al. Identification of a subpopulation of cells with cancer stem cell properties in head and neck squamous cell carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007 Jan 16;104(3):973-8.

96. Qian X, Ma C, Nie X, Lu J, Lenarz M, Kaufmann AM, et al. Biology and immunology of cancer stem(-like) cells in head and neck cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2015 Sep;95(3):337-45.
97. Qian X, Nie X, Yao W, Klinghammer K, Sudhoff H, Kaufmann AM, et al. Reactive oxygen species in cancer stem cells of head and neck squamous cancer. *Semin Cancer Biol*. 2018 Dec;53:248-257.
98. Ramalho-Santos M, Willenbring H. On the origin of the term 'stem cell'. *Cell Stem Cell*. 2007 Jun 7;1(1):35-8.
99. Reya T, Clevers H. Wnt signaling in stem cells and cancer. *Nature*. 2005 Apr 14;434(7035):843-50.
100. Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature*. 2001 Nov 1;414(6859):105-11.
101. Richard V, Pillai MR. The stem cell code in oral epithelial tumorigenesis: 'the cancer stem cell shift hypothesis'. *Biochim Biophys Acta*. 2010 Dec;1806(2):146-62.
102. Ritchie KE, Nör JE. Perivascular stem cell niche in head and neck cancer. *Cancer Lett*. 2013 Sep 10;338(1):41-6.
103. Rodic S, Vincent MD. Reactive oxygen species (ROS) are a key determinant of cancer's metabolic phenotype. *Int J Cancer*. 2018 Feb 1;142(3):440-8.
104. Rodini CO, Lopes NM, Lara VS, Mackenzie IC. Oral cancer stem cells - properties and consequences. *J Appl Oral Sci*. 2017 Nov-Dec;25(6):708-15.
105. Routray S, Mohanty N. Cancer stem cells accountability in progression of head and neck squamous cell carcinoma: the most recent trends! *Mol Biol Int*. 2014;2014:375325.
106. Satpute PS, Hazarey V, Ahmed R, Yadav L. Cancer stem cells in head and neck squamous cell carcinoma: a review. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2013;14(10):5579-87.
107. Sayed SI, Dwivedi RC, Katna R, Garg A, Pathak KA, Nutting CM, et al. Implications of understanding cancer stem cell (CSC) biology in head and neck squamous cell cancer. *Oral Oncol*. 2011 Apr;47(4):237-43.

108. Schlom J, Hodge JW, Palena C, Tsang KY, Jochems C, Greiner JW, et al. Therapeutic cancer vaccines. *Adv Cancer Res.* 2014;121:67-124.
109. Setúbal Destro Rodrigues MF, Gammon L, Rahman MM, Biddle A, Nunes FD, Mackenzie IC. Effects of Cetuximab and Erlotinib on the behaviour of cancer stem cells in head and neck squamous cell carcinoma. *Oncotarget.* 2018 Feb 5;9(17):13488-500.
110. Shah A, Patel S, Pathak J, Swain N, Kumar S. The evolving concepts of cancer stem cells in head and neck squamous cell carcinoma. *ScientificWorldJournal.* 2014 Jan 21;2014:842491.
111. Shakib K, Schratzenholz A, Soskic V. Stem cells in head and neck squamous cell carcinoma. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2011 Oct;49(7):503-6.
112. Sikandar SS, Pate KT, Anderson S, Dizon D, Edwards RA, Waterman ML, et al. NOTCH signaling is required for formation and self-renewal of tumor-initiating cells and for repression of secretory cell differentiation in colon cancer. *Cancer Res.* 2010 Feb 15;70(4):1469-78.
113. Simple M, Suresh A, Das D, Kuriakose MA. Cancer stem cells and field cancerization of oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol.* 2015 Jul;51(7):643-51.
114. Sinha N, Mukhopadhyay S, Das DN, Panda PK, Bhutia SK. Relevance of cancer initiating/stem cells in carcinogenesis and therapy resistance in oral cancer. *Oral Oncol.* 2013 Sep;49(9):854-62.
115. Sinha N, Panda PK, Naik PP, Maiti TK, Bhutia SK. Abrus agglutinin targets cancer stem-like cells by eliminating self-renewal capacity accompanied with apoptosis in oral squamous cell carcinoma. *Tumour Biol.* 2017 May;39(5):1010428317701634.
116. Song J, Chang I, Chen Z, Kang M, Wang CY. Characterization of side populations in HNSCC: highly invasive, chemoresistant and abnormal Wnt signaling. *PLoS One.* 2010 Jul 6;5(7):e11456.
117. Squier CA, Kremer MJ. Biology of oral mucosa and esophagus. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2001;(29):7-15
118. Stephens P, Genever P. Non-epithelial oral mucosal progenitor cell populations. *Oral Dis.* 2007 Jan;13(1):1-10.

119. Stransky N, Egloff AM, Tward AD, Kostic AD, Cibulskis K, Sivachenko A, et al. The mutational landscape of head and neck squamous cell carcinoma. *Science*. 2011 Aug 26;333(6046):1157-60.
120. Sun B, Chen M, Hawks CL, Pereira-Smith OM, Hornsby PJ. The minimal set of genetic alterations required for conversion of primary human fibroblasts to cancer cells in the subrenal capsule assay. *Neoplasia*. 2005 Jun;7(6):585-93.
121. Swiatek PJ, Lindsell CE, del Amo FF, Weinmaster G, Gridley T. Notch1 is essential for postimplantation development in mice. *Genes Dev*. 1994; 8(6):707–19.
122. Tabor MH, Clay MR, Owen JH, Bradford CR, Carey TE, Wolf GT, et al. Head and neck cancer stem cells: the side population. *Laryngoscope*. 2011 Mar;121(3):527-33.
123. Teixeira MG, Corrêa L. Quality Assessment of Prognostic Studies Using Cancer Stem Cell Markers in Oral Squamous Cell Carcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2018 May/Jun;26(5):e61-9.
124. Till JE, McCulloch EA. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. *Radiat Res*. 1961 Feb;14:213-22.
125. Tudor D, Locke M, Owen-Jones E, Mackenzie IC. Intrinsic patterns of behavior of epithelial stem cells. *J Invest Dermatol Symp Proc*. 2004 Sep;9(3):208-14.
126. Visvader JE, Lindeman GJ. Cancer stem cells in solid tumours: accumulating evidence and unresolved questions. *Nat Rev Cancer*. 2008 Oct;8(10):755-68.
127. Wan GL, Zhou L, Xie M, Chen H, Tian J. Characterization of side population cells from laryngeal cancer cell lines. *Head Neck*. 2010 Oct;32(10):1302-9.
128. Wang JC, Dick JE. Cancer stem cells: lessons from leukemia. *Trends Cell Biol*. 2005 Sep;15(9):494-501.
129. Wang SJ, Wong G, de Heer AM, Xia W, Bourguignon LY. CD44 variant isoforms in head and neck squamous cell carcinoma progression. *Laryngoscope*. 2009 Aug;119(8):1518-30.
130. Wei J, Barr J, Kong LY, Wang Y, Wu A, Sharma AK, et al. Glioma-associated cancer-initiating cells induce immunosuppression. *Clin Cancer Res*. 2010 Jan 15;16(2):461-73.

131. Welte Y, Adjaye J, Lehrach HR, Regenbrecht CR. Cancer stem cells in solid tumors: elusive or illusive? *Cell Commun Signal*. 2010 May 11;8(1):6.
132. Worden FP, Kumar B, Lee JS, Wolf GT, Cordell KG, Taylor JM, et al. Chemoselection as a strategy for organ preservation in advanced oropharynx cancer: response and survival positively associated with HPV16 copy number. *J Clin Oncol*. 2008 Jul 1;26(19):3138-46.
133. Wu XJ, Hua X. Targeting ROS: selective killing of cancer cells by a cruciferous vegetable derived pro-oxidant compound. *Cancer Biol Ther*. 2007 May;6(5):646-7.
134. Wu Y, Wu PY. CD133 as a marker for cancer stem cells: progresses and concerns. *Stem Cells Dev*. 2009 Oct;18(8):1127-34.
135. Zhang L, Li J, Zong L, Chen X, Chen K, Jiang Z, et al. Reactive oxygen species and targeted therapy for pancreatic cancer. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:1616781
136. Zhang P, Zhang Y, Mao L, Zhang Z, Chen W. Side population in oral squamous cell carcinoma possesses tumor stem cell phenotypes. *Cancer Lett*. 2009 May 18;277(2):227-34.
137. Zhang Q, Shi S, Yen Y, Brown J, Ta JQ, Le AD. A subpopulation of CD133+ cancer stem-like cells characterized in human oral squamous cell carcinoma confer resistance to chemotherapy. *Cancer Lett*. 2010 Mar 28;289(2):151-60.
138. Zhang Z, Filho MS, Nör JE. The biology of head and neck cancer stem cells. *Oral Oncol*. 2012 Jan;48(1):1-9.
139. Zhong H, De Marzo AM, Laughner E, Lim M, Hilton DA, Zagzag D, et al. Overexpression of hypoxia-inducible factor 1alpha in common human cancers and their metastases. *Cancer Res*. 1999 Nov 15;59(22):5830-5.
140. Zhou C, Sun B. The prognostic role of the cancer stem cell marker aldehyde dehydrogenase 1 in head and neck squamous cell carcinomas: a meta-analysis. *Oral Oncol*. 2014 Dec;50(12):1144-8.
141. Zhou ZT, Jiang WW. Cancer stem cell model in oral squamous cell carcinoma. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2008 Jan;3(1):17-20.

Células Tronco Tumorais - Gabriela Borgo

RELATÓRIO DE ORIGINALIDADE

3%

ÍNDICE DE SEMELHANÇA

2%

FONTES DA INTERNET

2%

PUBLICAÇÕES

2%

DOCUMENTOS DOS ALUNOS

FONTES PRIMÁRIAS

1

Submitted to Universidade Estadual de Campinas

Documento do Aluno

1%

2

"Squamous cell Carcinoma", Springer Nature, 2017

Publicação

<1%

3

www.jimmunol.org

Fonte da Internet

<1%

4

Submitted to University of Melbourne

Documento do Aluno

<1%

5

bdtd.famerp.br

Fonte da Internet

<1%

6

H.-P. Kapfhammer. "Chapter 88-1 Psychische Störungen bei somatischen Krankheiten", Springer Science and Business Media LLC, 2015

Publicação

<1%

7

Submitted to Universidade de Fortaleza --
Fundação Edson Queiroz / Foundation Edson

<1%