



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
EGAS MONIZ**

**MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA**

**CANCERIZAÇÃO EM CAMPO: CONCEITO E IMPLICAÇÕES  
CLÍNICAS NO CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS DA  
CABEÇA E PESCOÇO**

Trabalho submetido por  
**Rita Costa Martins**  
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

**Setembro de 2017**





# **INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ**

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA**

### **CANCERIZAÇÃO EM CAMPO: CONCEITO E IMPLICAÇÕES CLÍNICAS NO CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS DA CABEÇA E PESCOÇO**

Trabalho submetido por  
**Rita Costa Martins**  
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por  
**Doutor Jorge Rosa Santos**  
  
e coorientado por  
**Prof. Doutor Gonçalo Martins**

**setembro de 2017**



## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu orientador, Doutor Jorge Rosa Santos, pela sua disponibilidade, pelo apoio, por ter acreditado nas minhas capacidades e por todas as suas contribuições.

Ao meu coorientador, Professor Doutor Gonçalo Martins, pela sua disponibilidade, apoio e pelos artigos enviados.

Á minha família, que tudo fez para que conseguisse concluir este percurso com sucesso. Sem eles não era possível!

Á minha irmã e colega de box Raquel, por estar sempre presente durante todo o meu percurso académico, sempre a meu lado, por todo o apoio e companheirismo que partilhamos. Sem ela não era a mesma coisa!

Ao Joel, por me ter acompanhado durante todo este percurso, pelo apoio e carinho que sempre demonstrou.

Aos meus amigos, pela amizade incondicional, pela paciência e por todo o apoio que demonstraram durante este meu percurso, o meu muito obrigada.



## RESUMO

O cancro começa com múltiplas alterações epigenéticas e genéticas cumulativas que transformam sequencialmente uma célula ou um grupo de células num determinado órgão. O carcinoma de células escamosas da cabeça e pescoço (HNSCC) que compreende os locais anatómicos do trato aerodigestivo superior representa a quinta causa mais comum de morte por cancro em todo o mundo. O desenvolvimento do HNSCC é o resultado da interação de fatores ambientais e genéticos e, portanto, é multifatorial. O tabagismo e o abuso de álcool são fatores de risco importantes para o desenvolvimento desta doença, o vírus do papiloma humano (HPV) também é considerado fator de risco com cada vez mais incidência.

O termo "cancerização em campo" foi introduzido em 1953 para descrever campos de células aparentemente normais mas que apresentam aberrações a nível molecular, á volta do carcinoma de células escamosas, particularmente no trato aerodigestivo superior, provavelmente relacionado à exposição a carcinogéneos. Este conceito tenta explicar tanto a recorrência como a ocorrência de segundos tumores primários após a excisão completa dos tumores. É essencial identificar e tratar este campo para ter maiores hipóteses de prevenir o cancro e alcançar um melhor resultado.

A identificação de marcadores biológicos que possam ajudar a prever as alterações de campo é agora considerada um requisito primordial. Vários estudos focam-se agora em biomarcadores de fases iniciais em vez de biomarcadores específicos da doença tardia, para tentar o diagnóstico precoce e a terapia destas lesões iniciais. A quimioprevenção é o uso de substâncias naturais ou sintéticas para parar, atrasar ou reverter a progressão maligna de tecidos em risco de desenvolver cancro invasivo. Compreender o conceito de cancerização em campo, os seus fatores de risco, marcadores biológicos e métodos de quimioprevenção para HNSCC ajudarão a reduzir os efeitos devastadores da malignidade deste cancro.

**Palavras-chave:** cancerização em campo; cancro da cabeça e pescoço; carcinoma de células escamosas; marcadores biológicos.



## **ABSTRACT**

Cancer begins with multiple cumulative epigenetic and genetic alterations that sequentially transform a cell, or a group of cells in a particular organ. Squamous cell carcinoma of the head and neck (HNSCC) comprising the anatomical sites of the upper aerodigestive tract represents the fifth most common cause of cancer death worldwide. The development of HNSCC is the result of the interaction of environmental and genetic factors and, therefore, is multifactorial. Smoking and alcohol abuse are important risk factors for the development of this disease, the human papilloma virus (HPV) is also considered a risk factor with increasing incidence.

The term "field cancerization" was introduced in 1953 to describe fields of apparently normal cells but exhibit molecular aberrations around squamous cell carcinoma, particularly in the upper aerodigestive tract, probably related to exposure to carcinogens. This concept attempts to explain both recurrence and the occurrence of second primary tumors after complete tumor excision. Identifying and treating this field is essential to have a better chance of preventing cancer and achieving a better outcome.

The identification of biological markers that can help predict field changes is now considered a primary requirement. Several studies focus now on early-stage biomarkers rather than late-disease specific biomarkers to attempt the early diagnosis and therapy of these early lesions. Chemoprevention is the use of natural or synthetic substances to stop, delay or reverse the malignant progression of tissues at risk of developing invasive cancer. Understanding the concept of field cancerization, its risk factors, biological markers and chemoprevention methods for HNSCC will help reduce the devastating effects of malignancy of this cancer.

**Keywords:** field cancerization; head and neck cancer; squamous cell carcinoma; biological markers.



## ÍNDICE GERAL

<b>I. INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>II. DESENVOLVIMENTO</b> .....	15
<b>1- Carcinoma de células escamosas</b> .....	15
1.1- Carcinogénese .....	15
1.2- Desenvolvimento do Carcinoma de células escamosas .....	18
1.3- Epidemiologia .....	18
1.4- Fatores de risco .....	20
1.5- Sinais e sintomas .....	26
1.6- Diagnóstico .....	29
1.7- Terapia implementada .....	31
<b>2- Conceito e princípio da cancerização em campo</b> .....	45
<b>3- Origem do campo de cancerização</b> .....	46
3.1- Base celular (modelos mono e policlonais) .....	46
3.2- Base genética .....	50
<b>4- Definição Clínica de recorrência local, STP e SFT</b> .....	51
<b>5- Implicações Clínicas da cancerização em campo</b> .....	53
5.1- Implicações no diagnóstico precoce, avaliação de risco, monitoramento da progressão tumoral e na definição de margens tumorais .....	53
5.1.1 Técnicas auxiliares de diagnóstico .....	57
5.2- Quimioprevenção .....	66
<b>6- Cancerização em campo e HPV</b> .....	70

7- Perspetivas futuras .....	72
<b>III. CONCLUSÃO .....</b>	<b>74</b>
<b>IV. BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>76</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1-</b> Etapas da carcinogénese (Adaptado de INCA, 2008) .....	17
<b>Figura 2-</b> Progressão Clínica, histológica e molecular do cancro oral (Adaptado de Kumar et al., 2010)...	18
<b>Figura 3-</b> Risco relativo do desenvolvimento dos cancros orais e faríngeos para os homens de acordo com o consumo de tabaco e álcool utilizados. (Adaptada de Hermans, 2008) .....	20
<b>Figura 4-</b> Lesão ulcerada no 3º quadrante devido a prótese acrílica inferior mal adaptada (Adaptado de (Paiva, 2010) .....	24
<b>Figura 5-</b> Leucoplasia (adaptado de Torre et al., 2015) .....	25
<b>Figura 6-</b> Eritroplasia (Adaptado de Boy, 2012) .....	26
<b>Figura 7-</b> Líquen plano oral (Adaptado de Ryan, Hegarty e Hodgson, 2014) .....	26
<b>Figura 8-</b> Lesão eritroplásica com carcinoma na porção lateral da língua (Adaptado de Bagan, Sarrion & Jimenez em 2010) .....	28
<b>Figura 9-</b> Tumor da faringe no qual houve rouquidão progressiva de mais de 6 meses ( <a href="http://www.clinicacoser.com/veja-fotos-de/laringoscopia/#13">http://www.clinicacoser.com/veja-fotos-de/laringoscopia/#13</a> ) .....	28
<b>Figura 10-</b> Forma precoce do CCO no pavimento da cavidade oral (Adaptado de Bagan, Sarrion & Jimenez em 2010) .....	28
<b>Figura 11-</b> Falha na colocação da prótese do maxilar superior pode ser o primeiro sintoma do cancro da cavidade oral e do seio maxilar (Adaptado de Hermans, 2008) .....	28
<b>Figura 12-</b> Coloração vital com solução de iodo: (a) pré-coloração e (b) pós-coloração. A lesão displásica da mucosa oral não é manchada (Adaptado de Kirita & Omura, 2003) .....	31
<b>Figura 13-</b> Hemiglossectomia com reconstrução radial do retalho do antebraço. (A) O tumor da língua que requer tratamento cirúrgico. (B) A situação após hemiglossectomia. (C) A pele radial do antebraço (1) é usada para reconstruir o defeito da hemiglossectomia. Os vasos radiais do antebraço (2) são suturados nos vasos do pescoço para restabelecer o suprimento de sangue para o retalho (Adaptado de Hermans, 2008).....	34
<b>Figura 14-</b> Dissecção radical do pescoço modificada. O nervo acessório espinhal é preservado. (Adaptado de Hermans, 2008) .....	35
<b>Figura 15-</b> Acelerador linear (Adaptado de INCA, 2008) .....	36
<b>Figura 16-</b> Aparelho para braquiterapia (Adaptado de INCA, 2008) .....	36

<b>Figura 17-</b> Bandeja acrílica com bloco de colimação (Adaptado de H. L. Martins, 2014) .....	38
<b>Figura 18-</b> Colimador de multiplanos (Adaptado de H. L. Martins, 2014) .....	38
<b>Figura 19-</b> Esquema da aplicação na TFD (Adaptado de Pavani, 2009) .....	44
<b>Figura 20-</b> Cancerização em Campo e Recorrências Locais (Adaptado de Leemans et al., 2011) .....	46
<b>Figura 21-</b> Teorias de cancerização em campo (Adaptado de Mohan & Jagannathan, 2014).....	47
<b>Figura 22-</b> Modelo proposto para a carcinogénese do HNSCC (Adaptado Sabharwal, Sepolia, et al., 2014).....	50
<b>Figura 23-</b> Progressão precoce na hiperplasia de cancerização em campo que leva ao carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço. A: fragmento de hiperplasia; B: campo da hiperplasia. (Adaptada de Rubin, 2011).....	51
<b>Figura 24-</b> Proposta para uma nova classificação de cancro secundário após a remoção de um carcinoma primário de células escamosas de cabeça e pescoço. A nova classificação (à direita) baseia-se na informação molecular sobre a relação entre o primeiro tumor e os secundários (Adaptada de Sabharwal, Sepolia, et al., 2014).....	53
<b>Figura 25-</b> VELscope (Adaptado de Shin, Vigneswaran, Gillenwater e Richards-Kortum, 2010) .....	60
<b>Figura 26-</b> Identafi 3000 com as 3 luzes distintas (Adaptado de Messadi, Younai., Liu, Guo e Wang, 2014).....	61
<b>Figura 27-</b> Aplicação do OralCDx na língua (Mehrotra, Singh, Pandya, & Singh, 2008).....	62
<b>Figura 28-</b> Material para a aplicação do sistema Salimark™ CEC (Adaptado de PeriRx, 2015) .....	65
<b>Figura 29-</b> Representação gráfica da terapia fotodinâmica usando a aplicação tópica do ácido fotossensibilizador (PS) 5-aminolevulinic (ALA) no carcinoma de células escamosas precoce. Na presença de oxigénio, o laser de 635 nm ou fonte de luz LED excita o ALA que pode transferir a sua energia para o oxigénio molecular (O <sub>2</sub> ) que gera oxigénio singlete (1O <sub>2</sub> ). A meia-vida de 1O <sub>2</sub> é muito curta, o que limita o seu alcance a 55 nm. Esta curta distância de difusão limita o efeito de PDT para apenas as células que absorveram PS (+) (1). Um benefício adicional da PDT é que o PS e a fonte de luz individualmente são agentes não tóxicos. Dado que as células pré-malignas e malignas podem preferencialmente receber ALA, direcionar a fonte de luz além das margens clínicas de uma lesão pode destruir lesões ocultas adicionais (2) que, de outra forma, continuarão a se desenvolver (Adaptado de Fribley, 2016).....	69

## ÍNDICE DE TABELAS

**Tabela 1** - Diferentes características clínicas e biológicas do HNSCC HPV-negativo e HPV-positivo (Leemans, Braakhuis, & Brakenhoff, 2011) .....70

**Tabela 2** - Estudos sobre a relação entre Carcinomas de Células Escamosas Orofaríngeos HPV-positivos e Cancerização em Campo (Adaptado de Martins, 2016).....71

## LISTA DE SIGLAS

**ADN** - Ácido Desoxirribonucléico

**AINEs** - Anti-inflamatórios Não Esteroides

**ALA** - 5-aminole-vulinic

**BBIC** - Concentrado de Inibidor de Bowman-Birk

**CCO** – Carcinoma da Cavidade Oral

**CEC** – Carcinoma Espinocelular

**COX-2** - Ciclo-oxigenase-2

**EGFR** – Recetor do Fator de Crescimento Epidémico

**FN1** - Fibronectina 1

**FS** - Fotossensibilizador

**FDA** - Food and Drug Administration

**HIV** - Vírus da Imunodeficiência Humana

**HNSCC** - Carcinoma de Células Escamosas de Cabeça e Pescoço

**HPV** - Vírus do Papiloma Humano

**IMRT** - Terapia de Radiação de Intensidade Modulada

**LOH** – Perda de Heterozigosidade

**LPO** - Líquen Plano Oral

**MLC** – Colimador de Múltiplos Planos

**MMP1** - Metaloproteinases de Matriz 1

**MPT** - Tumores Primários Múltiplos

**MRI** – Imagem por Ressonância Magnética

**MTX** – Metotrexato

**NCI** - National Cancer Institute

**NIH** - National Institute of Health

**OFNASET** - Teste Nanossensor de Fluido Oral

**OSCC** – Carcinoma de Células Escamosas Oral

**PEG** - Polietilenoglicol

**PET** – Tomografia por Emissão de Positrões

**PS** – Fotossensibilizador

**QT** – Quimioterapia

**RNA** - Ácido Ribonucleico

**RT** – Radioterapia

**SCC** – Carcinoma de Células Escamosas

**SFT** – Segundos Tumores de Campo

**SPT** – Segundos Tumores Primários

**TC** – Tomografia computadorizada

**TFD** – Terapia Fotodinâmica

**TNC** - Tenascina C

**VEGFR** - Recetor do Fator de Crescimento Endotelial Vascular

**3DCRT** – Radioterapia 3D Conformacional

**5-FU** - 5- Fluorouracil



## **I - INTRODUÇÃO**

O cancro trata-se de uma complexa afeção genética derivada do acúmulo de uma série de alterações genéticas. O carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço (HNSCC) é a neoplasia mais comum do trato aerodigestivo e representa mais de 90% dos tumores malignos dessa região, com 500 mil novos casos a nível mundial. Trata-se da quinta principal causa de incidência de cancro (Khademi, Hashemi, Ghaderi, Shahrestani, & Mohammadianpanah, 2012). Apresenta-se em sexto lugar em mortalidade por cancro e inclui os cancros da cavidade oral (40%), faringe (15%) e laringe (25%) (Rodrigues et al., 2010).

Este cancro afeta principalmente homens em idades mais avançadas. A idade média no diagnóstico é de 60 anos. No entanto, a incidência do cancro da base da língua e das amígdalas aumentou em indivíduos com idade inferior a 45 anos (Galbiatti et al., 2012). Os principais fatores de risco identificados na etiologia desta neoplasia são o tabaco e o álcool, porém outros fatores em conjugação podem demonstrar um papel igualmente fulcral na carcinogénese (Silva, Amaral, & Bulhosa, 2010).

Os pacientes com HNSCC geralmente são diagnosticados num estágio tardio da doença, aproximadamente 75% dos diagnósticos são realizados no estágio III ou IV. Essa situação torna-se pior em países em desenvolvimento, como Índia, Tailândia e Brasil, países onde esse tipo de cancro é mais comum (Rodrigues et al., 2010).

Baixas taxas de sobrevivência, 50% após 5anos, estão associadas à falha no diagnóstico precoce. O diagnóstico tardio tem um grande impacto na qualidade de vida do paciente devido à agressividade das múltiplas intervenções, maioritariamente cirúrgicas, que se tornam então necessárias (American Cancer Society, 2016).

Apesar das novas técnicas cirúrgicas, radioterapia e uso concomitante da quimioterapia, não se observa aumento significativo da taxa de sobrevida nas últimas décadas (Rodrigues et al., 2010).

Os doentes com HNSCC desenvolvem, frequentemente, tumores primários em múltiplos sítios e têm tendência para recidivas locais após cirurgia (Lu, Chengyun, Wei, & Key, 2015). A recidiva loco-regional e o desenvolvimento de segundos tumores primários (SPT) são os principais fatores que afetam a taxa de sobrevivência no cancro de cabeça e pescoço (Simple, Suresh, Das, & Kuriakose, 2015). A taxa de sobrevida a

longo prazo nos últimos 50 anos é de 50%. Num estágio inicial a taxa de sobrevivência de 5 anos é de 80%, que decresce para 19% num estágio mais avançado (Kumar et al., 2010).

O conceito "cancerização em campo" foi apresentado pela primeira vez por Slaughter e seus colaboradores em 1953. Eles examinaram amostras histopatológicas de 783 pacientes com cancro de cabeça e pescoço para entender as alterações encontradas no epitélio adjacente a esses tumores e descobriram que todo o epitélio para além dos limites do tumor demonstrou alterações histológicas (Angadi, Savitha, Rao, & Sivaranjini, 2012). Este conceito é, então referido como a ocorrência de anormalidades moleculares no campo adjacente ao tumor e tenta explicar tanto a recorrência como a ocorrência de segundos tumores primários. Em tumores epiteliais, as células adjacentes ao tumor também são expostas ao agente carcinogénico e, portanto, podem desenvolver alterações moleculares anormais, formando um campo de células geneticamente alterado, mas aparentemente normal. As principais alterações moleculares observadas são as mutações em oncogenes / genes supressores de tumor, perda de heterozigidade (LOH) e instabilidade genómica (Simple et al., 2015).

Slaughter, numa das suas publicações, afirmou: "O cancro não surge como um fenómeno celular isolado, mas sim como uma tendência anaplásica que envolve muitas células ao mesmo tempo"(Dakubo, Jakupciak, Birch-Machin, & Parr, 2007). Inicialmente, Slaughter e seus colaboradores não desenvolveram uma definição clara para o conceito, mas através de exames histológicos extensos, o conceito foi proposto descrevendo questões abrangidas pelo termo "cancerização em campo": a) o cancro oral desenvolve-se em áreas multifocais com alterações pré-cancerígenas; b) o tumor está rodeado por tecido anormal; c) o cancro oral, muitas vezes, consiste em múltiplas lesões independentes que por vezes coalescem; d) a persistência de tecido afetado após a cirurgia pode explicar os segundos tumores primários e as recorrências locais (Braakhuis, Tabor, Kummer, & Brakenhoff, 2003).

## **II- DESENVOLVIMENTO**

### **1-Carcinoma de células escamosas**

#### **1.1- Carcinogénese**

Os cancros são caracterizados por uma divisão celular não regulada, erros no processo que regula a morte celular, invasão de tecido e a capacidade de metástase. Uma neoplasia é benigna quando cresce de forma não regulada sem invasão de tecido. A presença de crescimento não regulado e invasão de tecido é característica de neoplasias malignas. Os cancros são nomeados com base na sua origem: os derivados do tecido epitelial são chamados de carcinomas, os derivados de tecidos mesenquimatosos são sarcomas e aqueles derivados de tecido hematopoiético são leucemias, linfomas e discrasias de células plasmáticas (incluindo mieloma múltiplo) (Kasper et al., 2015).

O desenvolvimento do carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço é tradicionalmente atribuído aos efeitos carcinogénicos sinérgicos do tabaco e do álcool. Outros fatores como a dieta, uma deficiente higiene oral, refluxo gastro esofágico e infeção viral também podem ser importantes contribuintes para o desenvolvimento de carcinoma epidermoide de cabeça e pescoço. Também alguns tipos de HPV de alto risco (por exemplo, 16, 18 e 31) são um agente causal no desenvolvimento de alguns carcinomas de células escamosas de cabeça e pescoço, particularmente cancros da orofaringe (Doherty, 2015).

Independentemente da exposição a carcinogénicos, as células sofrem processos de mutação espontânea, que não alteram o desenvolvimento normal da população celular como um todo. Estes fenómenos incluem danos oxidativos, erros de ação das polimerases e das recombinases e redução e reordenamento cromossómico.

Os fenómenos de mutação espontânea podem condicionar uma maior ou menor instabilidade genómica, que pode ser crucial nos processos iniciais da carcinogénese, como consequência de aneuploidia e ampliações genéticas.

Em síntese, a carcinogénese pode iniciar-se de forma espontânea ou ser provocada pela ação de agentes carcinogénicos (químicos, físicos ou biológicos). Em ambos os

casos, verifica-se a indução de alterações mutagénicas e não-mutagénicas ou epigenéticas nas células (INCA, 2008)

A grande maioria dos cancros humanos são caracterizados por um processo de múltiplas etapas que envolve muitas anormalidades genéticas, cada uma das quais contribui para a perda de controlo de proliferação e diferenciação celular e a aquisição de capacidades, como invasão de tecido, capacidade de metástase e angiogénese. Essas propriedades não são encontradas na célula adulta normal a partir da qual o tumor é derivado. Na verdade, as células normais possuem um grande número de postos de controlo contra a proliferação e invasão descontroladas. Muitos tipos de cancro passam por etapas de fenómenos progressivamente mais anormais: hiperplasia, adenoma, displasia, carcinoma *in situ*, cancro invasivo com capacidade de metástase. Para a maioria dos cancros, essas mudanças ocorrem por um longo período de tempo, geralmente muitos anos (Kasper et al., 2015).

A carcinogénese é composta por três etapas: iniciação, promoção e progressão. Iniciando com eventos como ativação de genes, conhecidos como oncogenes ou inativação de genes, conhecidos como genes supressores de tumores, podem levar uma única célula a adquirir uma vantagem de crescimento distinta. Embora os tumores geralmente surjam a partir de uma única célula ou clone, pensa-se que, às vezes, não uma única célula, mas sim um grande número de células num órgão alvo pode ter sofrido o evento genético iniciador. Assim, muitas células que aparecem de forma normal podem ter um aumento do potencial maligno. Isso é referido como um efeito de campo de cancerização. Os eventos iniciadores geralmente são genéticos e ocorrem como deleções de genes supressores de tumores ou amplificação ou mutação de oncogenes. Eventos subsequentes podem levar a acumulações de mutações deletérias adicionais no clone (Charles et al., 2015).

A primeira etapa (iniciação) consiste num fator iniciador ou carcinogénico que causa dano ou mutação celular. A mutação dos ácidos nucleicos é o fenómeno central da etapa de iniciação da carcinogénese. As células “iniciadas” permanecem latentes até que sobre elas atuem agentes promotores.

A segunda etapa (promoção) estimula o crescimento da célula que sofreu mutação, e pode acontecer a qualquer momento, após a transformação celular inicial. Os fatores de promoção podem ser agentes químicos (p. ex. asbesto), processo inflamatório, hormonas,

fatores que atuam no crescimento celular normal. É importante destacar que o agente promotor não tem ação mutagénica nem carcinogénica e que, para conseguir efeito biológico, deve persistir no ambiente. Isto significa que seus efeitos revertem-se, caso a exposição a ele seja suspensa, sendo esta a grande diferença existente, entre ele e o agente carcinogénico, decisiva para as ações preventivas do cancro (INCA, 2008).

Assim, se à iniciação se seguir a promoção e afeção de genes determinantes, nomeadamente, de proto oncogenes promotores do crescimento, genes inibidores do crescimento, dos supressores do tumor, genes que regulam a apoptose e genes envolvidos no reparo do ADN, ocorre transformação maligna pelas cumulativas mutações que se originam (Santos & Teixeira 2011).

Por conseguinte, as modificações cruciais para aquisição de malignidade pressupõem evasão da apoptose, autossuficiência nos sinais de crescimento, insensibilidade aos sinais inibidores do crescimento, defeitos no reparo do ADN e instabilidade genética, potencial infinito de replicação adquirida pela preservação do comprimento e da função dos telómeros, formação do aporte vascular induzida por diversos agentes, fenómeno este designado por angiogénese e a capacidade de invadir e metastizar (progressão) (Feller, Khammissa, Kramer, & Lemmer, 2013).

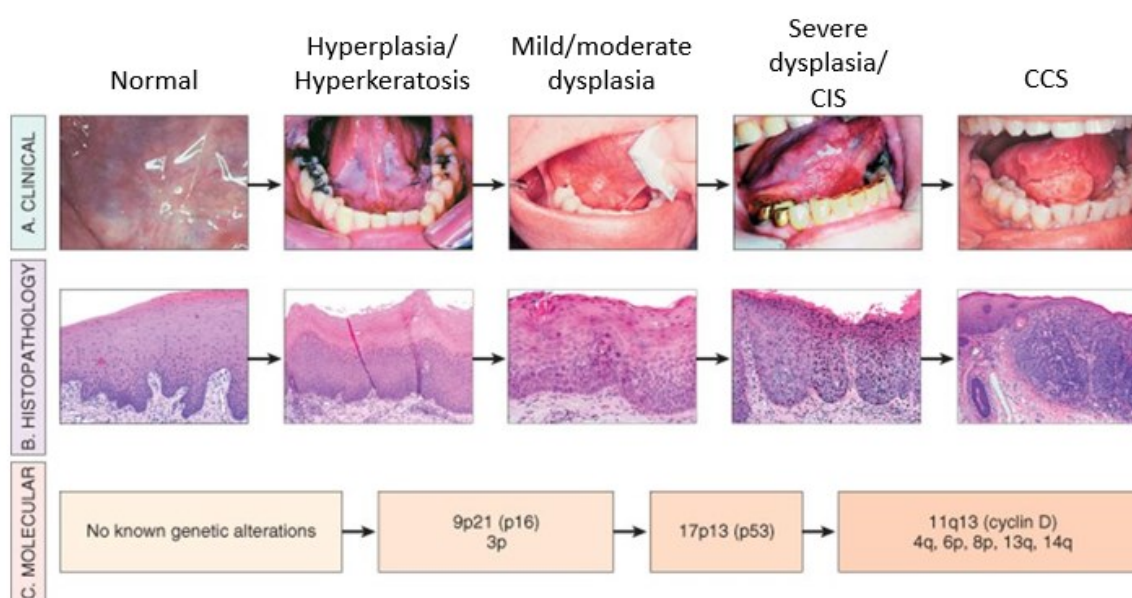
Relativamente à classificação deste tipo de neoplasia, é referenciado que o grau de queratinização e a presença de figuras mitóticas, permitem a distinção entre células HNSCC bem, moderadamente ou mal diferenciadas. Os tumores mal diferenciados apresentam pior prognóstico do que os tumores bem diferenciados (Kasper et al., 2015).



Figura 1 – Etapas da carcinogénese (Adaptado de INCA, 2008)

## 1.2 -Desenvolvimento do carcinoma de células escamosas

O desenvolvimento do carcinoma de células escamosas trata-se de um processo de múltiplas etapas que envolve a ativação sequencial de oncogenes e a inativação de genes supressores do tumor. Foram encontradas várias alterações genéticas no HNSCC, que deram origem a um modelo molecular, embora nem todas as mutações específicas para progressão tenham sido delineadas. Inicialmente há a perda de regiões cromossômicas de 3p e 9p21. A hipermetilação do promotor nesse locus e a perda de heterozigidade (LOH) inativa o gene p16. Esta alteração leva à transição de normalidade para hiperplasia/hiperqueratose, e ocorre antes de se desenvolver atipias histopatológicas, constituindo uma limitação histológica para um diagnóstico precoce. De seguida, a LOH na 17p com mutação do p53 está associada à progressão da displasia. Foi recentemente demonstrado que alterações genómicas como deleções na 4q, 6p, 8p, 11q, 13q e 14q podem atuar na progressão para a malignidade. O gene da ciclina D1 (ativa a progressão do ciclo celular), que se localiza no cromossoma 11q13, comumente sofre amplificação e superexpressão. Algumas pesquisas sugerem que modificações nesse gene conferem a capacidade de invasão (Kumar et al., 2010).



**Figura 2-** Progressão Clínica, histológica e molecular do cancro oral (Adaptado de Kumar et al., 2010)

## 1.3- Epidemiologia

O cancro de cabeça e pescoço é o sexto cancro mais frequente do mundo. Aproximadamente 500 000 novas neoplasias malignas das mucosas são registradas por

ano (cancro oral e faríngeo: 363 000 novos casos e 200 000 mortes por ano, cancro laríngeo: 136 000 novos casos e 73 500 mortes por ano. Isto representa 6% da incidência global de cancro (Hermans, 2008).

O número de novos casos de cancro de cabeça e pescoço (cavidade oral, faringe e laringe) nos Estados Unidos foi de 53.640 em 2013, representando cerca de 3% das neoplasias malignas em adultos, 11.520 pessoas morreram pela doença. A incidência mundial excede o meio milhão de casos por ano. Na América do Norte e na Europa, os tumores geralmente surgem na cavidade oral, orofaringe ou laringe. A incidência de cancro orofaríngeo está a aumentar nos últimos anos. O cancro nasofaríngeo é mais comum nos países do Mediterrâneo e no Extremo Oriente, onde é endémico em algumas áreas (Kasper et al., 2015).

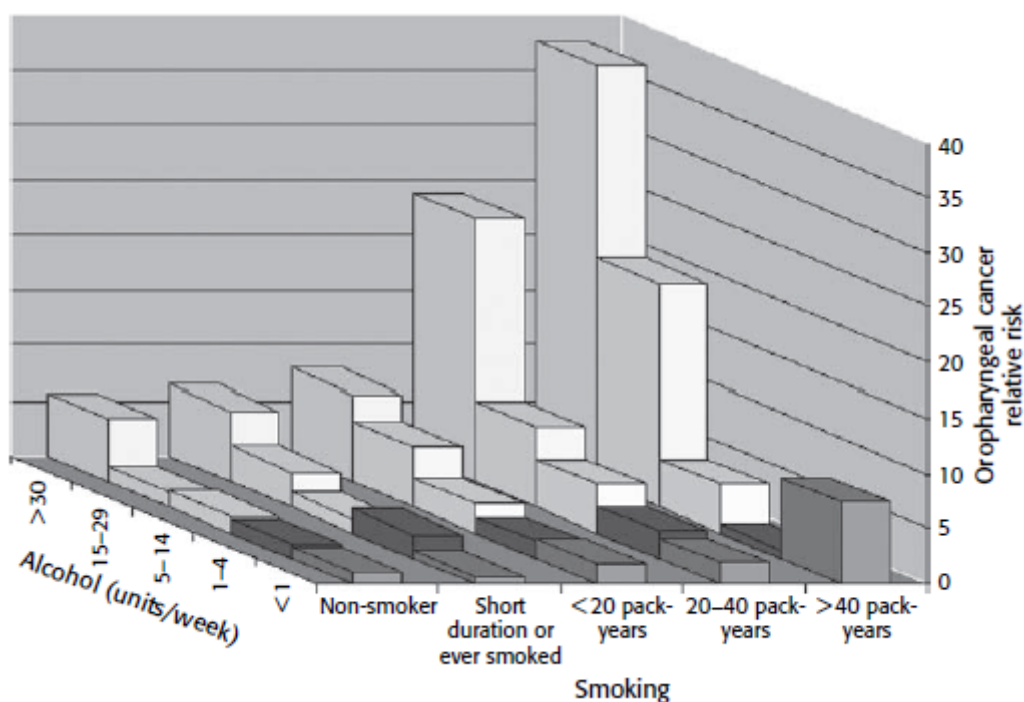
Estatisticamente, o cancro oral, situam-se na 15ª posição da escala dos cancros mais comuns na Europa, com cerca de 61400 novos casos diagnosticados em 2012, o que representou cerca de 2% do número total de cancros recenseados nesse mesmo ano (Ferlay et al., 2013).

Em geral, a incidência é dependente do género e da geografia. No HNSCC, existe uma preponderância masculina. Por exemplo, uma relação masculino/feminino de 10/1 é observada na incidência de SCC laríngeo. Existe uma importante variação geográfica na incidência do cancro nos sítios específicos de cabeça e pescoço. Por exemplo, o SCC hipofaríngeo é tipicamente mais frequente no norte da França (10/100 000 homens por ano) do que nos EUA (2/100 000 homens por ano). A incidência anual de cancro de laringe no norte da Espanha (20/100 000) é de aproximadamente 200 vezes a incidência em certas regiões na China (0,1 / 100 000) (Hermans, 2008).

Em Portugal, de acordo com os últimos dados (2012), a incidência de carcinoma da cabeça e pescoço foi de 48 novos casos na população masculina, por ano, e de 8 novos casos na população feminina, com taxas de mortalidade de 19 e 3%, respetivamente. Anualmente há cerca de 2.500 novos casos da doença em Portugal, 85% dos quais em fumadores ou ex-fumadores, com taxas de incidência e mortalidade das mais elevadas na Europa (SNS, 2016). A sobrevivência por sexo avaliada a 5 anos tem um prognóstico mais favorável no sexo feminino e numa faixa etária mais nova, entre 15-44 anos, e piora para uma faixa etária mais idosa, superior a 75 anos (RORENO, 2011).

### 1.4- Fatores de risco

O uso crónico de tabaco e álcool é a principal causa do desenvolvimento da HNSCC. Epidemiologicamente, a forte associação da ocorrência da doença e a alta prevalência destes fatores entre a população explicam a força e o impacto da relação causal observada (Hermans, 2008).



**Figura 3-** Risco relativo do desenvolvimento dos câncros orais e faríngeos para os homens de acordo com o consumo de tabaco e álcool utilizados. (Adaptada de Hermans, 2008)

Além destes dois fatores existem também outros com potencial para desenvolver carcinomas, no entanto com uma menor percentagem: fatores genéticos, imunitários, HPV e dietéticos (Foulkes,2013).

Doentes imunodeprimidos, por exemplo indivíduos transplantados ou com patologia imunossupressora (p.ex. infetados pelo HIV) têm uma probabilidade mais elevada de desenvolverem cancro oral, particularmente do lábio inferior. Outras doenças mais raras predis põem para o cancro oral, entre as quais o xeroderma pigmentoso, a anemia de Fanconi, a disqueratose congénita e o Síndrome de Plummer-Vinson. Discute-se o papel de doenças como o líquen plano oral, as reações liquenoides, o lúpus eritematoso discoide e a sífilis terciária, no aumento do risco para as neoplasias malignas da cavidade oral. Discute-se ainda, como fator de risco, uma saúde oral deficiente

traduzida por uma má higiene oral, por ausência de número elevado de dentes e pela presença de próteses dentárias mal adaptadas (Azul, Bulhosa, Melo, & Trancoso, 2014).

A idade também é frequentemente considerada como fator de risco para HNSCC, como ocorre com mais frequência em pessoas com mais de 40 anos, indica um componente temporal para o acúmulo de dano celular resultando num potencial de transformação maligna (Fribley, 2016).

### Tabaco

Não há outro fator de risco como o tabagismo em que a associação causal com o cancro foi claramente estabelecida. Fumar é um item de luxo, que também possui a maior relação causal com a carcinogénese do cancro oral. A frequência de ocorrência de cancro oral é extremamente alta no Sri Lanka, na Índia ou em Taiwan, em comparação com o Japão, em que cerca de 30% do cancro é cancro oral. Foi demonstrado epidemiologicamente que tal ocorrência elevada de cancro oral é causada pelo hábito de fumar e mascar tabaco (Kirita & Omura, 2003).

A maioria dos agentes cancerígenos relacionados ao tabaco são subprodutos da pirólise, dos quais mais de 4000 constituintes químicos são produzidos. O tabaco sem fumo varia amplamente com base no processo de produção, mas favorece a formação de N-nitrosaminas cancerígenas específicas do tabaco (Fribley, 2016).

O tabaco tem um efeito carcinogénico dose-resposta linear em que a duração é mais importante do que a intensidade da exposição. A principal atividade cancerígena do fumo do cigarro reside na fração de partículas (alcatrão), que contém uma mistura complexa de iniciadores de cancro, promotores e co-cancerígenos a interagirem (Werning, 2007).

### Álcool

Beber é um fator, cuja causalidade com o cancro foi demonstrada como o tabagismo. Diferente do tabaco, o álcool (etanol) não possui potencial de carcinogénese. No entanto, tem sido demonstrado em muitos estudos que o álcool está indiretamente associado à carcinogénese. Além disso, um efeito sinérgico devido à exposição

concomitante ao consumo de álcool e tabagismo muitas vezes se torna um problema. Beber e fumar causa exposição de fatores cancerígenos a toda a faringe, laringe, esôfago e estômago além da cavidade oral ao mesmo tempo, portanto, isso também está relacionado ao desenvolvimento de múltiplos câncros (cancerização em campo) (Kiritani & Omura, 2003)

O álcool é cancerígeno após a redução enzimática da mucosa (por álcool desidrogenase) ao acetaldeído. As superfícies da mucosa oral e hipofaringe, especialmente, têm risco de carcinogênese induzida pelo álcool. A mucosa da laringe glótica não tem contato direto com o carcinogênio e, portanto, apenas um consumo muito alto de álcool é preciso para aumentar o risco de HNSCC de forma independente.

A ingestão de álcool cria exposição a outros compostos cancerígenos, como taninos em vinho e nitrosodimetilamina na cerveja. Além disso, a alta ingestão destas bebidas implica deficiências nutricionais, que também aumentam o risco de desenvolvimento de HNSCC, perdendo o efeito protetor comprovado da alta ingestão de frutas e vegetais (Hermans, 2008).

### Dieta

Fatores dietéticos podem contribuir para o desenvolvimento de HNSCC. A incidência de câncer de cabeça e pescoço é maior nas pessoas com menor consumo de frutas e vegetais. Certas vitaminas, incluindo carotenoides, podem ser protetoras se incluídas numa dieta equilibrada (Kasper et al., 2015).

Uma dieta rica em frutas e vegetais frescos comprovou reduzir a incidência de HNSCC em 50-70%. Alimentos protetores são especialmente os vegetais escuros, os cítricos e os vegetais ricos em caroteno (tomates frescos, abóboras, cenouras). Estes vegetais contêm micronutrientes antioxidantes cruciais, como vitamina C, vitamina E, beta-caroteno e flavonóides. A ingestão de fibras e o azeite também são sugeridos para ter efeitos protetores (Hermans, 2008).

Evidências epidemiológicas de estudos de caso-controle tradicionais sugeriram que dietas ricas em gorduras animais e baixas em frutas e vegetais podem aumentar o risco de HNSCC. Winn e colegas descobriram que o risco de câncer oral e faringe nas mulheres é inversamente relacionado ao consumo de frutas e vegetais frescos. Da mesma

forma, num estudo de 871 indivíduos com cancro oral e da faringe e 979 controles livres de cancro, McLaughlin et al observaram uma relação inversa entre a ingestão de frutas e o risco de cancro oral e da faringe (Werning, 2007).

### HPV

As infeções virais também foram associadas à patogénese do HNSCC. O vírus do papiloma humano (HPV) é prevalente em aproximadamente 50% dos pacientes com cancro oral e em 72% com cancro da orofaringe. Foram relatados riscos relativos até 6,2 para o desenvolvimento do cancro oral, e recentemente foi confirmado um risco relativo de 12 para o desenvolvimento do cancro orofaríngeo. O HPV tipo 16 parece particularmente associado ao desenvolvimento do SCC orofaríngeo, tanto em pacientes com ou sem fatores de risco associados ao tabaco e álcool (Hermans, 2008).

No HPV os genes E5, E6 e E7 codificam três onco-proteínas virais. As proteínas E6 / E7 funcionam como as onco-proteínas dominantes dos HPVs de alto risco que inativam as proteínas supressoras de tumores, p53 e pRb, respetivamente. Os genes E6 e E7 podem modificar o ciclo celular de modo a reter o queratinócito hospedeiro diferenciado num estado favorável à amplificação da replicação do genoma viral e consequente expressão tardia do gene (Zaravinos, 2014).

A primeira linha de evidência do impacto do HPV no prognóstico vem de pequenos casos-série retrospectivos, mostrando que os pacientes com HPV (+) HNSCC (particularmente aqueles com primário orofaríngeo) tratados por radioterapia, quimiorradioterapia, cirurgia ou terapia de modalidade combinada, têm melhores resultados do que aqueles com cancro não induzido por HPV (Zaravinos, 2014). As terapêuticas oncológicas vão ter mais sensibilidade ao vírus HPV tornando o tratamento mais focalizado e eficaz para este subtipo de neoplasias malignas (Chai, Lambie, Verma & Punyadeera, 2015).

### Lesões Traumáticas

As úlceras traumáticas são uma das lesões mais comuns dos tecidos moles da cavidade oral. As lesões são consideradas traumáticas, uma vez que se originam devido

a uma irritação mecânica, térmica, elétrica ou química, existindo, portanto, uma relação causa-efeito.

O trauma provocado por um dente fraturado ou pelo trauma contínuo de uma prótese mal ajustada pode ser a origem deste tipo de traumatismo. As úlceras provocadas por próteses dentárias são caracterizadas por dor aguda de intensidade moderada e por uma área central branca ou amarelada com um halo eritematoso. O paciente pode também provocar úlceras traumáticas através da mordida da mucosa inadvertidamente ou devido a hábito inconsciente. Este tipo de lesão ocorre usualmente na mucosa jugal, lábio inferior ou língua (Paiva, 2010).

O seu diagnóstico adequado é importante para evitar não só recidivas de lesões e procedimentos cirúrgicos repetidos, mas também evolução e, mais raramente, eventual malignização da lesão. Os pacientes devem ser encaminhados para reabilitação oral (Próteses dentárias, tratamento dentário, correção de problemas de oclusão) e, se necessário, acompanhamento psicológico nos casos de mordidas contínuas (Souza, 2017).



**Figura 4-** Lesão ulcerada no 3º quadrante devido a prótese acrílica inferior mal adaptada (Adaptado de (Paiva, 2010)

### Lesões com potencial maligno

Quando um doente apresenta uma lesão potencialmente maligna, devemos ter em atenção que este tipo de lesões apresentam um aumento do risco de transformação maligna, e que muito provavelmente pode evoluir para o carcinoma espinocelular. As lesões potencialmente malignas mais frequentes são a leucoplasia e eritroplasia, por isso torna-se fundamental saber identificar os sinais e sintomas de forma a serem detetadas numa fase inicial para evitar a sua progressão (Farah et al., 2014).

**Leucoplasia** - Lesão branca persistente (placas brancas que não podem ser removidas por raspagem), na mucosa oral, podendo apresentar-se também com formas não-homogêneas. A prevalência de desenvolvimento maligno varia entre 3 e 30%, num período de 10 anos, embora algumas (cerca de 15%) regridam espontaneamente. Na ausência atual de dados mais precisos, considera-se que a presença de displasia epitelial grave na lesão aumenta o risco de evolução maligna. A etiologia é desconhecida (idiopática) e a biópsia indica o grau de displasia e exclui neoplasias que se podem apresentar como placas brancas irregulares.

As lesões displásticas devem ser excisadas (o laser pode ser útil em lesões extensas) e o doente seguido rigorosamente em intervalos de 3-6 meses, pelo risco de transformação maligna (AZUL & TRANCOSO, 2006)



**Figura 5-** Leucoplasia (adaptado de Torre et al., 2015)

**Eritroplasia** - O termo clínico eritroplasia, sugere uma placa vermelha, mas o que na verdade acontece, com frequência são lesões atróficas de cor vermelha associadas a lesões brancas, designada de eritroleucoplasia. Tal como as lesões de leucoplasia, estas também podem aparecer em qualquer localização anatômica na mucosa oral, sendo que esta distribui-se preferencialmente pelo assoalho da boca, palato mole e na zona ventral da língua (Santos & Teixeira, 2011).

O risco de transformação maligna da eritroplasia é ainda mais elevado do que da leucoplasia com índices mitóticos e apoptóticos igualmente superiores. Num período de 20 anos, o risco de desenvolver cancro oral é de 42,2% para a leucoplasia, e de 95,0% para a eritroplasia. De facto, está descrito que cerca de 85% a 90% dos carcinomas espinocelulares orais originaram-se de lesões de eritroplasia (Boy, 2012).



**Figura 6-** Eritroplasia (Adaptado de Boy, 2012)

**Líquen Plano** - É uma doença mucocutânea comum, de causa multifatorial e componente autoimune, que surge geralmente após os 40 anos, com preferência pelo sexo feminino (2:1). Apresenta-se tipicamente sob a forma de lesões bilaterais brancas (placas ou áreas reticulares), na mucosa da bochecha e na língua, podendo também afetar o rebordo alveolar, a gengiva e o palato. Estas lesões brancas são geralmente assintomáticas. Outras formas de líquen plano oral (LPO) são vermelhas e consistem em lesões erosivas ou ulcerativas que provocam dor e ardor de intensidade variável. Estas lesões vermelhas e sintomáticas do LPO localizam-se nos mesmos locais e podem acompanhar-se de lesões reticulares ou em placa (AZUL & TRANCOSO, 2006).

A transformação maligna do LPO tem sido essencialmente reportado em homens com lesões de líquen plano na forma erosiva (Usatine e Tinitigan, 2011).



**Figura 7-** Líquen plano oral (Adaptado de Ryan, Hegarty e Hodgson, 2014)

### **1.5- Sinais e sintomas**

Pacientes com doença em estágio inicial podem apresentar vagos sintomas e achados físicos mínimos, razão pela qual é necessário um alto índice de suspeita de

diagnóstico precoce, especialmente para pacientes fumadores. A maioria dos pacientes apresentará sinais e sintomas de doença localmente avançada, que variam de acordo com o local na cabeça e no pescoço (Kantarjian & Wolf, 2016).

A apresentação clínica de um paciente com este grupo específico de malignidades geralmente depende do local anatómico de origem do tumor. Normalmente, haverá envolvimento da inervação ou função sensorial local do trato aerodigestivo, que resulta em sintomas típicos (Hermans, 2008).

Os sintomas comuns do HNSCC podem ser bastante subtis. Obstrução mecânica e disfunção da massa tumoral podem produzir disfagia. Os cancros de cabeça e pescoço são frequentemente associados a dor significativa e a odinofagia é comum para os cancros da cavidade oral e orofaringe. A dor referida por metástases no pescoço pode resultar em otalgia, assim como os cancros que surgem na nasofaringe. Os cancros das cordas vocais verdadeiras muitas vezes produzem rouquidão significativa no início da progressão da doença. Outros sintomas podem incluir hemoptise, sensação de globus, trismos e perda de peso. Às vezes, o sintoma de apresentação é uma massa do pescoço que representa metástases nodais de uma fonte primária assintomática (Doherty, 2015).

Em suma, os sinais de HNSCC mais comuns são:

- Tumefação (“caroço”) no pescoço
- Alterações da voz (rouquidão)
- Dificuldade ou dor ao engolir persistente
- Aparecimento de sangue na saliva ou na boca
- Dor num ouvido persistente, sem doença no ouvido
- Alterações na pele da face ou do pescoço
- Outros sinais de alerta podem ser o aparecimento de manchas brancas ou vermelhas nas gengivas, palato, língua ou parede interna da cavidade oral, tumefação ou ferida do maxilar que cause má adaptação ou desconforto da prótese dentária, infeção crónica dos seios peri-nasais que não responde à antibioterapia, hemorragias nasais de repetição, obstrução nasal permanente de instalação recente, dores de cabeça persistentes, aumento de volume das glândulas salivares ou a paralisia de músculos da face (Regezi, Sciubba & Jordan, 2012).



**Figura 8-** Lesão eritroplásica com carcinoma na porção lateral da língua (Adaptado de Bagan, Sarrion & Jimenez, 2010)



**Figura 9-** Tumor da faringe no qual houve rouquidão progressiva de mais de 6 meses (<http://www.clinicacoser.com/veja-fotos-de/laringoscopia/#13>)



**Figura 10-** Forma precoce do CCO no pavimento da cavidade oral (Adaptado de Bagan, Sarrion & Jimenez em 2010)



**Figura 11-** Falha na colocação da prótese do maxilar superior pode ser o primeiro sintoma do cancro da cavidade oral e do seio maxilar (Adaptado de Hermans, 2008).

## **1.6- Diagnóstico**

Para o diagnóstico é importante obter informações de todas as partes da história clínica e exame físico. A duração dos sintomas pode revelar a cronicidade da doença. A história médica anterior pode alertar o médico sobre a presença de doenças subjacentes que podem afetar a escolha da terapia ou os efeitos colaterais do tratamento. A história social pode revelar a exposição ocupacional a carcinogénicos ou hábitos, como tabagismo ou consumo de álcool, que podem influenciar o curso da doença e o seu tratamento. A história familiar pode sugerir uma predisposição subjacente ao cancro familiar e apontar a necessidade de iniciar a vigilância ou outra terapia preventiva para os irmãos não afetados do paciente. A revisão de sistemas pode sugerir sintomas iniciais de doença metastática ou síndrome paraneoplásica (Kasper et al., 2015).

O exame físico deve incluir uma inspeção cuidadosa das superfícies da pele e da mucosa oral / orofaríngea, palpação da língua, pavimento da boca e orofaringe e palpação sistemática do pescoço. Um exame completo também requer um exame com espelho indireto da orofaringe, hipofaringe e laringe, complementada por endoscopia de fibra ótica. Leucoplasia (manchas mucosas brancas que não podem ser removidas por raspagem) e eritroplastia de alto risco (manchas vermelhas) são as lesões pré-malignas mais comuns na cabeça e no pescoço. Qualquer superfície suspeita na mucosa oral deve ser submetida a biópsia (Kantarjian & Wolf, 2016).

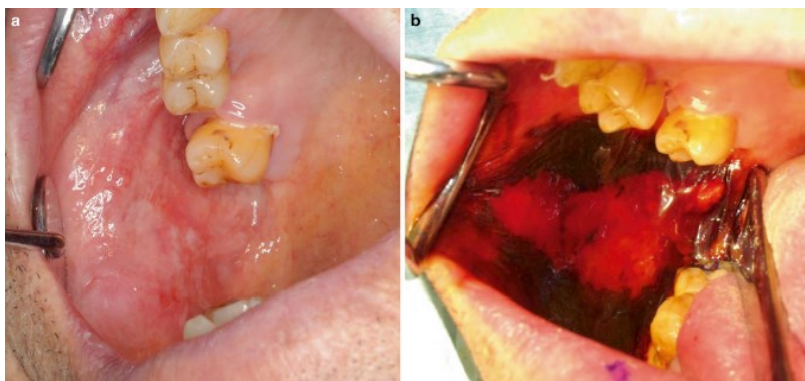
O diagnóstico de cancro depende na sua maioria da biópsia de tecido invasivo e nunca deve ser feito sem a obtenção desse tecido. Nenhum teste de diagnóstico não-invasivo é suficiente para definir um processo de doença como cancro. Embora em contextos clínicos raros (por exemplo, nódulos tireoidianos), a aspiração com agulha fina é um procedimento de diagnóstico aceitável, o diagnóstico geralmente depende da obtenção de tecido adequado para permitir uma avaliação cuidadosa da histologia do tumor, do grau e da invasividade (Kasper et al., 2015).

A imagem tridimensional com tomografia computadorizada (TC), ressonância magnética (MRI) e / ou ultra-sonografia também é necessária para avaliar a extensão da doença e completar o estadiamento. A imagem por ressonância magnética é a modalidade de imagem local preferida para o cancro nasofaríngeo. Como os pulmões são os locais mais comuns de metástases à distância, uma radiografia de tórax também deve ser realizada. A tomografia computadorizada do tórax deve ser realizada para pacientes

sintomáticos ou de alto risco. Isso inclui pacientes com cancro nasofaríngeo ou aqueles com tumores primários de outros locais com N2b ou maior doença nodal e metástases baixas do pescoço ou supraclaviculares. Os marcadores tumorais circulantes que seriam confiáveis na detecção precoce de HNSCC ainda não foram identificados (Kantarjian & Wolf, 2016).

A PET (do inglês Positron Emission Tomography) é uma técnica de diagnóstico por imagens do campo da medicina nuclear desenvolvida no início dos anos 70, logo após a tomografia computadorizada. Esta utiliza marcadores radioativos e o princípio da detecção coincidente para medir processos bioquímicos dentro dos tecidos. Diferentemente de outras tecnologias de imagem voltadas predominantemente para definições anatómicas de doença — como os raios-X, a tomografia computadorizada (TC) e a imagem por ressonância magnética (MRI) — a PET avalia a perfusão e a atividade metabólica tecidulares, podendo ser utilizada de forma complementar ou mesmo substituta a estas modalidades. Porque as mudanças na fisiologia tumoral precedem as alterações anatómicas e porque a PET fornece imagens da função e da bioquímica corporais, a tecnologia é capaz de demonstrar as alterações bioquímicas mesmo onde não existe (ainda) uma anormalidade estrutural evidente, permitindo o diagnóstico mais precoce (Saúde, 2009)

A coloração vital com soluto de lugol tornou-se um método de diagnóstico auxiliar indispensável para a detecção do cancro numa fase inicial e é amplamente utilizado na região gastrointestinal superior. Na cavidade oral, a coloração com iodeto permite a visualização da displasia epitelial e pode identificar lesões malignas e potencialmente malignas. Além disso, a precisão da coloração com lugol em comparação com o exame visual em discriminação entre mucosa oral displásica normal e epitelial foi comprovada (Kirita & Omura, 2003). Nesta técnica o lugol vai reagir com o glicogénio manchando reversivelmente as células da cavidade oral de castanho. Assim, zonas com pouco glicogénio não serão manchadas, isto inclui zonas de queratinização anormal, atrofia, displasia escamosa e carcinoma escamoso (Chaudhari, Hegde-Shetiya, Shirahatti & Agrawal, 2013).



**Figura 12** - Coloração vital com solução de iodo: (a) pré-coloração e (b) pós-coloração. A lesão displásica da mucosa oral não é manchada (Adaptado de Kirita & Omura, 2003)

### 1.7- Terapia Implementada

A terapia tradicional para o carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço depende do estágio do cancro e varia de acordo com a localização. De uma forma simplificada, os cancros em fase inicial geralmente são tratados com terapia de modalidade única, excisão ou radioterapia cirúrgica. Os cancros de estágio avançado (estágios III e IV) são melhor tratados por terapia de modalidade combinada, cirurgia e radioterapia pós-operatória, ou quimioterapia / radioterapia (Doherty, 2015).

Os tratamentos do cancro são divididos em dois tipos principais: local e sistémico. Os tratamentos locais incluem cirurgia, terapia de radiação (incluindo terapia fotodinâmica) e abordagens ablativas, incluindo abordagens de radiofrequência e criocirúrgicas. Os tratamentos sistémicos incluem quimioterapia (incluindo terapia hormonal e terapia direcionada molecularmente) e terapia biológica (incluindo imunoterapia). As modalidades são frequentemente usadas em combinação, e os agentes numa categoria podem atuar por vários mecanismos (Kasper et al., 2015).

#### Terapia cirúrgica

O objetivo da terapia cirúrgica para o cancro é conseguir a cura oncológica. Uma operação curativa pressupõe que o tumor esteja confinado ao órgão de origem ou ao órgão e à bacia do nódulo linfático regional. Os pacientes nos quais os tumores primários não são ressecáveis com margens cirúrgicas negativas são considerados como inoperáveis. A operabilidade dos tumores primários é melhor determinada antes da cirurgia com estudos

de imagem apropriados que podem definir a extensão da doença local-regional (Charles et al., 2015).

É considerada margem positiva na ressecção cirúrgica se existir histologicamente tumor ou se a margem for inferior a 1 mm. Margem exígua é considerada quando tem entre 1 e 5 mm.

São critérios de irressecabilidade cirúrgica, os seguintes:

- 1) Extensão do tumor à fossa infratemporal;
- 2) Extensão do tumor à base do crânio;
- 3) Extensão do tumor às partes moles cervicofaciais que impossibilitem a excisão adequada com margem;
- 4) Encarceramento pelo tumor da carótida interna ou da carótida primitiva, não ressecável;
- 5) Infiltração dos músculos pré-vertebrais pelo tumor;
- 6) Deformidade anatomofuncional resultante da cirurgia considerada inaceitável (Tobergte & Curtis, 2015).

Embora a obtenção de margens cirúrgicas negativas seja o principal objetivo da cirurgia de cabeça e pescoço, conseguir isso pode ser impossível em alguns casos devido à infiltração de estruturas vitais, como a artéria carótida ou a fâscia prevertebral. A presença de margens cirúrgicas positivas está associada a uma diminuição da sobrevivência, portanto, um paciente deve ser re-operado se o tumor não for completamente removido.

No entanto, alcançar margens negativas pode causar comprometimento em funções importantes, como mastigação, deglutição e fala, e afetar negativamente a qualidade de vida. Portanto, a radioquimioterapia primária é uma alternativa para pacientes com carcinomas avançados de cabeça e pescoço (Galbiatti et al., 2013).

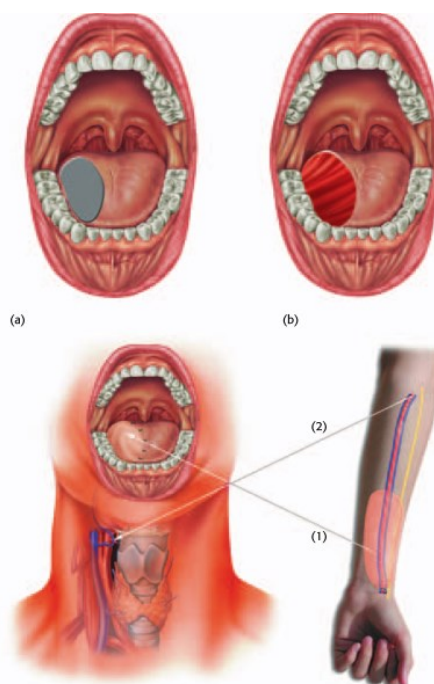
Os princípios da cirurgia da orofaringe são: a obtenção de margens tridimensionais livres de tumor, sempre superiores a 5mm e idealmente iguais ou superiores a 1 cm, ainda que tal implique a exérese de outras estruturas segundo o princípio da excisão do tumor em bloco, tratamento cirúrgico adequado das áreas

ganglionares cervicais, associando quando indicado esvaziamentos ganglionares cervicais, reconstrução no mesmo tempo operatório, quando as condições gerais do utente o permitam (Tobergte & Curtis, 2015).

Na cirurgia do HNSCC das cordas vocais, uma margem próxima pode ser considerada  $\leq 1$  mm, na laringe  $\leq 5$  mm, na cavidade oral  $\leq 4$  mm, e na orofaringe  $\leq 5$  mm. Em cada paciente, a escolha da extensão da margem próxima deve ser contra balanceada com as condições gerais, estágio tumoral e problemas funcionais para indicar a terapia adjuvante apropriada (Alicandri-Ciufelli et al., 2013).

No caso do cancro oral precoce o principal recurso do tratamento é a cirurgia. A terapia de radiação por si só pode ser efetiva para lesões superficiais precoces, mas os efeitos colaterais, como a xerostomia, bem como possíveis complicações ao nível da mandíbula, tornam a terapia de radiação uma escolha fraca. Geralmente, a ressecção cirúrgica do tumor primário é preferida, incluindo uma dissecação do pescoço para remover os gânglios do pescoço em risco.

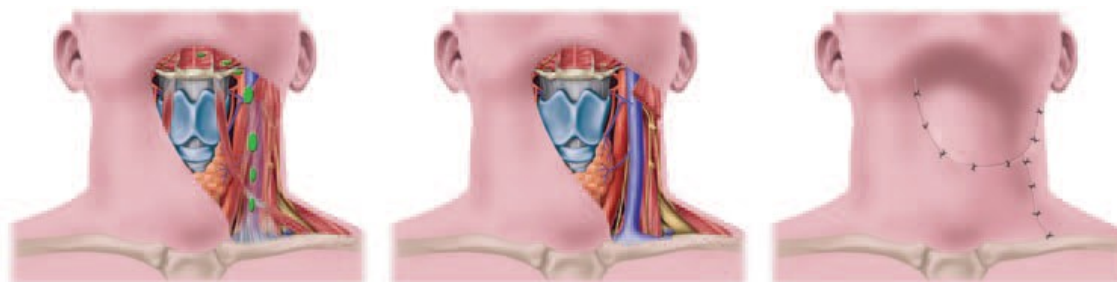
O defeito após a ressecção de pequenos tumores pode ser fechado por primeira intenção, por intenção secundária, ou um enxerto de pele pode ser aplicado sobre o defeito. Os defeitos maiores exigem uma reconstrução de retalho livre para separar a cavidade oral da dissecação do pescoço e para preservar uma quantidade máxima de função. O retalho livre do antebraço é um retalho livre fasciocutânea, sobre a artéria radial e a veia comitantes. Consiste numa pele fina e flexível e um pedículo muito longo com grande diâmetro. Essas características revelaram ser um retalho muito útil para defeitos intraorais e faríngeos (Hermans, 2008). As vantagens das transferências de tecido livre vascularizado em comparação com retalhos locais e regionais incluem: melhor função (por exemplo, mobilidade da língua, deglutição e fala), cosmética, reabilitação dentária e cicatrização de tecidos, especialmente na configuração de RT prévia ou planeada (Fribley, 2016).



**Figura 13-** Hemiglossectomia com reconstrução radial do retalho do antebraço. (A) O tumor da língua que requer tratamento cirúrgico. (B) A situação após hemiglossectomia. (C) A pele radial do antebraço (1) é usada para reconstruir o defeito da hemiglossectomia. Os vasos radiais do antebraço (2) são suturados nos vasos do pescoço para restabelecer o suprimento de sangue para o retalho (Adaptado de Hermans, 2008).

A cirurgia reconstrutiva tem como objetivos, para além da restauração anatomofuncional, a manutenção da competência funcional, a manutenção da deglutição e da fonação e a prevenção da aspiração. Para além dos recursos reconstrutivos com retalhos locais, regionais e à distância de tipo axial, pode também utilizar os retalhos livres incluindo os osteocutâneos (Tobergte & Curtis, 2015).

A dissecação radical do pescoço, que é definida como a remoção dos grupos nodais I a V com o músculo esternocleidomastoideo, veia jugular interna e nervo acessório espinal, é considerada a dissecação básica do pescoço. A dissecação radical do pescoço modificada consiste na preservação de uma ou mais das estruturas não linfáticas normalmente removidas no procedimento radical. A dissecação seletiva do pescoço consiste na remoção de um ou mais grupos linfonodais regionais com preservação do músculo esternocleidomastoideo, veia jugular interna e nervo acessório espinal músculo esternocleidomastoideo, veia jugular interna e nervo acessório espinal (Hermans, 2008).



**Figura 14-** Dissecção radical do pescoço modificada. O nervo acessório espinal é preservado. (Adaptado de Hermans, 2008)

### Radioterapia

A radioterapia (RT), bem como a cirurgia, é uma modalidade de tratamento local-regional. A RT sozinha pode ser usada no tratamento do cancro para preservar a função e estética e evitar a morbidade associada a uma operação. A RT pode ser combinada com a cirurgia (RT pós-operatória) para destruir o cancro residual conhecido ou suspeito. Também pode ser usada pré-operatoriamente para tornar um cancro avançado e irressecável, capaz de ser removido com cirurgia. Finalmente, um curso reduzido de RT pode ser usado para efeitos paliativos do paciente com cancro avançado no qual a possibilidade de cura é remota (Werning, 2007).

A radiação ionizante é energia forte o suficiente para remover um elétron orbital de um átomo. Essa radiação pode ser eletromagnética, como um fóton de alta energia ou partículas, como um elétron, próton, nêutrons ou partículas alfa. A radioterapia é administrada principalmente como fótons de alta energia (raios gama e raios-X) e partículas carregadas (elétrons). Os raios gama são fótons que são libertados do núcleo de um átomo radioativo. Os raios-X são fótons que são criados eletronicamente, como com um acelerador linear clínico. Os raios-X atravessam o tecido, depositando a dose máxima sob a superfície e, assim, poupar a pele. Os elétrons são usados para tratar lesões cutâneas superficiais, tumores superficiais ou leitos cirúrgicos até uma profundidade de 5 cm. Os raios gama geralmente são produzidos por fontes radioativas usadas na braquiterapia (Charles et al., 2015).

Os aceleradores lineares usam ondas eletromagnéticas de alta frequência para acelerar partículas carregadas – elétrons – com altas energias através de um tubo linear. Na extremidade desse tubo, os elétrons chocam com um alvo metálico de alto número atômico, com isto, há libertação de energia proporcional à perda de velocidade da

partícula. Aceleradores lineares geram fótons de energia muito maiores do que os de Cobalto-60. Fótons de alta energia libertam menos dose para a pele do paciente. Alguns equipamentos permitem que o alvo seja retirado da extremidade do tubo, fazendo com que os elétrons acelerados atinjam diretamente os pacientes, eles não penetram profundamente no tecido, libertando a dose a poucos centímetros da pele (INCA, 2008).

A braquiterapia é um tratamento de radioterapia no qual as fontes de radiação são colocadas dentro de reservatórios metálicos e aplicadas a poucos centímetros dos tumores (INCA, 2008). É uma modalidade de tratamento com radiações que consiste na colocação das radiações dentro (braquiterapia intersticial) ou próximo do tumor. Também chamada radioterapia interna, tem como vantagem principal o débito de doses elevadas ao tumor poupando os órgãos normais adjacentes, com consequente diminuição da morbidade, melhor controlo local e consequente aumento do ganho terapêutico. Simultaneamente, e por tratar-se de um procedimento minimamente invasivo, apresenta a característica de preservar órgãos e a sua função, proporcionando excelentes resultados estéticos. Consequentemente, minimiza as perturbações psico-sociais, sexuais e relativas à imagem corporal. Mais utilizado na ginecologia, no cancro da mama, próstata, esófago, pulmão, canal anal, pele e da cabeça e pescoço (IPO, 2017).

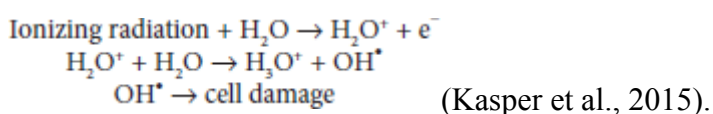


**Figura 15** - Acelerador linear (Adaptado de INCA, 2008)



**Figura 16**- Aparelho para braquiterapia (Adaptado de INCA, 2008)

A radiação terapêutica ionizante danifica qualquer tecido no seu caminho. A seletividade da radiação para causar morte celular do cancro pode ser devido a defeitos na capacidade de uma célula cancerosa reparar o DNA subletal e outros danos. A radiação ionizante causa quebras no DNA e gera radicais livres a partir da água celular que podem danificar membranas celulares, proteínas e organelos. O dano da radiação é aumentado pelo oxigénio, as células hipóxicas são mais resistentes. O aumento da presença de oxigénio é uma base para a sensibilização à radiação. Os compostos de sulfidrilato interferem na geração de radicais livres e podem atuar como protetores de radiação. A maior parte do dano celular induzido pela radiação é devido à formação de radicais hidroxílicos a partir da água dos tecidos:



O oxigénio é um agente modificador de dose. O sistema biológico é mais sensível quando irradiado em presença de oxigénio do que na sua ausência. Em alguns tumores, devido à sua rápida proliferação celular, algumas células ficam com a irrigação sanguínea prejudicada – umas em hipoxia e outras em anoxia, fazendo com que haja necrose do tecido sem irrigação. Em consequência da irradiação, a inativação celular dá-se nas células bem oxigenadas, com isso, aquelas em hipoxia aproximam-se mais dos capilares, passando a receber oxigénio, potencializando o efeito da radiação e assim sucessivamente. A ocorrência do efeito oxigénio é uma das principais justificações para o fracionamento de doses em radioterapia (INCA, 2008).

A dose de radiação absorvida correlaciona-se com a energia do feixe. A unidade básica é a quantidade de energia absorvida por unidade de massa (joules por quilograma) e é conhecida como gray (Gy) (Charles et al., 2015).

A relação complexa entre tumores e estruturas críticas, com formas côncavas e inter-relações muito próximas, limita a capacidade da radioterapia convencional para moldar as doses aos volumes alvo e para poupar os órgãos em risco. Na terapia de radiação de intensidade modelada (IMRT), a modulação da fluência do feixe permite a entrega de uma intensidade não uniforme ao alvo, aumentando a conformação da dose elevada para o tumor.

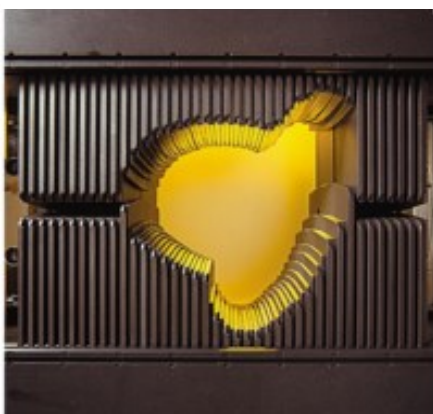
A transição do planeamento de tratamento 2D convencional para o tratamento 3D conformacional (3DCRT) foi um avanço importante na tecnologia de radiação. No

3DCRT, a simulação e o planeamento são realizados com base em imagens de tomografia computadorizada, obtendo uma definição de tumor precisa e um cálculo de dose mais preciso, considerando a anatomia axial e contornos de tecido complexo. Além disso, permite usar vários campos, incluindo oblíquos e não coplanares, que, juntamente com variantes de peso, cunhas e blocos de colimação ou colimadores de múltiplos planos (MLC), permitem alcançar uma cobertura tumoral adequada e poupar tecido normal (Gomez-Millan, Fernández, & Medina Carmona, 2013).

Se usado da forma mais simples, o colimador de múltiplos planos substituirá os blocos de colimação. O MLC tem vantagens importantes sobre os blocos de colimação porque podem ser movidos durante o tratamento. Nesse caso, teremos um tratamento com modulação da intensidade do feixe (IMRT).



**Figura 17-** Bandeja acrílica com bloco de colimação (Adaptado de H. L. Martins, 2014).



**Figura 18 -** Colimador de multiplanos (Adaptado de H. L. Martins, 2014).

Existe alto nível de evidência para recomendar o uso de Radioterapia com Modulação da Intensidade do Feixe (IMRT) no tratamento de cabeça e pescoço pela sua capacidade de reduzir a toxicidade dos tecidos saudáveis. Admite-se o uso de 3D

Conformacional em casos em que IMRT não esteja disponível ou nos utentes que não reúnam condições/indicações técnicas para realizar o planeamento com IMRT (Tobergte & Curtis, 2015).

Uma das principais diferenças entre IMRT e 3DCRT é a capacidade de conformar a distribuição da dose ao alvo. Na maioria das técnicas de aplicação do IMRT, o Multleaf Colimator (MLC) divide os campos do feixe em diferentes segmentos ou cria "segmentos" movendo-se pelo campo, obtendo uma fluência diferente em cada feixe. A modulação da fluência cria distribuições de intensidade espacial não uniformes (Gomez-Millan et al., 2013).

O tratamento deve ser realizado 1 vez por dia, 5-6 dias por semana, em 6-7 semanas. Todos os alvos são tratados simultaneamente conforme a prescrição médica.

Tratamentos com fracionamento alterado (hiperfracionamento ou tratamento acelerado) têm benefício nos tumores de cabeça e pescoço entretanto o seu uso deve ser adaptado no algoritmo de cada instituição de forma a melhor integrá-lo com as demais modalidades, nomeadamente, quimioterapia (Tobergte & Curtis, 2015).

### Quimioterapia

A quimioterapia consiste no emprego de substâncias químicas, isoladas ou em combinação, com o objetivo de tratar as neoplasias malignas. É o tratamento de escolha para doenças do sistema hematopoético e para os tumores sólidos, que apresentam ou não metástases regionais ou a distância (INCA, 2008).

Atualmente, há seis agentes aprovados pela FDA (Food and Drug Administration) para o tratamento do carcinoma espinocelular da cabeça e pescoço: a cisplatina, 5-fluorouracil (5-FU), docetaxel, metotrexato (MTX), bleomicina e o cetuximab. É amplamente aceite que a cisplatina, aprovada pela FDA para o tratamento do carcinoma espinocelular em 1978, serve como radiosensibilizador potente na melhoria dos efeitos da radioterapia. Hoje ainda, a cisplatina é o agente citotóxico mais comumente utilizado em combinação com a radioterapia (Hartmann & Grandis, 2016).

O 5-fluorouracil é normalmente usado em combinação com a carboplatina num ambiente sistémico com radioterapia concomitante. Nos carcinomas espinocelulares recorrentes/ metastáticos, o 5-Fluorouracil é utilizado como agente único ou em

combinação com a cisplatina e cetuximab (regime extremo) (Vermorken et al., 2008). O docetaxel é comumente utilizado em quimioterapia de indução, em combinação com a carboplatina ou em combinação com a cisplatina e cetuximab em doença recorrente/metastática. O metotrexato é maioritariamente empregue em doença recorrente/metastática como agente único (Machiels et al., 2015). A bleomicina é raramente administrada nos dias hoje em pacientes com carcinoma espinocelular da cabeça e pescoço. No entanto, alguns estudos estão a investigar o potencial da bleomicina no contexto de aplicada localmente em electroquimioterapia.

A função renal limitada é uma contra-indicação para o tratamento com a cisplatina. Assim, surgiram regimes baseados em cetuximab como uma alternativa à cisplatina. O cetuximab é um anticorpo monoclonal de segmentação do EGFR (anti-EGFR) que inibe sinais de crescimento tumoral. Este é aprovado em combinação com radiação em doença localmente avançada, em combinação com a quimioterapia à base de platina em doença recorrente/ metastática e utilizado como agente único em doença também recorrente/metastática (Hartmann e Grandis, 2016).

A escolha do(s) fármaco(s) a serem usados vai depender do estágio em que se encontra o tumor, o estado geral do paciente e das suas comorbilidades. Apesar de ser usada como terapêutica, a Qt pode ter efeitos tóxicos no organismo, desta forma, deve haver um controlo rigoroso destes pacientes de forma a se poder prestar auxílio atempado, evitando efeitos secundários muito debilitantes. Recorre-se a exames clínicos e laboratoriais antes de cada ciclo de tratamento ou quando necessário para se fazer um despiste das possíveis complicações que podem estar por se instalar (Protocolos do IPO, 2014).

A quimioterapia pode ser utilizada em combinação com a cirurgia e a radioterapia. De acordo com as suas finalidades, a quimioterapia é classificada em:

- Curativa - quando é usada com o objetivo de se conseguir o controlo completo do tumor, como nos casos de doença de Hodgkin, leucemias agudas, carcinomas de testículo, coriocarcinoma gestacional e outros tumores.
- Adjuvante - quando se segue à cirurgia curativa, tendo o objetivo de esterilizar células residuais locais ou circulantes, diminuindo a incidência de metástases à distância. Exemplo: quimioterapia adjuvante aplicada em caso de cancro de mama operado em estágio II.

- Neoadjuvante ou prévia - quando indicada para se obter a redução parcial do tumor, visando a permitir uma complementação terapêutica com a cirurgia e/ou radioterapia. Exemplo: quimioterapia pré-operatória aplicada em caso de sarcomas de partes moles e ósseos.
- Paliativa - não tem finalidade curativa. Usada com a finalidade de melhorar a qualidade da sobrevivência do paciente. É o caso da quimioterapia indicada para carcinoma indiferenciado de células pequenas do pulmão (INCA, 2008).

### Imunoterapia

Apesar da melhoria das estratégias de tratamento convencionais envolvendo a cirurgia, a radioterapia e/ou a quimioterapia, o prognóstico dos pacientes com carcinoma espinocelular da cabeça e pescoço em estádios avançados (III/IV) permanece em grande parte insatisfatório devido à recorrência loco-regional. Assim, surge a imunoterapia, uma terapia inovadora que pretende através de substâncias dirigidas, proporcionar ao paciente qualidade de vida e minimizar os efeitos adversos adquiridos pelas terapias convencionais (Matta e Ralhan, 2009).

Um grupo vasto de imunoterapias estão sob investigação para o tratamento de neoplasias da cabeça e pescoço estabelecidos. Dentro destas terapias incluem-se abordagens de vacinas, terapias de transferência de células T adotivas e a utilização de agentes específicos tais como inibidores de “checkpoints” (Schoenfeld, 2015). Por outro lado, existem também as terapias direcionadas, terapias alvo que dependem do conhecimento da biologia do tumor, que inibem a progressão do tumor (incluindo a proliferação e metástases) visando oncoproteínas específicas ou vias de transdução de sinal (Ishii, Tanaka, & Masuyama, 2015).

Muitos agentes direcionados estão sob investigação para o tratamento do carcinoma espinocelular da cabeça e pescoço, incluindo o anticorpo monoclonal do recetor do fator de crescimento epidérmico (EGFR), os inibidores do recetor do fator de crescimento endotelial vascular (VEGFR) e os inibidores da via de sinalização PI3K/Akt-mTOR. Estas terapias específicas, nomeadamente a utilização de anticorpos monoclonais, desencadeiam efeitos anti-tumorais em pacientes com carcinoma espinocelular da cabeça e pescoço que têm apenas uma única mutação genética ou via de sinalização que contribui para o crescimento do tumor e manutenção de fenótipos malignos (Ishii et al., 2015).

Têm sido aplicados um diverso grupo de anticorpos monoclonais como uma terapia para o cancro, o que representa um avanço significativo no tratamento da doença. Embora estes anticorpos inibam a função de muitas moléculas, muitos deles medeiam os seus efeitos anti-tumorais por meio de mecanismos semelhantes, incluindo o direcionamento de células tumorais para a citotoxicidade mediada por células dependente de anticorpos, a inibição direta de sinais de crescimento tumoral e inibindo as vias de sinalização envolvidas na manutenção da tolerância imunológica (Goyal, Bann, & Deschler, 2016).

A ativação da sinalização do recetor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) é um dos mecanismos de resistência à radioterapia e/ou quimioterapia no carcinoma espinocelular da cabeça e pescoço, tornando-se assim o alvo terapêutico mais plausível (Kim et al., 2008). Alguns dos anticorpos dirigidos contra o domínio extracelular do EGFR são: Cetuximab, Nimotuzumab, Imgatuzumab, Pertuzumab, Panitumumab e Trastuzumab, utilizados como inibidores (anti-EGFR) em imunoterapia (Goyal et al., 2016)

O aumento da expressão de VEGFR (Vascular endothelial growth factor receptor) e dos seus recetores no carcinoma espinocelular da cabeça e pescoço, sublinha a importância da via VEGFR na angiogénese e na sobrevivência de células tumorais sob condições hipóxicas. O bevacizumab e sunitinib são categorizados de inibidores do VEGFR (Ishii et al., 2015).

A ativação descontrolada da via de sinalização PI3K-Akt-mTOR contribui para o desenvolvimento e progressão do carcinoma espinocelular e é um importante alvo para neutralizar a resistência à radioterapia e/ou quimioterapia. A rapamicina, um inibidor de mTOR, é um imunossupressor eficaz (Bussink, Kogel Aj van der & Kaanders, 2008)

Atualmente, uma área promissora para a pesquisa do cancro são os inibidores de checkpoints (Hartmann e Grandis, 2016). O inibidor de checkpoint é administrado para aumentar a proliferação, a migração, a persistência e/ou a atividade citotóxica de células T e, em particular, células T infiltradas no tumor (Collin, 2016).

Os checkpoints imunes limitam a resposta inflamatória, reduzindo os danos para os tecidos normais e impedindo a auto-imunidade. As terapias que inibem ou desativam estes checkpoints podem, por conseguinte, quebrar a tolerância imunológica a antígenos associados ao tumor e induzir uma resposta imune anti-tumoral. Atualmente, cinco

inibidores de checkpoints estão comercialmente disponíveis ou encontram-se submetidos a ensaios clínicos (Pembrolizumab, Nivolumab, Avelumab, Ipilimumab, AMG 228) (Goyal et al., 2016).

Um potencial fator de aplicação de imunoterapia, particularmente com terapias de vacinas, seria a prevenção do cancro através de vacinação em pacientes de alto risco contra antigénios associados a tumores. No caso de cancro associado a HPV, vacinação contra estirpes de alto risco de HPV resulta numa clara redução de cancro do colo do útero, e com potencial para prevenir > 90% de cancros de cabeça e pescoço HPVpositivos (Goyal et al., 2016)

Investigações futuras procurarão estabelecer o benefício da imunoterapia na prevenção e tratamento de cancros da cabeça e pescoço e expandir as indicações para esta abordagem. Embora a imunoterapia seja aplicada em pacientes com carcinoma espinocelular da cabeça e pescoço metastático, esta poderia ser expandida para outras configurações e a diferentes gamas de cancros da cabeça e pescoço. Isto poderia permitir uma redução na utilização das terapias convencionais como a radioterapia e quimioterapia que estão associadas a efeitos colaterais a longo prazo que afetam adversamente a qualidade de vida (Schoenfeld, 2015)

### Terapia Fotodinâmica

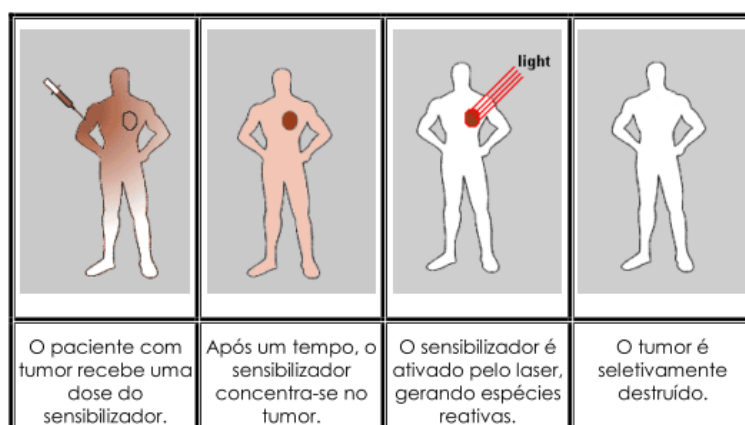
A terapia fotodinâmica (TFD) é reconhecida como uma intervenção minimamente invasiva útil no controlo das lesões pré-malignas e cancerígenas em estágio inicial, podendo ser utilizada repetidamente sem o risco de efeitos adversos cumulativos, e resulta numa formação mínima cicatricial ou sem cicatriz alguma. Fatores tais como metodologia fácil, ausência de toxicidade cumulativa e a sua superioridade de cura, aumentam o seu valor terapêutico.

Esta terapêutica permite uma ativação local provocada pela exposição de luz com comprimento de onda específico, de um fotossensibilizador (FS) administrado localmente ou sistémico, que é acumulado nas células tumorais (Swain, Kumar e Richa, 2012).

A ideia principal é encontrar um bom FS que mostre seletividade ao tecido tumoral, administrar este composto no paciente, esperar um determinado período de tempo (que depende do FS utilizado e do tipo de tumor) para a distribuição do FS no

organismo de maneira a obter a máxima diferenciação entre os tecidos normais e tumorais e, por fim, irradiar o tumor com luz visível (Pavani, 2009). Porfirinas, clorinas e bacterioclorinas estão entre os fotossensibilizadores mais estudados para uso em PDT. (Ribeiro, Flores, Mesquita, Nicola, & Nicola, 2005)

Esta interação produz espécies reativas de oxigênio que causa danos oxidativos conduzindo à necrose e apoptose das células tumorais. Pode ainda danificar indiretamente as células do tumor através do dano do endotélio vascular e por iniciar uma resposta imune contra o tumor remanescente (Swain, Kumar e Richa, 2012).



**Figura 19-** Esquema da aplicação na TFD (Adaptado de Pavani, 2009)

Quando os fotossensibilizadores têm baixa seletividade para as células tumorais é necessário ultrapassar este problema, para o que foram propostas várias soluções. Uma das soluções propostas é a imunocjugação, ou seja, combinar o fotossensibilizador com um anticorpo monoclonal específico para um alvo celular sobreexpresso no tecido. Alguns estudos *in vitro* já demonstraram a utilidade dos fotossensibilizadores imunocjugados para alvos específicos, cuja lista continua a expandir-se (Ribeiro et al., 2005).

A própria localização das lesões pode igualmente influenciar o grau de resposta. Por exemplo, regressão completa ou parcial foi observada em 79% dos casos quando a lesão se encontrava na bochecha ou lábios, comparativamente a 67% quando afetavam a língua ou gengiva. Vários estudos sugerem que a terapia fotodinâmica é mais eficaz quando realizada duas vezes por semana (Pietruska et al., 2014).

Relativamente às lesões pré-malignas displásicas, estas apresentam uma fina camada de queratina, aumento da permeabilidade e divisão celular epitelial acelerada,

características que facilitam a penetração e retenção do fotossensibilizador e consequente destruição celular pela terapia fotodinâmica (Vohra et al., 2014).

## **2- Conceito e princípio da Cancerização em campo**

Foi Slaughter et al. que em 1953 introduziu o conceito e definição de campo de cancerização, quando analisou os tecidos adjacentes ao carcinoma de células escamosas. Este conceito foi primeiro estudado no trato aerodigestivo, onde múltiplos tumores primários e recorrências locais foram observados, apoiando teorias de cancerização em campo baseadas na tendência anaplásica de múltiplas células (Mohan & Jagannathan, 2014).

A cancerização em campo foi primeiramente definida como "aumento do risco de desenvolvimento do cancro em todo o trato aerodigestivo superior devido a múltiplas anormalidades genéticas em toda a região após exposição prolongada a um agente carcinogéneo". Mais recentemente, Boudewijn et al. propuseram uma definição baseada em achados moleculares em que "cancerização em campo" significa a presença de uma ou mais áreas de células epiteliais com alterações genéticas. Este campo não apresenta as características principais do cancro, como crescimento invasivo e comportamento metastático. Apresenta-se como uma lesão pré- neoplásica e pode apresentar aberração histológica característica de displasia. Gabriel et al. usaram o termo "cancerização em campo" como "o processo pelo qual as células num determinado tecido / órgão são transformadas, formando células geneticamente alteradas mas histologicamente normais que aparecem antes do desenvolvimento de neoplasia ou coexistem com células malignas, independentemente da clonalidade"(Angadi et al., 2012).

A exposição a agentes cancerígenos produz um campo alterado no qual o epitélio tem múltiplos foci de tecido anormal que podem subsequentemente originar lesões pré-malignas e malignas (Angadi et al., 2012). O processo de carcinogénese inicia-se a partir de múltiplas alterações genéticas e epigenéticas na mucosa que podem levar à expansão clonal de células-mãe pré-malignas num determinado campo. As células estaminais geneticamente alteradas formam uma unidade clonal compreendendo células filhas, a partir da qual o campo se estende para áreas adjacentes. Isto desencadeia transformações celulares sequenciais que conduzem em última instância à substituição do epitélio normal por um campo proliferativo. No entanto, permanece uma população de células com

alterações genéticas precoces, que não demonstram alterações histológicas, explicando assim o princípio de cancerização em campo (Mohan & Jagannathan, 2014).

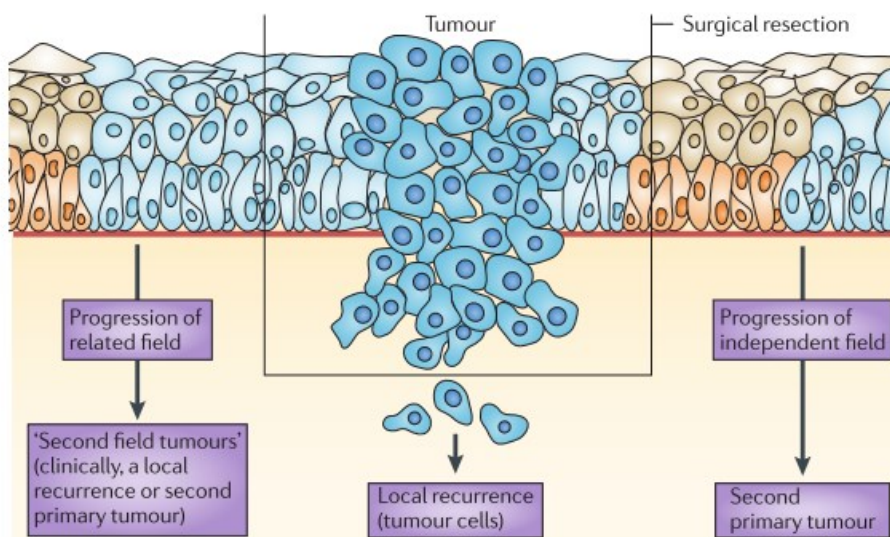


Figura 20- Cancerização em Campo e Recorrências Locais (Adaptado de Leemans et al., 2011)

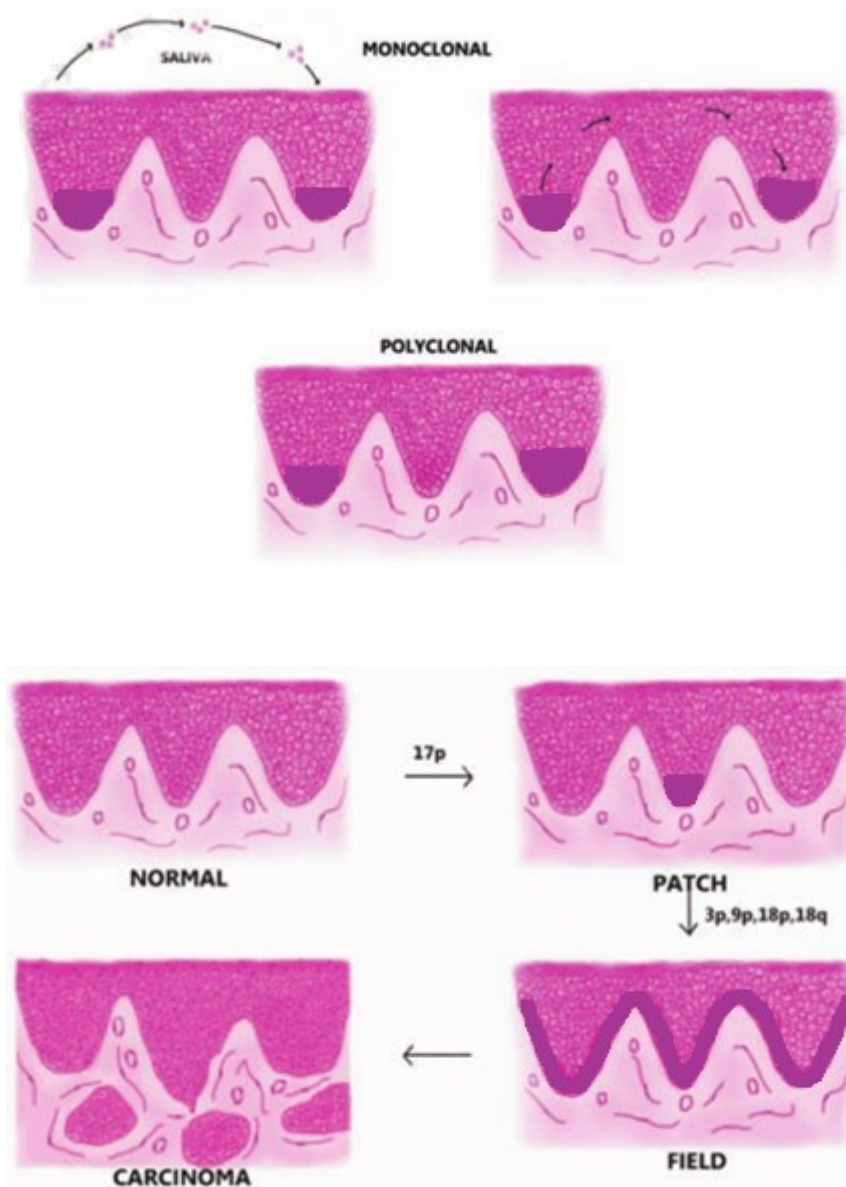
### 3- Origem do campo de cancerização

#### 3.1 Base celular (modelos monoclonal e policlonal)

As alterações da mucosa em todo o trato aerodigestivo superior foram consideradas como o resultado da exposição a carcinogêneos que causaram múltiplas anomalias genéticas em toda a região dos tecidos (Sabharwal, Mahendra, et al., 2014).

Duas teorias foram postuladas para explicar a ocorrência de carcinomas em locais específicos (Mohan & Jagannathan, 2014). A teoria da "origem policlonal" que propõe que as mutações ocorrem em múltiplos locais diferentes do epitélio devido à exposição contínua a carcinogênicos e, assim, levam a carcinomas multi-focais ou lesões de origem independente. Estes tumores que surgem em campos diferentes são também geneticamente diferentes (Simple et al., 2015). Nesta teoria as múltiplas lesões de células escamosas ocorrem, então independentemente umas das outras, isto deve-se à exposição da cavidade oral a vários carcinogêneos simultaneamente levando a múltiplas anomalias genéticas em toda a área (Mohan & Jagannathan, 2014). Uma teoria alternativa é a "origem monoclonal" em que as células mutantes da lesão inicial migram e desenvolvem

múltiplas lesões que partilham uma origem clonal comum (Simple et al., 2015). Dois tipos de migração podem estar envolvidos no conceito desta teoria: I) migração de células malignas através da saliva (micro metástase); II) migração intra-epitelial das células inicialmente transformadas (Mohan & Jagannathan, 2014). Vários estudos têm avaliado estas duas teorias para entender o que melhor explica o conceito de cancerização em campo (Angadi et al., 2012).



**Figura 21-** Teorias de cancerização em campo (Adaptado de Mohan & Jagannathan, 2014)

Diferentes marcadores clonais têm sido usados para explicar se a cancerização de campo oral é de origem mono ou policlonal. Se vários tumores primários surgem devido à migração de células malignas de uma fonte primária, então todos devem apresentar alterações genéticas idênticas, enquanto que no caso de origem independente, essas alterações serão diferentes. Para se qualificar como marcador clonal, tal alteração genética deve ocorrer no início do desenvolvimento da lesão primária, ser mantida durante a progressão da lesão, apresentar variabilidade suficiente, ser aplicável na maioria das lesões e não ocorrer por acaso, estando presente 100% do tempo.

O padrão de inativação do cromossoma X tem sido utilizado, mas este evento geralmente ocorre relativamente cedo, no desenvolvimento embriogénico resultando em grandes campos de células derivadas de células ancestrais comuns com a mesma inativação dos cromossomas X. É adequado apenas em mulheres, e uma vez que a maioria dos câncros orais ocorrem em homens, a sua aplicabilidade é limitada (Angadi et al., 2012).

A cariotipagem, por sua vez, envolve olhar de uma forma grosseira os cromossomas presos na metáfase entre duas lesões para comparar a sua aparência, busca de ploidia, ruturas e rearranjos cromossómicos. É um método de deteção pouco sensível e requer cultura de tecidos que por sua vez provoca alterações genéticas adicionais, o que pode não ser exato (Worsham et al., 1995).

A natureza policlonal dos tumores primários múltiplos (MPT) no carcinoma epidermoide da cabeça e pescoço foi demonstrada utilizando a perda de padrões de heterozigidade por Califano et al. e Vanoijen et al. sugerindo uma origem independente. Para identificar indivíduos de alto risco de desenvolvimento de carcinoma de células escamosas num campo de cancerização, foi feito um estudo de caso-controle usando marcadores como 3p, 8p, 9p, 13q e Rb em dois grupos de pacientes, um com displasia que posteriormente desenvolveu carcinoma no mesmo lado da boca e outro grupo com lesões semelhantes que não desenvolveram lesões num determinado tempo de seguimento. Os autores observaram que lesões displásicas com desequilíbrio alélico em loci mais polimórficos em regiões cromossômicas críticas desenvolveram tumor com mais frequência do que controles com desequilíbrio alélico em menos loci. Além disso, 14 tumores neste estudo foram desenvolvidos no mesmo local da lesão displásica e 19 em sítios contíguos, enquanto 6 foram desenvolvidos num local oral distante da biópsia

inicial, revelando que o processo de cancerização de campo é muito extenso e a excisão da lesão pode deixar para trás mucosa com aberrações que não conseguem ser vistas (Angadi et al., 2012).

Tabor et al. mediram quantitativamente a perda de heterozigosidade no HNSCC e descreveram que pelo menos 1/3 (10 em 28) dos pacientes apresentavam alterações genéticas associadas ao tumor numa biópsia retirada de uma mucosa macroscopicamente normal adjacente ao tumor (Angadi et al., 2012). Esta frequência é baseada na análise de quatro biópsias que foram retiradas de cada quadrante que envolve o tumor, usando 15 marcadores de microssatélites em 6 cromossomos diferentes. Na maioria (7 de 10) desses casos, as células geneticamente alteradas também poderiam ser encontradas nas margens de uma amostra que havia sido removida pelo cirurgião. Essas lesões eram > 4 mm de diâmetro e, como é inerente às determinações de LOH, continham > 50% de células aberrantes. A análise histopatológica não conseguiu detetar células tumorais nessas margens. Por isso, parece que em pelo menos um quarto de um grupo de pacientes (com HNSCC) não selecionado, células com alterações genéticas associadas ao tumor são deixadas para trás no paciente. A análise detalhada das alterações entre uma lesão mucosa e o tumor correspondente revelou uma relação genética para quase todos os casos (Jaiswal, Jaiswal, Kumar, & Sharma, 2013).

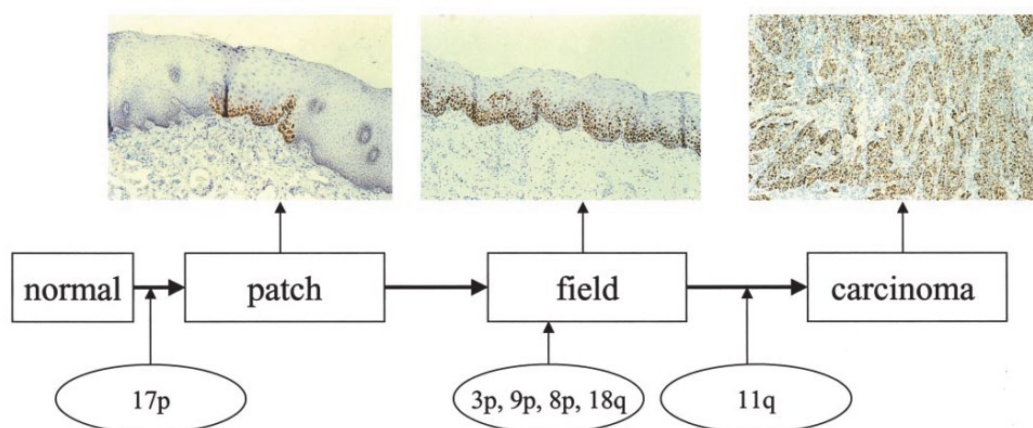
Ha et al. analisaram marcadores de DNA mitocondrial na mucosa normal adjacente a lesões displásicas e encontraram mutações idênticas do DNA mitocondrial em 37,5% das lesões, o que revela um origem monoclonal (Angadi et al., 2012).

Finalmente, as mutações no gene p53 têm sido usadas por muitos investigadores, este é o gene que sofre mais mutações em todos os tipos de cancro. No cancro da cabeça e do pescoço, verificou-se que aproximadamente metade dos tumores contém alguma forma de mutação do p53. As alterações neste gene são consideradas eventos relativamente precoces no HNSCC e têm sido amplamente utilizados como um método de determinar clonalidade (Fuller & Aldape, 1999). Têm sido utilizados como marcadores clonais para tumores primários múltiplos, já que a sua expressão foi observada em tecido normal distante de tumores, em tecido normal de fumantes saudáveis e em lesões pré-malignas. Estudos revelam que mutações no p53 são diversas nas margens histologicamente normais associadas ao HNSCC, mas estas mutações do p53 diferem de

um carcinoma para outro correspondente, o que corrobora a teoria da independência (Angadi et al., 2012).

### 3.2 Base genética

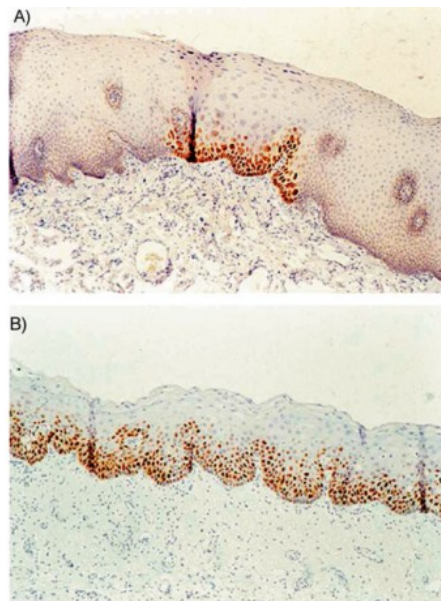
De acordo com o modelo de progressão genética existente da cancerização em campo, a transformação de um epitélio normal num cancerígeno é um processo passo a passo e gradual. Este modelo de carcinogénese baseia-se principalmente em evidências que correlacionam alterações genéticas com a progressão histológica do HNSCC. As mutações em TP53 (17p) numa única célula foram consideradas como o passo inicial que desencadeia o processo, a célula mutante então prolifera numa unidade clonal e depois num fragmento de células mutadas. Posteriormente, o fragmento transforma-se num campo caracterizado por outras alterações genéticas subseqüentes relacionadas ao cancro nas posições 3p, 9p, 8p e 18q do cromossoma. Este campo eventualmente substitui o tecido normal. As mutações subseqüentes em 11q13 são então sugeridas para transformar o campo num carcinoma in situ (CIS) (Simple et al., 2015).



**Figura 22-** Modelo proposto para a carcinogénese do HNSCC (Adaptado Sabharwal, Sepolia, et al., 2014).

Califano et al. também descreveram o modelo de progressão genética da cancerização em campo no carcinoma da cabeça e pescoço. De acordo com este modelo, a transformação da mucosa normal é iniciada por lesões na região 9p. A hiperplasia benigna que se desenvolve como consequência, transforma-se em displasia devido a mutações sucessivas nas regiões 3p e 17p. As modificações na região 17p vão impulsionar o desenvolvimento do primeiro campo de células neoplásicas mutadas que se expande e

posteriormente transforma-se em carcinoma com mutação em 11q, 13q e 14q cromossomas (Simple et al., 2015).



**Figura 23-** Progressão precoce na hiperplasia de cancerização em campo que leva ao carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço. A: fragmento de hiperplasia; B: campo da hiperplasia. (Adaptada de Rubin, 2011)

#### **4- Definição clínica de recorrência local, STP e SFT**

Em 1932, Warren e Gates realizaram uma extensa revisão da literatura e de resultados de autópsia e apresentaram diretrizes para distinguir entre tumores primários separados e metástases. Usando os postulados de Billroth como base, os autores relataram que cada tumor 1- deve ser maligno, 2- deve surgir em locais diferentes e 3- não deve ser uma metástase do outro tumor primário (Fuller & Aldape, 1999).

O exame histológico costuma identificar se o tumor é maligno, mas com este método, é difícil provar que as lesões são distintas. Para excluir a possibilidade de uma recorrência local, a maioria dos estudos usa uma distância de pelo menos 2 cm entre o primeiro tumor e o segundo tumor primário (SPT).

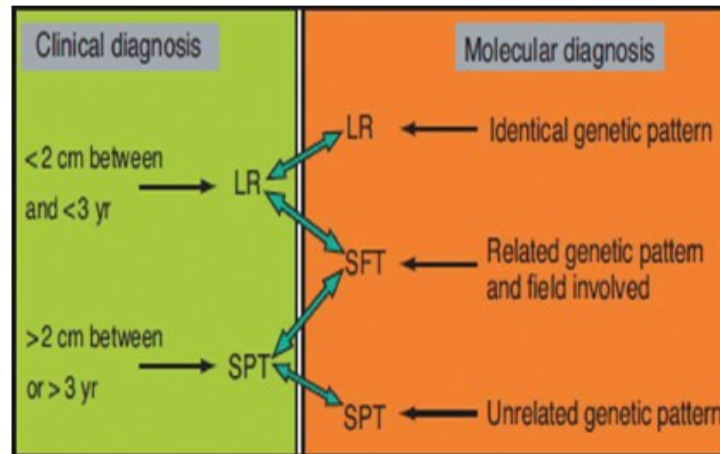
Um critério adicional de um SPT no mesmo ou num local anatómico adjacente é que este deve ocorrer pelo menos 3 anos após o diagnóstico do tumor primário. Os SPTs podem ser divididos em dois grupos: SPT síncronos, que se desenvolvem simultaneamente com ou dentro de 6 meses após o tumor inicial e SPTs metacrônicos,

que se desenvolvem > 6 meses após o tumor inicial. A maioria dos SPTs são metacrônicos e desenvolvem-se durante o seguimento dos pacientes com HNSCC após o tratamento curativo do primeiro tumor. O termo SPT sugere que esses tumores e os tumores iniciais desenvolveram-se de forma independente (Sabharwal, Mahendra, et al., 2014).

Um novo método de classificação dos segundos tumores primários foi recentemente proposto, para acrescentar informações às obtidas em estudos moleculares (Braakhuis et al., 2002). Antes, essas lesões eram então definidas como sendo distintas simplesmente por uma distância arbitrária, muitas vezes com 1,5 ou 2,0 cm de distância. Os tumores também eram classificados pelo tempo de recorrência: se um tumor reaparece no mesmo local anatômico, alguns pesquisadores acreditavam que, para ser considerado um segundo tumor primário, pelo menos três anos tinham que decorrer entre a detecção dos tumores. Essas distinções um tanto arbitrárias foram refinadas por técnicas moleculares que podem identificar qual a relação entre as lesões (Fuller & Aldape, 1999). Portanto, os autores sugeriram uma designação diferente - "segundo tumor de campo" (SFT) - para as lesões anatomicamente distintas, mas que demonstram semelhanças genéticas.

Para aqueles tumores que surgem na mesma localização anatômica pós-ressecção, os SFT também podem ser identificados. Assim, os SPT verdadeiros seriam aquelas lesões que não compartilhavam nenhuma similaridade genética e, portanto, provavelmente surgiram como resultado de eventos independentes (Sabharwal, Mahendra, et al., 2014).

Pode-se dizer então que existem dois tipos de recorrências tumorais locais: aquelas que ocorrem no local primário da recorrência cirúrgica (recidiva local ou cicatricial) e aquelas que ocorrem a uma certa distância da cicatriz cirúrgica, no órgão residual deixado após a ressecção do tumor primário (recorrência in situ, segundo tumor primário (SPT) ou segundos tumores de campo (SFT)). As recorrências in situ que são geneticamente similares ao tumor primário são referidas como SFT, e as que são geneticamente diferentes do primário são identificadas como SPT verdadeiro (Dakubo et al., 2007)



**Figura 24-** Proposta para uma nova classificação de cancro secundário após a remoção de um carcinoma primário de células escamosas de cabeça e pescoço. A nova classificação (à direita) baseia-se na informação molecular sobre a relação entre o primeiro tumor e os secundários (Adaptada de Sabharwal, Sepolia, et al., 2014)

## 5- Implicações clínicas do campo de cancerização

### 5.1- Implicações no diagnóstico precoce, avaliação de risco, monitoramento da progressão tumoral e na definição de margens tumorais

A teoria da cancerização em campo sugere que há uma maior probabilidade de doença concomitante ou futura em pacientes com lesões de cabeça e pescoço. Por conseguinte, compete aos prestadores de cuidados de saúde serem mais diligentes quanto ao rastreio e biópsias diretas nestes doentes. Os pacientes de alto risco (aqueles que fumam e bebem álcool) devem visitar os seus dentistas e médicos assistentes frequentemente para exames de rotina. No entanto, a deteção precoce de doenças pré-malignas e malignas continua clinicamente difícil, uma vez que muitos HNSCC permanecem assintomáticos ou clinicamente não detetáveis até estádios avançados, mesmo com cuidados de rotina adequados (Fuller & Aldape, 1999).

Uma melhor compreensão da carcinogénese permitiu que a prevenção do cancro e a deteção precoce se expandissem para além da identificação e prevenção de carcinogénese. Intervenções específicas para prevenir aqueles em risco de desenvolver cancro e triagem eficaz para deteção precoce do cancro são os objetivos.

A carcinogénese não é um evento, mas um processo, um contínuo de alterações celulares e tecidulares ao longo do tempo, resultando em processos fisiológicos aberrantes. A prevenção diz respeito à identificação e manipulação dos fatores biológicos, ambientais, sociais e genéticos na via causal do cancro (Kasper et al., 2015).

O conceito do campo em expansão na carcinogénese tem consequências clínicas importantes. É uma experiência clínica bem conhecida que depois da remoção cirúrgica do tumor, continua a existir um alto risco de ocorrência de outro tumor na mesma área anatómica. Em alguns casos o aparecimento de um novo tumor é explicado pelo crescimento do carcinoma no qual a ressecção foi incompleta. No entanto, para os casos em que o tumor tinha sido radicalmente removido, parece lógico assumir que um campo geneticamente alterado é a causa de um novo cancro. A presença de um campo com células geneticamente alteradas parece ser um fator de risco contínuo para o aparecimento do cancro. Existem dados disponíveis que comprovam que o carcinoma pode se desenvolver a partir de células geneticamente alteradas num campo que foi deixado para trás no paciente após a cirurgia do carcinoma inicial (Jaiswal et al., 2013).

O conceito de cancerização em campo pode ter utilidade em quatro áreas de oncologia: avaliação de risco, deteção precoce de cancro, monitoramento da progressão tumoral e definição de margens tumorais.

A controvérsia entre a propagação lateral de clones versus múltiplos focos de alterações independentes não afeta atualmente o manejo médico e cirúrgico dessas lesões pré-malignas e malignas. No entanto, a deteção e a terapia com base em técnicas moleculares dependem de uma resposta a esta questão. Por exemplo, se uma terapia molecular incidir na presença de uma alteração específica do gene, isso seria suficiente para curar um paciente ou haveria outras mutações presentes num campo adjacente que não seriam afetadas por um tratamento tão específico? (Fuller & Aldape, 1999).

As investigações clínicas são prejudicadas pelo fato do campo precisar de ser detetado com técnicas de biologia molecular ou técnicas de visualização não-rotineira, como hibridação fluorescente *in situ*. Como apenas uma parte dos campos é clinicamente reconhecível, há uma necessidade urgente de melhorar a deteção clínica do campo. Os procedimentos de diagnóstico, como a coloração com azul de toluidina e imagens de fluorescência, podem fornecer melhores possibilidades de deteção (Jaiswal et al., 2013).

Para a detecção precoce de um cancro, pode-se confiar em marcadores tumorais, mas o que é importante, no contexto da cancerização em campo, é a identificação de características moleculares nas células geneticamente transformadas, mas histologicamente normais (campo peri-tumoral). A identificação de tais biomarcadores específicos desse campo de células terá excelente utilidade para monitorar a progressão do tumor e, se possível, na prevenção da transformação de lesões pré-malignas em cancro invasivo (Chatra et al., 2013).

Os biomarcadores presentes em tumores e não nas células aparentemente normais perto de um tumor, pensavam-se ser úteis para a detecção precoce de cancro. Normalmente, esses biomarcadores específicos de tumor são válidos e utilizados para rastreio para diagnosticar tumores confinados em órgãos que apresentam melhores perspectivas de tratamento. Nalguns casos, estratégias de detecção precoce, como a análise do perfil molecular de células tumorais circulantes conseguem indicar a presença de metástases (Dakubo et al., 2007).

Os futuros biomarcadores devem-se concentrar na identificação de biossensores que sinalizam a génese da doença, em vez de biomarcadores da doença. Esses biossensores serão úteis na avaliação de risco, detecção precoce, monitoramento de doenças e quimioprevenção. Por exemplo, a LOH em células epiteliais normais da mama obtidas por biópsia aleatória de mulheres com risco conhecido de cancro de mama foi usada para prever o risco da ocorrência do cancro de mama. Neste estudo, o modelo de risco de Gail previu um risco médio de cancro de mama ao longo da vida de 16,7% para mulheres sem LOH em comparação com 22,9% para mulheres com LOH. Esses marcadores correlacionam-se assim com o risco individual de desenvolver cancro de mama e, portanto, parecem úteis para a detecção precoce e avaliação do risco deste tipo de cancro. As alterações genéticas presentes nas células aparentemente normais podem ser usadas para identificação de indivíduos em risco de desenvolver cancro e para o recrutamento destes para fazerem quimioprevenção primária (ou seja, para evitar o desenvolvimento de novos cancros) (Dakubo et al., 2007).

É um fato, que o silenciamento de genes epigenéticos através da hipermetilação do promotor e a repressão transcripcional de vários genes associados a tumores é um evento inicial em vários tipos de cancro, incluindo cancro de mama, próstata, colorretal, gástrica e dos ovários. É possível a reversão de eventos epigenéticos com agentes como

hidralazina, 5-Aza-2'-desoxicitidina, zebularina e valporado de magnésio. O conhecimento dos padrões de metilação e seu papel na transformação maligna permitirão o uso controlado de agentes reversíveis de metilação na quimioprevenção (Jaiswal et al., 2013).

Os biomarcadores ajudam na avaliação das medidas preventivas ou terapias e na detecção dos primeiros estágios da transformação maligna da mucosa. Os biomarcadores revelam as mudanças genéticas e moleculares relacionadas às fases precoces, intermédias e tardias no processo de carcinogênese. Esses biomarcadores irão refinar a capacidade de melhorar o prognóstico, diagnóstico e tratamento de carcinomas. Os biomarcadores genéticos e moleculares também determinarão a eficácia e a segurança dos agentes quimiopreventivos. Ao contrário de outras drogas, que não previnem doenças, os agentes quimiopreventivos reduzem a incidência de doenças como o cancro antes de ocorrerem sintomas clínicos. Este desenvolvimento é fundamental para a compreensão da transformação precoce da mucosa. Os biomarcadores também reduzirão o número de pacientes e o tempo para o acompanhamento a longo prazo necessário para definir uma resposta clínica significativa a um agente quimiopreventivo (Tanaka, Tanaka, & Tanaka, 2011).

Estudos realizados demonstraram que as mutações em p53 observadas em margens histologicamente normais podem ser detetadas e, de fato, houve uma maior incidência de recorrência local nos pacientes com mutações conhecidas nas margens alteradas. A alteração dos microssatélites mostrou-se ser preditiva da progressão maligna. Estudos maiores estão atualmente em andamento para examinar mais definitivamente esta questão de análise das margens e mutações p53. As técnicas moleculares podem auxiliar na análise de margens cirúrgicas. No futuro, a presença de clones alterados nas margens da mucosa pode ser uma indicação para uma terapia mais agressiva, incluindo quimioprevenção ou radioterapia, para tratar fragmentos clonais alteradas que não podem ser detetados grosseiramente e estão além do campo inicial da excisão cirúrgica.

A questão de saber se aqueles com uma lesão mucosa extensa e visível são mais propensos a beneficiar de quimioterapia, radioterapia ou quimioprevenção é uma questão complexa. A gestão atual destas terapias é frequentemente específica do local: a doença pré-maligna oral recorrente é frequentemente tratada por excisão cirúrgica, enquanto as alterações pré-malignas difusas de alto grau na mucosa laríngea são frequentemente

tratadas com radioterapia. A determinação do papel para estas e outras modalidades de tratamento para campos não visíveis e alterados clonalmente do epitélio provavelmente será uma questão difícil, já que o tratamento da mucosa com alterações visíveis generalizadas já é um desafio. Por um lado, esse tratamento agressivo ofereceria o tratamento a um maior campo que o único local primário da doença. Por outro lado, muitos pacientes podem desnecessariamente receber terapia, e as futuras modalidades de tratamento para a recorrência da doença seriam limitadas (Fuller & Aldape, 1999).

Os pacientes que foram tratados cirurgicamente ao HNSCC e estão em risco de SFT podem ser inscritos para estudar o perfil de risco de um campo geneticamente alterado. Um ensaio clínico deste tipo tem uma vantagem óbvia: é conhecido aproximadamente onde a lesão se desenvolverá (onde o tumor ocorreu), e é possível monitorar o processo da doença (por exemplo, raspagem das células). Além disso, o conhecimento das alterações genéticas que precedem o desenvolvimento do cancro proporcionará uma base para uma terapia racional (por exemplo, uma abordagem baseada em terapia genética) dessas lesões preneoplásicas (Braakhuis et al., 2003).

Uma importante utilidade clínica da cancerização em campo é a avaliação complementar da amostra de biópsia patológica. Atualmente, as biópsias para diagnóstico do cancro são feitas pela histologia (gold standard) e a ausência de células anormais geralmente impede o diagnóstico de cancro. No entanto, amostras de biópsia histologicamente normais que possuem características moleculares de campos cancerosos sugerem que o tumor foi faltado pelo procedimento de biópsia, ou que algumas células do tecido estão a progredir em direção a malignidade. Tais pacientes de alto risco precisarão de vigilância estreita para a detecção precoce da doença (Jaiswal et al., 2013).

### **5.1.1 Técnicas Auxiliares de Diagnóstico**

A melhor técnica de diagnóstico é aquela em que temos a experiência e formação suficiente para a executar. Definitivamente, a biópsia de tecido e o exame histopatológico devem permanecer como o gold standart para o diagnóstico de cancro oral. Com a citologia pode-se obter células individuais, que podem ser analisadas utilizando técnicas sofisticadas como citomorfometria e a análise molecular, ou podem ser utilizadas técnicas mais simples, tais como o azul de toluidina. Em todas estas técnicas foram alcançados bons resultados (Carreras-Torras e Gay-Escoda, 2015).

As variadíssimas técnicas moleculares são suscetíveis de obter a diferenciação de alterações benignas e displásicas ou alterações malignas, bem como a identificação de áreas de displasia ou fases iniciais de carcinoma espinocelular que não são passíveis de observar a olho nu (Fedele, 2009).

### Azul de toluidina

O azul de toluidina é o corante mais utilizado para deteção de lesões orais pré-malignas e carcinoma espinocelular oral (Carreras-Torras e Gay- Escoda, 2015).

Este corante vital é utilizado para corar ácidos nucleicos (ADN e RNA), sendo usado desde à muitos anos, como um corante auxiliar na identificação de alterações da mucosa, como também na demarcação da extensão de lesões potencialmente malignas, antes da sua excisão (Fedele, 2009).

Este teste baseia-se no facto de que as células displásicas e anaplásicas podem conter quantitativamente mais ácidos nucleicos e que um epitélio displásico perde alguma coesão, facilitando a penetração do corante e a sua retenção nas células neoplásicas, enquanto as células da mucosa normais não permitem a retenção do corante. O azul de toluidina cora preferencialmente as células que se encontram em divisão celular, como acontece na inflamação, nas lesões displásicas e no carcinoma invasivo (Awan et al., 2012).

Por outro lado, existe uma grande percentagem de falsos positivos, o que prejudica a sua utilização como meio de rastreio. Além disso, existem controvérsias relativamente à interpretação da coloração visualizada (entre o azul escuro e o azul claro). Desta forma, não deve ser vista como uma substituta de biopsia, uma vez que um teste negativo pode não excluir a presença de displasia ou até mesmo cancro oral (Fedele, 2009).

Os valores de sensibilidade e especificidade variam grandemente de estudo para estudo. A sensibilidade está descrita como variando entre 93,5% e 97,8%, e a especificidade varia entre 73,3% e 92,9%, valores obtidos em meta-análises recentes (Carreras-Torras e Gay-Escoda, 2015).

### Autofluorescência tecidual

A autofluorescência é uma técnica que pode ser utilizada para facilitar a visualização e seguimento do cancro oral e das lesões pré-malignas orais.

A técnica consiste na iluminação das lesões suspeitas com luz monocromática, e o processo de excitação dos fluoróforos endógenos torna o tecido fluorescente. As modificações celulares resultam na alteração da concentração de fluoróforos e como tal, perda de fluorescência, desde modo, foram evidenciadas diferenças marcadas no espectro de autofluorescência de tecidos saudáveis (500nm) comparativamente a lesões malignas (635-705nm) (Awan, Morgan & Warnakulasuriya, 2011).

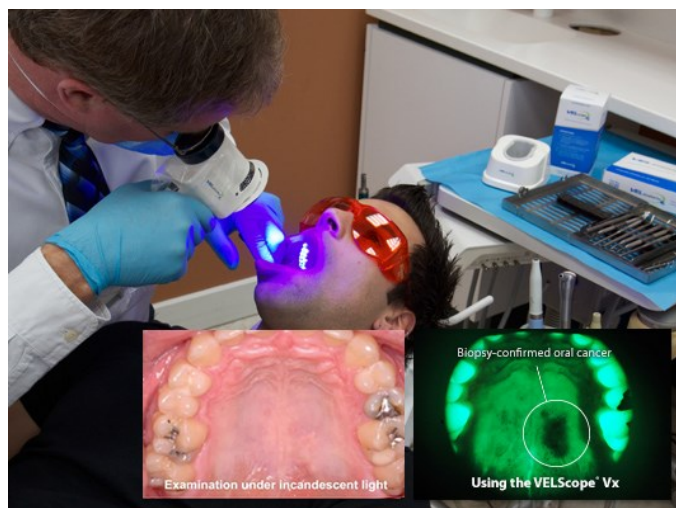
Um dos dispositivos aprovados pela FDA foi o VELscope que, tem como objetivo a visualização direta da autofluorescência na cavidade oral e, recentemente, foi introduzido como meio auxiliar de diagnóstico para a deteção de cancro oral (Cheng, Yi-Shing & Wright, 2011).

O VELscope é um teste simples, não invasivo que permite a visualização de alterações precoces na mucosa, de lesões pré-malignas e malignas não visíveis a olho nu, utilizando os princípios da autofluorescência dos tecidos, através de uma emissão de luz com comprimento de onda de 400-460nm, excitando os fluoróforos intrínsecos produzindo autofluorescência cor verde pálida. O tecido anormal, devido à perda dos fluoróforos, aparece como escuro contrastando com o tecido envolvente (Bhatia, Matias e Farah, 2014).

Esta técnica tem vindo a ser eficaz na visualização de alterações das mucosas orais, que tanto podem ser visíveis a olho nu ou não, como lesões malignas ou lesões pré-malignas. Ainda assim, o VELscope permite ao oncologista identificar as margens apropriadas para a excisão cirúrgica, uma vez que a maioria das vezes se estende para além das margens que são visíveis clinicamente (Reddy, Rão & Kumar, 2014).

Para além disso, é eficaz na deteção de displasia em pacientes que apresentem história de CEC. Todavia, tem sido alvo de dúvida a sua capacidade de detetar displasia numa fase inicial, devido à existência de falsos positivos (Bhatia, et al., 2014).

O processamento de imagem digital pode ser utilizado para delinear as lesões suspeitas em tempo real. Contudo não distingue de forma fiável as lesões benignas, das com displasia ou de carcinoma espinocelular oral, sobrevalorizando as anormalidades visíveis (Carreras-Torras e Gay-Escoda, 2015).



**Figura 25** – VELscope (Adaptado de Shin, Vigneswaran, Gillenwater e Richards-Kortum, 2010)

Mais recentemente, o aparelho Identafi 3000 foi desenvolvido e colocado à venda em 2009 e veio permitir que profissionais pudessem realizar o exame intraoral com três luzes distintas, de forma sequencial, com o objetivo de facilitar o exame convencional. Este dispositivo assemelha-se a um espelho intra-oral, pelo que pode ser inserido com grande facilidade no interior da cavidade oral (Cheng, et al., 2011).

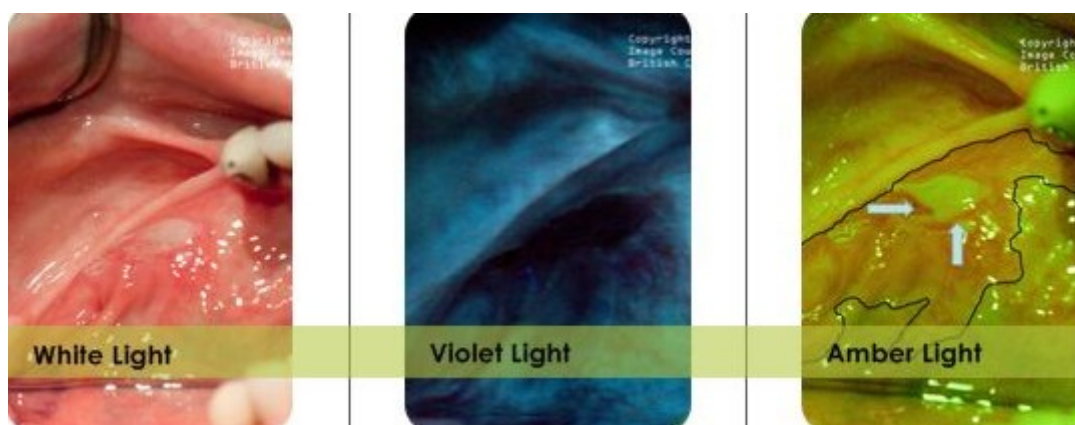
Comparativamente ao VELscope, é mais pequeno e como tal com acesso mais fácil a todos os tecidos na cavidade oral que combina imagem anatómica com fluorescência, fibra ótica e microscopia confocal, para delinear precisamente a área de lesão (Carreras-Torras e Gay-Escoda, 2015).

Este dispositivo além de apresentar uma luz branca LED, inclui ainda luz violeta e verde-âmbar para induzir fluorescência tecidual diretamente, bem como a capacidade refratária do mesmo. Na verdade, além da capacidade de detetar a autofluorescência, tal como o sistema VELscope, este permite ainda examinar a capacidade refratária dos tecidos, através de alterações na angiogénese, com a luz verde-âmbar.

A luz violeta é utilizada para avaliar as propriedades de autofluorescência do tecido a examinar. De facto, tal como acontece com o VELscope, a mucosa normal irá

exibir uma fluorescência natural, ao contrário dos tecidos alterados que vão aparecer escuros devido à autofluorescência diminuída (Bhatia, et al., 2013).

Um estudo demonstrou uma sensibilidade de 82% e uma especificidade de 87% em diferenciar entre as lesões orais neoplásicas e não neoplásicas mas são necessárias mais investigações para delinear a utilidade clínica deste aparelho (Carreras-Torras e Gay-Escoda, 2015). Apesar de tudo, parece ser uma técnica muito promissora, uma vez que apresenta capacidade e eficácia na identificação de lesões e suas margens, que são ocultadas durante o exame visual sob ação de luz branca (Fedele, 2009).



**Figura 26-** Identafi 3000 com as 3 luzes distintas (Adaptado de Messadi, Younai., Liu, Guo e Wang, 2014)

### Citologia exfoliativa

A citologia exfoliativa permite uma avaliação microscópica de células epiteliais, a partir de um procedimento de fixação e coloração. É uma forma útil de diagnóstico, apresentando-se como um método simples, não invasivo, indolor e de razoável satisfação por parte dos pacientes (Kazanowska, Hałoń & Radwan-Oczko, 2014)

A citologia exfoliativa é baseada na fisiologia do epitélio. Um epitélio normal é exposto a exfoliação regular, mas a presença de uma doença benigna ou a ocorrência de transformação epitelial maligna, causa a perda de adesão celular e permite a coleção de células para análise microscópica. Nesta análise, são evidenciadas alterações morfológicas das células, resultantes de anomalias moleculares (Verma et al., 2015).

A citologia de escova “Brush Citylogy” (OralCDx), é uma técnica que permite recolher as células epiteliais por rotação da escova contra a lesão suspeita. Este

procedimento é realizado até um eventual sangramento, o que indica a penetração na membrana basal, obtendo um conjunto de células a partir, de todas as camadas do epitélio oral. Seguidamente, estas são fixadas e enviadas para análise, assistida por computador. Ainda assim, é recomendado, como acompanhamento, executar uma biópsia por bisturi, quando o resultado é atípico ou positivo (Cheng, et al., 2011).

Consoante a técnica utilizada de citologia, obtém-se valores de sensibilidade e especificidade diferentes. Na técnica OralCDx® em que é utilizada uma escova especializada, a sensibilidade e especificidade são respetivamente de 83,1% e 100% (Carreras- Torras e Gay-Escoda, 2015).

É importante salientar que a citologia não substitui a necessidade de biópsia, e que resultados negativos, não excluem a existência de displasia do epitélio ou carcinoma espinocelular oral. É considerada um suplemento à biópsia, estando indicada na deteção e seguimento, de lesões orais pré-malignas ou malignas (Verma et al., 2015).



**Figura 27-** Aplicação do OralCDx na língua (Mehrotra et al., 2008)

### Análise Molecular

A classificação das lesões orais potencialmente malignas por métodos moleculares parece ser promissor, porque permite reduzir a variabilidade intra e inter-observador na análise histológica. O cancro oral surge como resultado da acumulação de alterações genéticas em oncogenes e genes supressores tumorais. Essas alterações genéticas são importantes para predizer o risco de transformação maligna. Por outro lado, numerosas regiões cromossómicas têm sido associadas com a carcinogénese precoce do carcinoma espinocelular, e deve portanto, ser analisados em paralelo. O desenvolvimento de abordagens moleculares para identificar biomarcadores preditivos, poderia ser utilizada para a deteção precoce, prognóstico e intervenção do cancro (Carreras-Torras e Gay-Escoda, 2015).

De acordo com National Institute of Health (NIH), um biomarcador é uma característica que é medida e avaliada objetivamente como um indicador de um processo biológico normal, um processo patogénico ou uma resposta farmacêutica para uma intervenção terapêutica. Este deve ser verificado antes de se poder utilizar num ensaio clínico e permite avaliar um determinado risco na saúde (Yakob, et al., 2014).

Efetivamente, as ferramentas de deteção molecular podem ser baseadas em proteínas ou em ácidos nucleicos. Consideram-se marcadores moleculares baseados em ácidos nucleicos as mutações no gene p53, hipermetilação anormal de promotores, mutações no ADN mitocondrial, actividade da telomerase, entre outros. Os marcadores moleculares proteicos referem-se a alterações pós-transcrição que podem ser causadas por processos de carcinogénese, nomeadamente processos de hipermetilação (Hu, Sidransky, & Ahrendt, 2002).

Os biomarcadores podem ser classificados em biomarcadores de diagnóstico, biomarcadores de prognóstico e biomarcadores de previsão. Os biomarcadores de diagnóstico permitem detetar e identificar determinada patologia no indivíduo e, idealmente, devem ser bastante específicos. No caso dos biomarcadores de prognóstico, a sua utilização é essencialmente feita para prever o curso de determinada patologia, incluindo a probabilidade de recorrência. São por isso importantes para a escolha da terapêutica mais adequada. Por último, os biomarcadores de previsão, permitem prever a resposta a determinado agente terapêutico antes de ser iniciado o tratamento, verificando-se assim se determinado indivíduo vai ou não responder positivamente à terapêutica (Kulasingam & Diamandis, 2008).

As análises moleculares foram realizadas no "tecido normal" adjacente ao tumor e nas margens cirúrgicas para avaliar a presença de uma lesão de campo. Os marcadores utilizados são LOH, alterações de microsatélites, instabilidade cromossómica e mutações no gene TP53 detetadas por técnicas de amplificação de DNA, imuno-histoquímica e hibridação in situ (Braakhuis et al., 2003).

Uma grande percentagem dos pacientes com cancro de cabeça e pescoço tratados cirurgicamente desenvolvem recorrências locais, mesmo com as margens da ressecção histologicamente livres de tumor. Essas recorrências podem surgir de células cancerosas deixadas para trás, mas não detetadas pelo patologista, ou podem desenvolver-se a partir de lesões precursoras adjacentes ao tumor que não foram completamente ressecadas. Num

estudo feito por van Houten et al. em 2004 investigou-se se o ADN TP53-mutado nas margens cirúrgicas é adequado para identificar pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço em risco de recorrência local e loco-regional.

Neste estudo de coorte prospectivo de 76 pacientes com margens histologicamente livres de tumor, a presença de DNA TP53-mutado foi determinada nas margens cirúrgicas. A imunocolonação das margens molecular-positivas para a proteína p53 mutada foi utilizada para identificar se lesões precursoras não ressecáveis ou células tumorais residuais que foram deixadas para trás. A ausência de ADN TP53-mutado nas margens cirúrgicas foi significativamente associada ao restante sem recidiva local e locorregional. Em 20% dos casos, a presença de ADN TP53-mutado nas margens cirúrgicas estava relacionada à presença de lesões precursoras relacionadas ao tumor. Este estudo mostra o valor do DNA TP53-mutado como um marcador molecular para prever recorrências locais do carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço (van Houten et al., 2004).

Nos últimos anos, tem-se vindo a realizar um conjunto de descobertas em prol do interesse sob o uso da saliva para diagnóstico de cancro oral, nomeadamente para o CEC (Brinkmann, Kastratovic, & Dimitrijevic, 2011).

De acordo com um estudo realizado por Sivadasan, et al. (2015), em que foram avaliadas 3449 proteínas salivares, destacaram-se 139 proteínas associadas a processos biológicos. Um exemplo é a proteína CD44 que está envolvida no crescimento de tumores e metástases, como também implicada como marcador de células estaminais no cancro da cabeça e pescoço, no CEC, cuja associação é de mau prognóstico. A TNC é uma proteína da matriz extracelular com capacidade de atuar no crescimento, invasão e atividades que promovem a angiogénese, característica típica de células malignas.

De facto, inúmeras proteínas salivares têm sido referidas como reguladoras na carcinogénese, como também em fases precoces da doença. Deste modo, a matriz extracelular é um dos componentes que faz parte do ambiente de um tumor e exerce capacidade na progressão do mesmo. Vários membros da família do colagénio, como por exemplo, (COL1A1, COL1A2, COL4A2, COL6A1), fibronectina 1 (FN1) e de metaloproteinases de matriz 1 (MMP1), são conhecidos por estarem relacionados com o cancro oral (Sivadasan, Gupta & Sathe, 2015).

De facto, desde 2007 que a tecnologia tem vindo a permitir aos investigadores desenvolver um sistema de nanotecnologia com base num biossensor eletroquímico capaz de identificar biomarcadores salivares. Na verdade, este sistema designa-se de teste nanossensor de fluido oral (OFNASET), e caracteriza-se pela sua fácil utilização, como também, pela sua rapidez em detetar proteínas salivares e ácidos nucleicos na determinação de várias doenças. Efetivamente, este pode ser utilizado em consultório médico, com o objetivo de se conseguir rapidamente os resultados de um rastreio de uma patologia (Yakob, et al., 2014).

Outro avanço conquistado foi o mais recente teste salivar de diagnóstico de cancro oral comercializado em 2015, designado de Salimark™ CEC, cujos estudos independentes obtiveram uma validação clínica rigorosa pelo National Cancer Institute (NCI), com o objetivo de ajudar na identificação/deteção precoce de lesões potencialmente malignas. Na verdade, este teste é composto por um kit de colheita de amostra de saliva, sendo conseqüentemente, esta enviada para laboratório no mesmo dia, através de um serviço noturno pré-pago, para realização de ensaios clínicos. Posteriormente, os resultados são disponibilizados ao médico que acompanha o paciente, por via electrónica, num prazo de dois dias (PeriRx, 2015).



**Figura 28-** Material para a aplicação do sistema Salimark™ CEC (Adaptado de PeriRx, 2015).

O estudo e a descoberta de biomarcadores é uma área científica que ainda tem muito para evoluir, sendo essencial que haja uma uniformização de metodologias e protocolos, de modo a obter informação válida. Só assim será possível conseguir identificar moléculas que efetivamente possam ser usadas na prática clínica para auxiliar

nas várias etapas, desde o diagnóstico à avaliação da eficácia terapêutica (Kulasingam & Diamandis, 2008).

## **5.2 – Quimioprevenção**

Quimioprevenção é definida como o uso de agentes químicos naturais ou sintéticos para reverter, suprimir ou prevenir a progressão carcinogénica do carcinoma invasor (Oliveira, Aldrighi, & Rinaldi, 2006).

A terapia local por excisão do cancro é insuficiente para prevenir novas doenças e, geralmente, não é possível remover cirurgicamente todas as áreas que demonstram alterações moleculares. Assim, a quimioprevenção é uma alternativa disponível que poderia tornar a mucosa menos sensível às alterações do DNA (Angadi et al., 2012).

Os pacientes em risco podem ser tratados para prevenir o desenvolvimento de doenças, e os pacientes com lesões pré-malignas podem fazê-los reverter ou parar. E, finalmente, a quimioprevenção pode ser usada para prevenir a recorrência do cancro após a cirurgia (Fuller & Aldape, 1999).

Vários compostos foram utilizados para este fim, como inibidores de CoX-2 e, o mais importante, ácido 13-cis-retinoico (13cRA), que é conhecido por desempenhar um papel na diferenciação, desenvolvimento e crescimento de células epiteliais. O ácido 13-cis-retinoico mostrou reforçar o receptor do ácido retinoico, levando a uma boa resposta clínica nas lesões pré-malignas da cabeça e pescoço. As altas doses de ácido 13-cis-retinoico levaram a uma regressão nas leucoplasias da cavidade oral em comparação com o placebo bem como a prevenção de segundos tumores primários. Embora o foco dos ensaios clínicos para agentes de quimioprevenção tenha sido sobre o uso de compostos à base de retinoides, a toxicidade (conjuntivite, mucosite, pele seca, hipertriglicerémia e mal-estar) deste fármaco em maiores quantidades pode limitar a sua utilidade (Angadi et al., 2012).

A administração de ácido 13-cis-retinoico por apenas 3 meses produz uma taxa de resposta clínica de 67% versus 10% para o placebo. No entanto, a toxicidade é considerável, e há uma taxa muito alta de recaída dentro de 3 meses após a interrupção do tratamento. Estudos subsequentes com retinóides em pacientes com lesões pré-malignas orais confirmaram taxas de resposta clínica e patológica, embora as toxicidades

continuam a ser uma preocupação. No entanto, estudos de tradução mostram que anormalidades moleculares persistem em alguns pacientes com uma resposta clínica e patológica completa à terapia retinóide, sugerindo que o desenvolvimento do cancro pode ser adiado e não prevenido por esses agentes (Tanaka et al., 2011). A exclusão de pacientes com estágio avançado, a dose substancialmente menor de retinóides utilizado e o possível efeito da cessação do tabagismo no SPT dificultaram a confirmação ou refutação dos achados benéficos de quimioprevenção de estudos anteriores. Atualmente, não há evidências para sustentar o seu uso clínico (Bhatia, 2017).

Na busca contínua do regime ideal de quimioprevenção, a terapia combinada de ácido 13cRA com interferão-a (IFN-a) foi investigada. Num estudo prospetivo não randomizado de fase II, os pacientes com lesões displásicas comprovadas por biópsia da cavidade oral, orofaringe e laringe foram tratados com 13cRA, a-TF e IFN-a. A-TF diminui a toxicidade do 13cRA e tem um efeito sinérgico com retinóides. Embora 50% dos pacientes com displasia laríngea tenham uma resposta completa aos 12 meses, pacientes com lesões da cavidade oral e orofaringe não responderam (Werning, 2007).

Outros agentes que foram avaliados em ensaios clínicos para avaliar a atividade de quimioprevenção em pacientes com leucoplasia oral incluem vitamina E, concentrado de inibidor de Bowman-Birk (BBIC) derivado de soja, curcumina e epigallocatequina de polifenol de chá verde - 3-galato. Pequenos ensaios clínicos com BBIC oral não revelaram toxicidade significativa e uma taxa de resposta de 32% (Tanaka et al., 2011).

A COX-2 desempenha um papel na progressão dos tumores epiteliais influenciando funções celulares, como apoptose, angiogénese, proliferação, invasão e metástases. Renkonen et al. encontrou um gradiente crescente de expressão de ciclooxigenase-2 (Cox-2) quando estudou através de imuno-histoquímica a mucosa oral normal, epitélio displásico e carcinoma invasivo de células escamosas (SCC) (Bhatia, 2017).

A análise imuno-histoquímica revelou que a COX-2 é expressa tanto no HNSCC quanto no epitélio normal adjacente, com um nível médio de RNA mensageiro (mRNA) COX-2 aumentado em cerca de 150 vezes em HNSCC em comparação com a mucosa epitelial normal. Um nível mais elevado de mRNA de COX-2 (cerca de 50 vezes) também foi observado na mucosa normal de pacientes com HNSCC em comparação com voluntários saudáveis. O eIFeE (um biomarcador positivo em indivíduos com alto risco

de recaída após tratamento definitivo para HNSCC) foi correlacionado com a expressão de COX-2 como um possível marcador de substituição para prever a resposta à COX-2 e a recaída. A análise de Western Blot na mucosa de indivíduos em diferentes estádios de carcinogênese e de mucosa normal mostrou expressão de eIF4E e COX-2 em todos os cânceros e não na mucosa normal. Houve uma correlação significativa entre a expressão de ambos os marcadores ( $p < 0,001$ ), o que poderia sugerir um possível papel da inibição da COX-2 na quimioprevenção da HNSCC (Doherty, 2015).

No entanto, o uso de inibidores da COX-2 mostrou acentuar significativamente o risco de complicações cardíacas em ensaios controlados com placebo para prevenção de adenomas colorretais, levando a um eventual declínio no seu uso. Além disso, uma análise posterior de onze estudos observacionais sugeriu que, em geral, o uso de anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) não diminui significativamente o risco de HNSCC (OR = 0,95; intervalo de confiança de 95% (IC), 0,81 -1.11). Com base nesses dados, eles atualmente não têm nenhum papel estabelecido na quimioprevenção do cancro de cabeça e pescoço (Bhatia, 2017).

Pesquisas biológicas contínuas ajudaram a entender o processo de carcinogênese, bem como o conceito de cancerização em campo no HNSCC, com implicações para a acessibilidade à amostra de tecidos. Estes estudos têm levado a área de quimioprevenção no HNSCC para a frente.

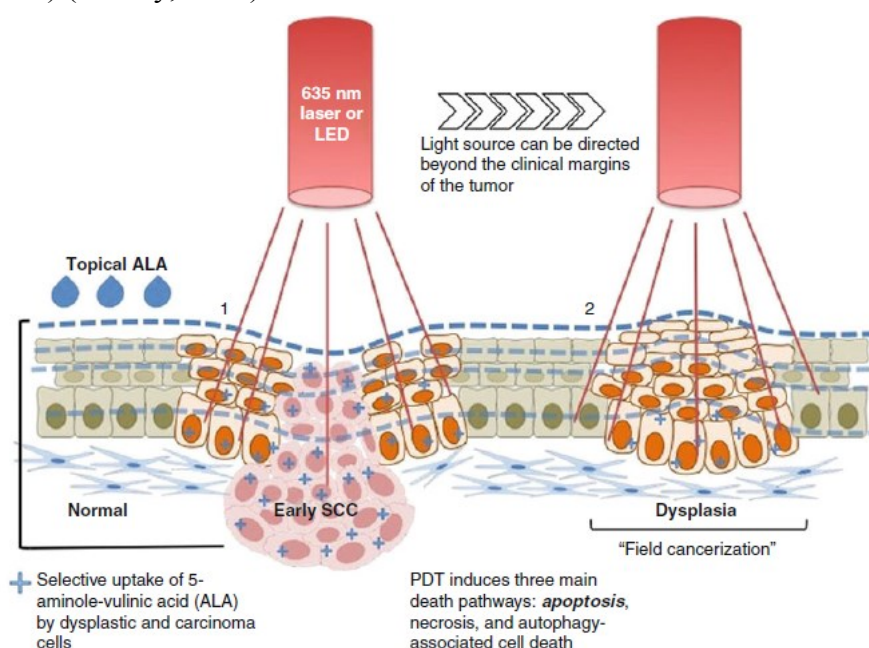
Uma melhor compreensão das alterações que afetam lesões pré-malignas no tecido e a níveis moleculares vai ajudar a identificar perfis de risco de cancro e fornecer alvos racionais para medidas quimiopreventivas. Estudos mais detalhados e prospectivos que talvez dependam de vários biomarcadores podem ser necessários para prever o desenvolvimento subsequente do cancro com precisão (Doherty, 2015).

O recetor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) representa o único alvo molecular aprovada como fármaco pela US Food and Drug Administration (FDA) para uso no tratamento de OSCC. A expressão de EGFR é aumentada nas malignidades do aparelho aerodigestivo superior e é sobre expressa em lesões leucoplásicas.

As toxicidades associadas com quimioterapias sistémicas, incluindo o cetuximab, fazem com que pesquisas para encontrar formulações tópicas aceitáveis com efeitos adversos limitados, sejam uma prioridade. Os inibidores tópicos de EGFR foram avaliados em vários modelos animais. O polietilenoglicol (PEG) um laxante sem receita

médica foi bem estudado como agente quimiopreventivo na carcinogênese do cólon. O PEG foi estudado para se ligar ao EGFR e direcioná-lo para o proteossoma 26S para degradação. PEG também induz a prisão do ciclo celular na fase G 1-S e pode interromper a transcrição de  $\beta$ -catenina levando à não regulação de E-caderina. Usando uma linha HNSCC humana e um modelo de rato, a administração tópica diária de uma preparação de PEG para o pavimento oral e palato duro reduziu significativamente o tamanho e a multiplicidade do tumor. Além disso, a aplicação de PEG reduziu a proliferação celular e a expressão de EGFR na mucosa da cavidade oral e no tecido tumoral. Estes resultados sugerem que o PEG, possivelmente através da sua atividade anti-EGFR, pode gerar potentes propriedades quimiopreventivas in vivo (Kasper et al., 2015).

O tratamento principal da displasia de alto grau e SCC superficial da cavidade oral, cabeça e pescoço é a excisão cirúrgica. No entanto, esta modalidade de tratamento tem limitações, incluindo perda de tecido localizada com potencial para deficiências funcionais, preocupações estéticas e risco de recorrência devido a margens positivas ocultas. Além disso, a "cancerização de campo" e a presença de lesões pré-malignas como leucoplasia e eritroplasia com lesão primária existente aumentam a probabilidade de desenvolver um segundo tumor primário. Uma opção terapêutica alternativa promissora para tratar essas lesões é a terapia fotodinâmica (PDT). A PDT foi aprovada para uso pela FDA há mais de duas décadas e é uma modalidade terapêutica clinicamente comprovada para tratar condições neoplásicas malignas, benignas e recorrências, bem como para efeitos preventivos na progressão de lesões pré-malignas (técnica explicada anteriormente) (Fribley, 2016).



**Figura 29-** Representação gráfica da terapia fotodinâmica usando a aplicação tópica do ácido fotosensibilizador (PS) 5-aminolevulinic (ALA) no carcinoma de células escamosas precoce. Na presença de oxigênio, o laser de 635 nm ou fonte de luz LED excita o ALA que pode transferir a sua energia para o oxigênio molecular (O<sub>2</sub>) que gera oxigênio singlete (1O<sub>2</sub>). A meia-vida de 1O<sub>2</sub> é muito curta, o que limita o seu alcance a 55 nm. Esta curta distância de difusão limita o efeito de PDT para apenas as células que absorveram PS (+) (1). Um benefício adicional da PDT é que o PS e a fonte de luz individualmente são agentes não tóxicos. Dado que as células pré-malignas e malignas podem preferencialmente receber ALA, direcionar a fonte de luz além das margens clínicas de uma lesão pode destruir lesões ocultas adicionais (2) que, de outra forma, continuarão a se desenvolver (Adaptado de Fribley, 2016)

## 6- Cancerização em campo e HPV

Existem mais de 100 subtipos de HPV, alguns dos quais estão envolvidos na carcinogênese cervical e foram designados como HPVs de alto risco. O vírus contém dois oncogenes, E6 e E7, cuja expressão inativa p53 e retinoblastoma (RB), respetivamente, causando perturbação da regulação do ciclo celular nas células infetadas, que é considerado o início da carcinogênese HPV-mediada.

Apesar das suas características clínicas e biológicas serem diferentes das neoplasias orofaríngeas HPV-negativas e de estas características serem hoje cada vez mais conhecidas, ainda não se encontra bem estabelecido se o HPV induz ou não o fenómeno de cancerização em campo, que constitui um importante fator de prognóstico (Leemans et al., 2011).

<b>Características</b>	<b>HPV-negativo HNSCC</b>	<b>HPV-POSITIVO HNSCC</b>	<b>Refs</b>
<b>Incidência</b>	Diminui	Aumenta	138,139
<b>Etiologia</b>	Excesso de tabaco e álcool	Sexo oral	31
<b>Idade</b>	Acima dos 60	Abaixo dos 60	138
<b>Cancerização em campo</b>	Sim	Não determinado	49,136
<b>Sítio mais comum</b>	Nenhum	Orofaringe	21,141
<b>Prognóstico</b>	Pobre	Favorável	5,142

**Tabela 1** - Diferentes características clínicas e biológicas do HNSCC HPV-negativo e HPV-positivo (Leemans et al., 2011)

Vários estudos realizados concluem que a cancerização em campo não ocorre nestas neoplasias HPV-positivas. Esta observação poderá ser um dos motivos pelos quais o carcinoma de células escamosas orofaríngeo HPV-positivo apresenta melhor prognóstico que o HPV-negativo (G. Martins, 2016).

Referências	N	Objetivos	Conclusões
(Begum et al., 2005)	45 doentes	Determinar a distribuição da integração viral nas amígdalas com carcinoma e nas amígdalas contralaterais com o mesmo perfil de exposição	A integração viral não ocorre como uma alteração em campo ao longo do epitélio amigdalino normal
(McGovern et al., 2010)	1 doente	Relato de caso clínico	Os carcinomas de células escamosas da cabeça e pescoço HPV-positivos têm um mecanismo diferente para o desenvolvimento de doença oncológica multifocal
(Klozar et al., 2013)	98 doentes	Avaliar fatores prognósticos	Os segundos tumores primários de doentes com tumores primários HPV-positivos são induzidos por mecanismos diferentes
(Joseph et al., 2013)	135 doentes	Determinar a etiologia molecular da multifocalidade em neoplasias amigdalinas HPV-positivas	O conceito de cancerização em campo deve ser interpretado de forma diferente em neoplasias de etiologia viral
(Thavaraj et al., 2014)	63 doentes	Determinar se o reduzido risco de segundos tumores primários se deve a ausência de cancerização em campo	A cancerização em campo induzida por vírus é incomum em carcinomas de células escamosas orofaríngeos
(Rietbergen et al., 2014)	20 doentes	Detetar campos pela presença de HPV transcricionalmente ativo na mucosa circundante à neoplasia	A presença de HPV transcricionalmente ativo não foi detetado na mucosa circundante à neoplasia, sugerindo a ausência de cancerização em campo

**Tabela 2** - Estudos sobre a relação entre Carcinomas de Células Escamosas Orofaríngeos HPV-positivos e Cancerização em Campo (Adaptado de Martins, 2016)

A deteção de HPV no HNSCC tem implicações terapêuticas potencialmente significativas, dado o desenvolvimento de vacinas que visam as proteínas oncogénicas de HPV E6 e E7 para a prevenção de neoplasias malignas relacionadas ao HPV (Jaiswal et al., 2013). A determinação do HPV deve ser efetuada em todos os tumores da orofaringe (Tobergte & Curtis, 2015).

As vacinas comercialmente disponíveis contêm a proteína de cápside viral L1 inativa de diferentes subtipos de HPV, provocando uma resposta de anticorpos que neutralizam o vírus e previnem a infeção inicial com tipos de HPV. Dadas as lacunas no

nosso conhecimento relativo à história natural da infecção oral por HPV, também não podemos inferir diretamente que a vacina preveniria o cancro orofaríngeo. A vacinação não pode ser usada para tratar infecções estabelecidas.

Para superar algumas dessas limitações, as vacinas terapêuticas contra o HPV, que visam gerar uma resposta imune mediada por células às oncoproteínas E6 / E7 do HPV, estão a ser desenvolvidas para uso em pessoas com infecção prevalente pelo HPV e provavelmente serão inestimáveis como medida de prevenção do cancro. Estes estão atualmente sob investigação (Bhatia, 2017).

## **7- Perspetivas futuras**

As pesquisas futuras sobre cancerização em campo devem abordar várias questões não respondidas que incluem a importância da área total da mucosa afetada em relação ao risco de transformação maligna, as lesões síncronas e metacrónicas se se comportam de forma diferente ao longo do tempo e quão significativo é o consumo de tabaco e álcool ou cessação na progressão da doença? Qual é a distribuição topográfica exata das células cancerosas ocultas adjacentes à massa tumoral macroscópica e o seu limite microscópico em relação ao local de origem tumoral, margem de ressecção e tecidos que permanecem *in situ*? Qual é a importância do prognóstico da doença residual mínima? Será o estágio molecular das margens de ressecção apropriado para a indicação de tratamento local adicional (ressecção ou radiação adjuvante)? (Angadi et al., 2012).

O mau prognóstico do HNSCC deve-se primariamente à deteção da doença em estágio avançado. Assim, o entendimento da cancerização de campo e da genética molecular da doença são essenciais para uma deteção precoce, para proporcionar melhores intervenções e abordagens terapêuticas, juntamente com a introdução de vários biomarcadores com possível aplicação no diagnóstico, estadiamento, acompanhamento e prognóstico dos pacientes (Chatra et al., 2013).

Campbell et al. recentemente fez um apelo para o desenvolvimento de um Atlas de Genoma Pré-Cancro (PCGA) para capturar mudanças em série nos perfis moleculares de lesões pré-malignas à medida que progridem, ou regridem de malignidade em múltiplos tipos de tumor. Esta informação não só servirá para desenvolver novas estratégias específicas para atrasar ou reverter a carcinogénese, mas também possibilitar

o desenvolvimento de biomarcadores prognósticos e preditivos que poderiam servir como ferramentas para detecção precoce, avaliação de risco, seleção de pacientes para estudos e como parâmetros de risco em testes clínicos (Bhatia, 2017).

A quimioprevenção do cancro de cabeça e pescoço entrou numa era de personalização molecularmente definida. No entanto, a partir das tentativas passadas, aprendemos que é preciso melhorar a nossa compreensão da biologia das primeiras etapas da carcinogénese. A chave para isso seria um esforço multi-institucional em grande escala para caracterizar genomicamente lesões pré-cancerosas.

Dado que apenas uma fração das lesões pré-malignas progride para cancro invasivo, é importante desenvolver biomarcadores de prognósticos que identifiquem lesões de alto risco e biomarcadores preditivos que, de maneira ideal, possam ser incorporados nos critérios de elegibilidade, utilizados como alvos para novas terapias e servindo como parâmetros de avaliação na geração futura de ensaios clínicos. Esta estratégia incorporaria o princípio da medicina de precisão na quimioprevenção do cancro, iria assegurar a utilização adequada dos nossos conhecimentos e recursos atuais e maximizaria as nossas hipóteses de sucesso (Bhatia, 2017).

Bastante importante ainda, um protocolo para gerenciar pacientes de alto risco precisa ser desenvolvido e testado. Isso pode ser alcançado através da realização de estudos multicêntricos longitudinais com grandes grupos populacionais com tumores únicos e múltiplos. Isso, por sua vez, poderia fornecer uma base para a identificação de pacientes que se podem beneficiar de um tratamento adiantado sistemático precoce (Angadi et al., 2012).

### **III- CONCLUSÃO**

A cancerização em campo é um dilema complexo tanto para clínicos como para cirurgiões. Além disso, afeta significativamente a morbidade e mortalidade dos pacientes com carcinoma.

A presença de um campo com células geneticamente alteradas é um fator de risco para o desenvolvimento de HNSCC. O grande número de células pré-neoplásicas nos campos de proliferação poderá aumentar dramaticamente o risco de desenvolver um carcinoma. Isso também explica a alta incidência de tumores secundários após a cirurgia do carcinoma inicial. Portanto, um exame oral frequente com estudos histológicos e testes moleculares são bastante importantes para pacientes após a cirurgia, especialmente para aqueles com alto risco de desenvolver neoplasias malignas.

Existem técnicas de diagnóstico que auxiliam na detecção precoce dos carcinomas, bem como na visualização das margens cirúrgicas que de outra forma, a olho nu, não seriam observáveis, entre estas encontram-se as técnicas de coloração (lugol, azul de toluidina), autofluorescência tecidual (VELscope, Identafi 3000), técnicas citológicas e análise molecular (biomarcadores).

Embora numerosos marcadores tenham sido identificados para ajudar a determinar o efeito de campo de cancerização, todo o processo ainda é controverso, portanto, pesquisas ainda estão em andamento para obter uma melhor compreensão da carcinogênese e usar os biomarcadores previstos neste conceito para fins de prevenção do cancro.

Uma deficiência óbvia em muitos estudos de cancerização de campo é a falta de amostras extensas do genoma, que permitirão que as mudanças genéticas iniciais e importantes na evolução do tumor sejam descobertas. Muitos estudos basearam-se fortemente em marcadores associados a um tumor específico. Esses marcadores tumorais selecionados podem ser aquisições mais tardias no processo da doença e poderão não estar presentes nas amostras peri-tumorais ou lesões pré-cancerosas. É então necessário continuar a desenvolver estudos neste sentido, para que biomarcadores possam ser utilizados no diagnóstico precoce, na monitorização da doença e também para terapias preventivas.

O conhecimento que o fenómeno de cancerização em campo torna a mucosa mais suscetível à formação de tumores levou à noção de quimioprevenção, pelo qual um composto poderia ser administrado para prevenir a recorrência do tumor, prevenir a progressão da doença pré-maligna em malignidade, ou retardar a progressão tumoral. Como a excisão cirúrgica de toda a mucosa afetada não é viável, os compostos químicos administrados de forma sistémica ou topicamente podem fornecer uma ampla gama de cobertura. Os retinóides, os carotenos, os inibidores da COX-2 e outros compostos foram estudados extensivamente com resultados razoáveis, mas os efeitos colaterais agressivos tornam-se uma grande limitação destes fármacos e houve um grande declínio no seu uso. Novos fármacos estão a ser estudados para a obtenção de bons resultados na prevenção da transformação maligna destes campos de células alteradas ou lesões pré-malignas com efeitos colaterais mínimos.

Para prevenir a cancerização de campo, a ingestão habitual de agentes cancerígenos, como álcool e cigarros, deve ser interrompida e um acompanhamento prolongado é necessário para pacientes tratados cirurgicamente, com radioterapia e/ou quimioterapia.

#### IV- BIBLIOGRAFIA

- Alicandri-Ciufelli, M., Bonali, M., Piccinini, A., Marra, L., Ghidini, A., Cunsolo, E. M., ... Conte, P. F. (2013). Surgical margins in head and neck squamous cell carcinoma: what is “close”? *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology : Official Journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (EUFOS) : Affiliated with the German Society for Oto-Rhino-Laryngology - Head and Neck Surgery*, 270(10), 2603–9. <https://doi.org/10.1007/s00405-012-2317-8>
- American Cancer Society. (2016). Cancer Facts & Figures 2016. *Cancer Facts & Figures 2016*, 1–9. <https://doi.org/10.1097/01.NNR.0000289503.22414.79>
- Angadi, P. V., Savitha, J. K., Rao, S. S., & Sivaranjini, R. Y. (2012). Oral field cancerization: Current evidence and future perspectives. *Oral and Maxillofacial Surgery*, 16(2), 171–180. <https://doi.org/10.1007/s10006-012-0317-x>
- Awan, K. et alli (2012). Utility of toluidine blue as a diagnostic adjunct in the detection of potentially malignant disorders of the oral cavity – a clinical and histological assessment. *Oral Diseases*, 18 (8), pp. 728-733.
- Awan, K., Morgan, P. e Warnakulasuriya, S. (2011). Evaluation of an autofluorescence based imaging system (VELscope™) in the detection of oral potentially malignant disorders and benign keratosis. *Oral Oncology*, 47 (4), pp. 274-277.
- Azul, A. M., Bulhosa, J. F., Melo, P. R. de, & Trancoso, P. F. (2014). Intervenção Precoce No Cancro Oral - Guia Para Profissionais De Saúde. *Ordem Dos Médicos Dentistas*, (1), 1–5. <https://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>
- AZUL, A. M., & TRANCOSO, P. F. (2006). Patologia mais frequente da mucosa oral. *Rev Port Clin Geral*, 2, 369–77. Retrieved from <http://www.apmcg.pt/Download.aspx?file=+H9KsPBBThmkjxXxYr2tnWqcllg8AFhHulvnn9qbno/e7ds625NqelAxE4FdG3zVcCNe1vuZHfRslwZkfd3C6zB6oMDeWzf0AaZ4WsrnCg8VxOo7TkA08+wQkuC7Y7z/&name=Patologia mais frequente da mucosa...>
- Bagan, J., Sarrion, G., & Jimenez, Y. (2010). Oral cancer: Clinical features. *Oral Oncology*. <http://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2010.03.009>

- Bhatia, A. (2017). Novel Molecular Targets for Chemoprevention in Malignancies of the Head and Neck. *Cancers*, 9(9), 113. <https://doi.org/10.3390/cancers9090113>
- Bhatia, N., Lalla, Y., Vu, An N., et al. (2013). Advances in optical adjunctive AIDS for visualisation and detection of oral malignant and potentially malignant lesions. *International Journal of Dentistry*. [Em linha]. Disponível em <<http://dx.doi.org/10.1155/2013/194029>>.
- Bhatia, N., Matias, M. A. & Farah, C. S. (2014). Assessment of a decision making protocol to improve the efficacy of VELscope™ in general dental practice: a prospective evaluation. *Oral Oncology*, 50(10), pp. 1012-1019.
- Boy, S. (2012). Leukoplakia and erythroplakia of the oral mucosa - a brief overview. *Journal of the South African Dental Association*, 67 (10), pp. 558-560.
- Braakhuis, B. J. M., Tabor, M. P., Kummer, J. A., & Brakenhoff, R. H. (2003). A Genetic Explanation of Slaughter's Concept of Field Cancerization: Evidence and Clinical Implications A Genetic Explanation of Slaughter's Concept of Field Cancerization: Evidence and. *Cancer Res*, 63, 1727–1730.
- Brinkmann, O., Kastratovic, D. A., Dimitrijevic, M. V. et al. (2011). Oral squamous cell carcinoma detection by salivary biomarkers in a Serbian population. *Oral Oncology*, 47(1), pp. 51-55.
- Bussink, J., Kogel Aj van der e Kaanders, J. H. (2008). Activation of the PI3-K/AKT pathway and implications for radioresistance mechanisms in head and neck cancer. *Lancet Oncology*, 9 (2), pp. 88-96.
- Carreras-Torras, C. e Gay-Escoda, C. (2015). Techniques for early diagnosis of oral squamous cell carcinoma: Systematic review. *Medicina Oral, Patología y Cirugía Bucal*, 20 (3), pp. 305-315.
- Chai, R. C., Lambie, D., Verma, M., & Punyadeera, C. (2015). Current trends in the etiology and diagnosis of HPV-related head and neck cancers. *Cancer Medicine*, 4(4), 596–607. <http://doi.org/10.1002/cam4.424>
- Charles, B. F., Dana, K. A., Timothy, R. B., David, L. D., John, G. H., & Raphael, E. P. (2015). Schwartz's Principles of Surgery. In *Schwartz's Principles of Surgery* (10ª, pp. 1309–1340). [https://doi.org/10.1007/978-3-540-49975-6\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-540-49975-6_3)

- Chatra, L., Prabhu, R., Rao, P., Shahin, K., Shenai, P., Veena, K., & Aparna, M. (2013). Field cancerization: A review. *Archives of Medicine and Health Sciences*, 1(2), 136. <https://doi.org/10.4103/2321-4848.123026>
- Chaudhari, A., Hegde-Shetiya, S., Shirahatti, R., & Agrawal, D. (2013). Comparison of different screening methods in estimating the prevalence of precancer and cancer amongst male inmates of a jail in Maharashtra, India. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 14(2), 859–864. <http://doi.org/10.7314/APJCP.2013.14.2.859>
- Cheng, Yi-Shing L. & Wright, J. (2011). Advances in Diagnostic Adjuncts for Oral Squamous Cell Carcinoma. *The Open Pathology Journal*, 5(1), pp. 3-7.
- Collin, M. (2016). Immune Checkpoint inhibitors: a patent review (2010-2015). *Expert opinion on therapeutic patents*, 26 (5), pp. 555-564.
- Dakubo, G. D., Jakupciak, J. P., Birch-Machin, M. A., & Parr, R. L. (2007). Clinical implications and utility of field cancerization. *Cancer Cell International*, 7, 2. <https://doi.org/10.1186/1475-2867-7-2>
- Doherty, G. (2015). *CURRENT Diagnosis & Treatment: Surgery*. (B. Belvel & P. Boyle, Eds.) (14<sup>a</sup>). United States.
- Farah, C. S., Simanovic, B. & Dost, F. (2014). Oral cancer in Australia 1982- 2008: a growing need for opportunistic screening and prevention. *Australian Dental Journal*, 59(3), pp. 349-539.
- Fedele, S. (2009). Diagnostic aids in the screening of oral cancer. *Head & Neck Oncology*, 1(1), pp. 1-6.
- Feller, L. L., Khammissa, R. R., Kramer, B. B., & Lemmer, J. J. (2013). Oral squamous cell carcinoma in relation to field precancerisation: pathobiology. *Cancer Cell International*, 13, 31. <http://doi.org/10.1186/1475-2867-13-31>
- Ferlay, J., Steliarova-Foucher, E., Lortet-Tieulent, J., Rosso, S., Coebergh, J. W. W., Comber, H., Bray, F. (2013). Cancer incidence and mortality patterns in Europe: Estimates for 40 countries in 2012. *European Journal of Cancer*, 49(6), 1374– 1403. <http://doi.org/10.1016/j.ejca.2012.12.027>
- Fribley, A. M. (2016). *Targeting oral cancer. Targeting Oral Cancer*.

<https://doi.org/10.1007/978-3-319-27647-2>

Fuller, G. N., & Aldape, K. D. (1999). Neuroanatomy and Molecular Biology of, 425–458. <https://doi.org/10.1177/154411130301400105>

Galbiatti, A. L. S., Padovani-Junior, J. A., Maniglia, J. V., Rodrigues, C. D. S., Pavarino, É. C., & Goloni-Bertollo, E. M. (2013). Head and neck cancer: Causes, prevention and treatment. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*, 79(2), 239–247. <https://doi.org/10.5935/1808-8694.20130041>

Galbiatti, A. L. S., Ruiz, M. T., Maniglia, J. V., Raposo, L. S., Pavarino-Bertelli, É. C., & Goloni-Bertollo, E. M. (2012). Head and neck cancer: Genetic polymorphisms and folate metabolism. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*, 78(1), 132–139. <https://doi.org/10.1590/S1808-86942012000100021>

Gomez-Millan, J., Fernández, J. R., & Medina Carmona, J. A. (2013). Current status of IMRT in head and neck cancer. *Reports of Practical Oncology and Radiotherapy*, 18(6), 371–375. <https://doi.org/10.1016/j.rpor.2013.09.008>

Goyal, N., Bann, D. V. e Deschler, D. G. (2016). Novel Immunotherapeutic Approaches for Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Journal Cancers*, 8 (87), pp. 1-20.

Hartmann, S., & Grandis, J. R. (2016). Treatment of head and neck cancer in the elderly. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 17(14), 1903–1921. <https://doi.org/10.1080/14656566.2016.1220540>

Hermans, R. (2008). *Squamous Cell Cancer of the Neck*. (R. Rodney, Ed.). New York.

Hu, Y. C., Sidransky, D., & Ahrendt, S. A. (2002). Molecular detection approaches for smoking associated tumors. *Oncogene*, 21(48), 7289–7297. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1205805>

INCA. (2008). Ações de enfermagem para o controle do câncer: uma proposta de integração ensino-serviço. *Inca*, (3), 624. <https://doi.org/10.1118/1.4907967>

IPO. (2017). Portal do Instituto Português de Oncologia do Porto. Retrieved from <http://www.ipoporto.pt/servico/braquiterapia/>

- Ishii, H., Tanaka, S. e Masuyama, K. (2015). Therapeutic strategy for cancer immunotherapy in head and neck cancer. *Cellular and Molecular Otolaryngology*, 3 (1), pp. 1-12.
- Jaiswal, G., Jaiswal, S., Kumar, R., & Sharma, A. (2013). Field cancerization : concept and clinical implications in head and neck squamous cell carcinoma. *Journal of Experimental Therapeutics and Oncology*, 10, 209–214.
- Kantarjian, H., & Wolf, R. (2016). *The MD Anderson Manual of Medical Oncology*. (K. Edmonson & R. Pancotti, Eds.) (3<sup>a</sup>). Texas.
- Kasper, D., Fauci, A., Hauser, S., Longo, D., Jameson, J., & Loscalzo, J. (2015). *Harrison's Principles of Internal Medicine*. Star. <https://doi.org/0.1036/007149619X>
- Kazanowska, K., Hałoń, A. & Radwan-Oczko, M. (2014). The role and application of exfoliative cytology in the diagnosis of oral mucosa pathology - contemporary knowledge with review of the literature. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, 23(2), pp. 299-305.
- Khademi, B., Hashemi, S. B., Ghaderi, A., Shahrestani, A., & Mohammadianpanah, M. (2012). Interleukin-13 gene polymorphisms at -1055 C/T and +2044 G/A positions in patients with squamous cell carcinoma of head and neck. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*, 78(5), 64–68. <https://doi.org/10.5935/1808-8694.20120010>
- Kirita, T., & Omura, K. (2003). *Oral Cancer - Diagnosis and Therapy*. (T. Kirita & K. Omura, Eds.). Japan.
- Kulasingam, V., & Diamandis, E. P. (2008). Strategies for discovering novel cancer biomarkers through utilization of emerging technologies. *Nature Clinical Practice Oncology*, 5(10), 588–599. <https://doi.org/10.1038/ncponc1187>
- Kumar, V., Abbas, A. K., Fausto, N., & Aster, J. C. (2010). Robbins y Cotran. Patología Estructural y Funcional. In *7a Ed. Elsevier* (pp. 836–842). <https://doi.org/citeulike-article-id:4745943>
- Leemans, C. R., Braakhuis, B. J., & Brakenhoff, R. H. (2011). The molecular biology of head and neck cancer. *Nature reviews.Cancer*, 11(1), 9–22. <https://doi.org/10.1038/nrc2982> [doi]

- Lu, Z., Chengyun, N., Wei, T., & Key, G. P. (2015). 0st 上颌快速扩弓对颅颌面骨及上气道影响的锥形束CT分析, 50(9), 565–569. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.1002>
- Martins, G. (2016). CANCERIZAÇÃO EM CAMPO E HPV EM NEOPLASIAS OROFARÍNGEAS : HAVERÁ RELAÇÃO ?, 2016.
- Martins, H. L. (2014). Princípios físicos da radioterapia, 39.
- Matta, A. e Ralhan, R. (2009). Overview of current and future biologically based targeted therapies in head and neck squamous cell carcinoma. *Head & Neck Oncology*, 1 (6), pp. 1-8.
- Mehrotra, R., Singh, M. K., Pandya, S., & Singh, M. (2008). The use of an oral brush biopsy without computer-assisted analysis in the evaluation of oral lesions: a study of 94 patients. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, 106(2), 246–253. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2008.02.030>
- Mohan, M., & Jagannathan, N. (2014). Oral field cancerization: An update on current concepts. *Oncology Reviews*, 8(1), 13–19. <https://doi.org/10.4081/oncol.2014.244>
- Oliveira, V. M. De, Aldrighi, J. M., & Rinaldi, J. F. (2006). Quimioprevenção do câncer de mama. *Revista Da Associação Médica Brasileira*, 52(6), 453–459. <https://doi.org/10.1590/S0104-42302006000600028>
- Paiva, T. (2010). *Lesões Ulcerativas da Cavidade Oral e a Importância do diagnóstico Diferencia - Estudo Observacional*. Universidade Católica Portuguesa.
- Pavani, C. (2009). *Porfirinas tetracatiônicas alquiladas: Sistemas porfirínicos fotossensibilizadores para uso em terapia fotodinâmica do câncer de pele*.
- PeriRx® (2015). SaliMark™ OSCC: Oral Cancer Salivary Diagnostic Test. [Em linha]. Disponível em <<http://perirx.com/products/oral-cancer-salivary-diagnostic-test/>>.
- Pietruska, M. et alli (2014). Clinical evaluation of photodynamic therapy efficacy in the treatment of oral leukoplakia. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 11 (1), pp. 34- 40.

- Reddy, G. S., Rao K. E., Kumar, K. K., et al. (2014). Diagnosis of oral cancer: The past and present. *Journal of Orofacial Sciences*, 6(1), pp. 10-16.
- Regezi, J., Sciubba, J., & Jordan, R. (2012). Oral Pathology: Clinical-pathologic correlations. PhD Proposal (Vol. 1). <http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Ribeiro, J. N., Flores, A. V., Mesquita, R. C., Nicola, J. H., & Nicola, E. M. D. (2005). Terapia Fotodinâmica: uma luz na luta contra o câncer. *Physicae*, 5, 5–15. <https://doi.org/10.5196/physicae.5.2>
- Rodrigues, J. O., Galbiatti, A. L. S., Ruiz, M. T., Raposo, L. S., Maniglia, J. V, Pavarino-Bertelli, E. C., & Goloni-Bertollo, E. M. (2010). Polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene and risk of head and neck squamous cell carcinoma. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*, 76(6), 776–782. Retrieved from <https://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-79551646358&partnerID=40&md5=cdedc1001c7cc4245a2351305d0e26e0>
- RORENO. (2011). Folha informativa – Sobrevivência de doentes oncológicos diagnosticados entre 2000 e 2006 [Folheto] [http://www.roreno.com.pt/pt/estatisticas/documentos/doc\\_download/43-sobrevivenciacavidadeoral2000-06.html](http://www.roreno.com.pt/pt/estatisticas/documentos/doc_download/43-sobrevivenciacavidadeoral2000-06.html)
- Rubin, H. (2011). Fields and field cancerization: The preneoplastic origins of cancer: Asymptomatic hyperplastic fields are precursors of neoplasia, and their progression to tumors can be tracked by saturation density in culture. *BioEssays*, 33(3), 224–231. <https://doi.org/10.1002/bies.201000067>
- Ryan, K., Hegarty, A. e Hodgson, T. (2014). Aetiology, diagnosis and treatment of oral lichen plaus. *British Journal of Hospital Medicine*, 75 (5), pp. 492-496.
- Sabharwal, R., Mahendra, A., Moon, N. J., Gupta, P., Jain, A., & Gupta, S. (2014). Genetically altered fields in head and neck cancer and second field tumor. *South Asian Journal of Cancer*, 3(3), 151–153. <https://doi.org/10.4103/2278-330X.136766>
- Sabharwal, R., Sepolia, S., Sinha, A., Gupta, S., Kumar, M., & Manjunath, S. (2014). Oral Field Cancerization: An Update. *Universal Research Journal of Dentistry*, 4(1), 10. <https://doi.org/10.4103/2249-9725.127057>

- Santos, L., Teixeira, L. (2011). *Oncologia Oral*. Lisboa, Lidel, pp.1-215.
- Saúde, M. (2009). Uso da Tomografia por Emissão de Pósitrons (PET) no Diagnóstico, Estadiamento e Re-estadiamento do Linfoma Maligno, (1), 1–14.
- Schoenfeld, J. D. (2015). Immunity in Head and Neck Cancer. *Cancer Immunology Research*, 3(1), pp. 12-17.
- Silva, C. C., Amaral, B. do, & Bulhosa, J. F. (2010). Carcinoma espinocelular da língua-factores de risco e importância do reconhecimento de lesões pré-malignas. *Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentaria E Cirurgia Maxilofacial*, 51(1), 49–55. [https://doi.org/10.1016/S1646-2890\(10\)70085-6](https://doi.org/10.1016/S1646-2890(10)70085-6)
- Simple, M., Suresh, A., Das, D., & Kuriakose, M. A. (2015). Cancer stem cells and field cancerization of Oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncology*, 51(7), 643–651. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2015.04.006>
- Sivadasan, P., Gupta, M. K., Sathe, G. J., et al. (2015). Human salivary proteome - a resource of potential biomarkers for oral cancer. *Journal of Proteomics*. [Em linha]. Disponível em <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2015.05.039>>
- SNS. (2016). Cacro da cabeça e pescoço. Retrieved September 20, 2017, from <https://www.sns.gov.pt/noticias/2016/07/19/cancro-da-cabeca-e-do-pescoco/>
- Souza, F. V. (2017). EPIDEMIOLOGIA DAS LESÕES NA MUCOSA ORAL ENCONTRADAS EM CLÍNICA.
- Swain, N. et alli (2012). Reappraisal of photodynamic therapy as first-line therapy in management of oral pre-malignant lesions. *Oral oncology*, 48 (10), pp. 915-916.
- Tanaka, T., Tanaka, M., & Tanaka, T. (2011). Oral Carcinogenesis and Oral Cancer Chemoprevention: A Review. *Pathology Research International*, 2011, 1–10. <https://doi.org/10.4061/2011/431246>
- Tobergte, D. R., & Curtis, S. (2015). Direção-Geral da Saúde. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

- Torre, D. et alli (2015). Comparison of the prevalence of human papilloma virus infection in histopathologically confirmed premalignant oral lesions and healthy oral mucosa by brush smear detection. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*, 119 (3), pp. 333-339.
- Usatine, R. e Tinitigan, M. (2011). Diagnosis and Treatment of Lichen Planus. *American Family Physician*, 84 (1), pp. 53-60.
- van Houten, V., Leemans, C., Kummer, J., Dijkstra, J., Kuik, D., van den Brekel, M., ... Brakenhoff, R. (2004). Molecular Diagnosis of Surgical Margins and Local Recurrence in Head and Neck Cancer Patients: A Prospective Study. *Clinical Cancer Research*, 10(11), 3614–3620.
- Verma, R. et alli (2015). Evaluation of exfoliative cytology in the diagnosis of oral premalignant and malignant lesions: A cytomorphometric analysis. *Dental Research Journal*, 12 (1), pp. 83-88.
- Vermorken, J. B., Mesia, R., Rivera, F., Remenar, E., Kawecki, A., Rottey, S., ... Hitt, R. (2008). Platinum-based chemotherapy plus cetuximab in head and neck cancer. *The New England Journal of Medicine*, 359(11), 1116–27. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0802656>
- Vohra, F. et alli (2014). Efficacy of photodynamic therapy in the management of oral premalignant lesions. A systematic review. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 12 (1), pp. 150-159.
- Werning, J. (2007). *Oral Cancer - Diagnosis, Management, and Rehabilitation*. (E. Gumpert, Ed.). New York.
- Worsham, M. J., Wolman, S. R., Carey, T. E., Zarbo, R. J., Benninger, M. S., & van Dyke, D. L. (1995). Common clonal origin of synchronous primary head and neck squamous cell carcinomas: Analysis by tumor karyotypes and fluorescence in situ hybridization. *Human Pathology*, 26(3), 251–261. [https://doi.org/10.1016/0046-8177\(95\)90054-3](https://doi.org/10.1016/0046-8177(95)90054-3)
- Yakob, M., Fuentes, L., Wang, M. B., et al. (2014). Salivary biomarkers for detection of oral squamous cell carcinoma - current state and recent advances. *Current Oral Health Reports*, 1(2), pp. 133-141.

Zaravinos, A. (2014). An updated overview of HPV-associated head and neck carcinomas. *Oncotarget*, 5(12), 3956–69. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.1934>