



UNIVERSIDADE
FERNANDO
PESSOA

IMPACTO DO GENE P53 NO PROGNÓSTICO E TRATAMENTO DOS CARCINOMAS ESPINOCELULARES ORAIS – REVISÃO NARRATIVA

[Impact of the p53 gene on the prognosis and treatment of oral squamous cell
carcinomas – a narrative review]

Dissertação de Mestrado

Mestrado Integrado em Medicina Dentária

Chloé Marie TOMÉ-BELMONTE

Orientadores:

Mestre Alexandra Arcanjo

Mestre José Frias Bulhosa

Abril 2025

**IMPACTO DO GENE P53 NO PROGNÓSTICO E TRATAMENTO
DOS CARCINOMAS ESPINOCELULARES ORAIS – REVISÃO
NARRATIVA**

[Impact of the p53 gene on the prognosis and treatment of oral squamous cell
carcinomas – a narrative review]

Dissertação de Mestrado

Mestrado Integrado em Medicina Dentária

Chloé Marie TOMÉ-BELMONTE

Orientadores:

Mestre Alexandra Arcanjo

Mestre José Frias Bulhosa

Abril 2025

Je dédie cette thèse à mes parents, qui m'ont toujours soutenue et encouragée. Merci de
m'avoir permis de réaliser mon rêve.

Agradecimentos

Em primeiro lugar, agradeço à Universidade Fernando Pessoa por me ter dado a oportunidade de concretizar o meu sonho e me ter permitido tornar-me médico dentista.

Expresso a minha gratidão à Professora Alexandra Arcanjo, que me acompanhou ao longo deste projeto de fim de curso. Agradeço igualmente ao Professor José Frias Bulhosa pela sua disponibilidade e sua ajuda.

Agradeço aos professores que estiveram sempre presentes quando eu tinha dúvidas ou questões. Um agradecimento especial à Professora Cátia Carvalho da Silva e à Professora Cristina Cardoso da Silva por partilharem comigo a sua paixão pela odontopediatria. Finalmente, um grande agradecimento à Professora Cláudia Barbosa pela sua simpatia, disponibilidade e transmissão ilimitada de conhecimentos.

À mes parents, merci d'avoir toujours cru en moi, même quand ce n'était pas facile et que j'avais des doutes. Merci de toujours m'avoir soutenue dans tous les projets que j'ai eus, c'est grâce à vous que j'en suis là aujourd'hui, et je vous en suis infiniment reconnaissante. Merci d'avoir toujours été à l'écoute et d'avoir su trouver les mots dans les moments difficiles que nous avons traversé. Je vous remercie pour tout ce que vous m'avez apporté et tout ce que vous continuez à m'apporter au quotidien.

À mon frère, Hugo, merci pour tout car malgré la distance, tu as toujours été un soutien et tu as toujours tout fait pour que j'y arrive. Je te souhaite tout le meilleur pour le futur, tu le mérites.

À mes grands-parents, merci pour votre soutien infaillible. Vous avez toujours été présents dans toutes les étapes de mon parcours et pour cela, je vous en remercie.

À mon arrière-grand-mère, Mamie Caquette, merci d'avoir cru en moi. Je sais que là où tu es tu es fière de moi.

À mon parrain et ma tatie, merci pour votre soutien. Merci d'avoir toujours cru en moi et de m'avoir toujours encouragée.

À mes cousins, Aurélie et Mathieu, merci pour votre soutien, votre bonne humeur et à tous ces moments partagés ensemble.

À ma meilleure amie, Flora, merci pour ton amitié indéfectible durant toutes ces années. Tu as toujours eu les bons mots pour m'encourager et tu as toujours été de bons conseils dans les moments difficiles.

Au groupe des « bebous », Clément, Juliette et Sevgi. Merci pour votre présence indéfectible et votre soutien au cours de ces deux dernières années. À tous ces moments partagés ensemble en clinique et en cours. À tous ces moments de joie et de stress que l'on a vécu ensemble. Ces deux dernières années auraient été bien différentes sans toutes nos parties de jeux de société, nos galères qui nous sont arrivées quand on organisait quelque chose, nos voyages ensemble, nos soirées et tous nos fous rires. Votre amitié a rendu la fin de cette aventure mémorable, et pour cela je vous en remercie. Je suis très reconnaissante de vous avoir rencontrés et d'avoir pu partager tous ces moments avec vous qui resteront gravé à jamais.

À Chaimma, mon binôme de clinique, merci pour ces deux années de clinique. On a toujours su se compléter, alors merci d'avoir été là et de m'avoir permis de gérer mon stress.

À Juliette, merci pour ces cinq années en ta compagnie. Tu as toujours été d'un soutien infailible dans ces moments de doutes et de galère, alors merci pour tout.

Pour finir, à Lucas, merci pour toute l'aide que m'as apporté afin que je puisse avancer sur ma thèse. Tous tes précieux conseils m'ont permis de la terminer, et pour ça je t'en suis infiniment reconnaissante.

Resumo

Introdução: O carcinoma espinocelular oral é um tumor maligno prevalente na cavidade oral, representando uma das principais causas de mortalidade entre os cânceros de cabeça e pescoço. Sua etiologia está associada a fatores de risco como tabagismo, álcool e HPV. O gene TP53 codifica a proteína p53, um supressor tumoral essencial na integridade genômica. A p53 atua como fator de transcrição, regulando a reparação do ADN, o ciclo celular e a apoptose. Em condições normais, previne a proliferação de células com ADN danificado, evitando tumores malignos. Mutações no TP53 são comuns em diversos cânceros, incluindo o carcinoma espinocelular oral. Essas mutações podem levar à perda da função supressora ou à aquisição de funções oncogênicas. Conseqüentemente, há proliferação celular descontrolada e aumento da resistência tumoral a terapias convencionais. Compreender o papel das mutações do TP53 no carcinoma espinocelular oral é essencial para aprimorar estratégias diagnósticas e terapêuticas. Estudos indicam que essas mutações podem servir como biomarcadores para triagem de lesões orais malignas. A investigação detalhada das alterações no TP53 e seu impacto no comportamento do carcinoma espinocelular oral é crucial para desenvolver terapias mais eficazes, melhorando prognóstico e qualidade de vida dos pacientes. **Objetivo:** O objetivo deste trabalho foi determinar o impacto do gene P53 no pronóstico e no tratamento dos carcinomas espinocelulares orais. **Metodologia:** Foram utilizadas as bases de dados digitais: *PubMed* e *ScienceDirect*. Foram aplicados os marcadores “AND” e “OR”. Foram estipulados critérios de inclusão, nomeadamente, artigos publicados nos últimos dez anos (2014-2024), majoritariamente em idioma inglês, mas, também em francês e português, contendo informação relevante sobre os carcinomas espinocelulares orais, a proteína p53 e suas mutações e as estratégias terapêuticas. A pesquisa englobou artigos de revisões narrativas, revisões sistemáticas, meta-análises, sites governamentais e uma tese de doutoramento. Os critérios de exclusão são os artigos com resumos inacessíveis.

Palavras-chave: “Oral squamous cell carcinoma”; “p53”; “Head and neck squamous cell carcinoma”; “Prognostic”; “Treatment”

Abstract

Introduction: Oral squamous cell carcinoma is a malignant tumor prevalent in the oral cavity, representing one of the main causes of mortality among head and neck cancers. Its etiology is associated with risk factors such as smoking, alcohol and HPV. The TP53 gene encodes the p53 protein, an essential tumor suppressor for genomic integrity. p53 acts as a transcription factor, regulating DNA repair, the cell cycle and apoptosis. Under normal conditions, it prevents the proliferation of cells with damaged DNA, preventing malignant tumors. Mutations in TP53 are common in several cancers, including oral squamous cell carcinoma. These mutations can lead to the loss of suppressive function or the acquisition of oncogenic functions. Consequently, there is uncontrolled cell proliferation and increased tumor resistance to conventional therapies. Understanding the role of TP53 mutations in oral squamous cell carcinoma is essential for improving diagnostic and therapeutic strategies. Studies indicate that these mutations can serve as biomarkers for screening malignant oral lesions. Detailed investigation of TP53 alterations and their impact on the behavior of oral squamous cell carcinoma is crucial to developing more effective therapies, improving prognosis and quality of life for patients.

Objective: The aim of this study was to determine the impact of the P53 gene on the prognosis and treatment of oral squamous cell carcinomas. **Methodology:** PubMed and ScienceDirect digital databases were used. The ‘AND’ and ‘OR’ markers were applied. Inclusion criteria were stipulated, namely articles published in the last ten years (2014-2024), mostly in English, but also in French and Portuguese, containing relevant information on oral squamous cell carcinomas, the p53 protein and its mutations and therapeutic strategies. The search included articles from narrative reviews, systematic reviews, meta-analyses, government websites and a doctoral thesis. The exclusion criteria were articles with inaccessible abstracts.

Keywords: ‘Oral squamous cell carcinoma’; ‘p53’; ‘Head and neck squamous cell carcinoma’; ‘Prognostic’; ‘Treatment’

Índice Geral

I-	Introdução	1
II-	Desenvolvimento	7
1.	Materiais e métodos.....	7
2.	Frequência e tipos de mutações de p53 nos carcinomas espinocelulares da cavidade oral	7
i.	Metodologias para identificação de mutações.....	7
ii.	Dados epidemiológicos.....	12
iii.	Tipos de mutações	13
3.	Impacto das mutações no gene p53 nos carcinomas espinocelulares da cavidade oral	15
i.	Efeito das mutações na função da proteína p53	15
ii.	Prognóstico	15
4.	Efeitos das mutações de ganho de função e perda de função de p53 na progressão tumoral.....	16
i.	Mecanismos de ganho de função.....	16
ii.	Mecanismos de perda de função.....	17
5.	Estratégias terapêuticas contra as mutações de p53 no tratamento dos carcinomas espinocelulares da cavidade oral.....	19
i.	Terapias convencionais.....	19
ii.	Terapias alvo.....	23
iii.	Imunoterapia.....	25
iv.	Terapias combinadas.....	26
6.	Discussão.....	27
III-	Conclusão	35
IV-	Referências bibliográficas	37

Listas de abreviaturas, siglas e acrónimos

5-FU	5-fluorouracilo
ADC	<i>Antibody-Drug Conjugates</i>
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
APAF-1	<i>Apoptotic Peptidase Activating Factor 1</i>
Células NK	<i>Células Natural Killer</i>
DBD	<i>DNA Binding Domain</i>
EGFR	<i>Epithelial Growth Factor Receptor</i>
FISH	Hibridação fluorescente <i>in situ</i>
HMGA2	<i>High Mobility Group AT-Hook 2</i>
HPV	Papilomavírus humano
HPV-	HPV-negativo
HPV+	HPV-positivo
Id-1	<i>Inhibitor of differentiation-1</i>
IFN- γ	Interferão Gama
IL	Interleucina
IL-1β	Interleucina-1 Beta
MDM2	<i>Murine Double Minute 2</i>
MPLA	<i>Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification</i>
NCCS	<i>National Comprehensive Cancer Network</i>
NGF	<i>Nerve Growth Factor</i>

NGS	Sequenciamento de Nova Geração
OMC	Observatório Mundial do Cancro
P53 WT	<i>p53 Wild Type</i>
PD-L1	<i>Programmed Death-Ligand 1</i>
TNF-α	<i>Tumor Necrosis Factor-Alpha</i>
TORS	<i>Transoral Robotic Surgery</i>
Treg	Linfócitos T reguladores
VUS	<i>Variants of Undetermined/Unknown Significance</i>
WES	<i>Whole Exome Sequencing</i>
WGS	<i>Whole Genome Sequencing</i>

I- Introdução

O carcinoma espinocelular da cabeça e do pescoço é um grupo de tumores malignos que se desenvolvem a partir das células escamosas que revestem os tecidos da cabeça e do pescoço, incluindo a cavidade oral, a faringe, a hipofaringe, a nasofaringe, a orofaringe, os lábios, a cavidade nasal, os seios paranasais e as glândulas salivares. Juntos, esses tumores constituem o sétimo diagnóstico de cancro mais frequente no mundo. Estes órgãos desempenham um papel essencial na respiração e na deglutição, bem como na filtragem e humidificação do ar inspirado (Barsouk *et al.*, 2023).

O carcinoma espinocelular oral, originado na mucosa oral, é uma das formas mais comuns de tumor maligno que afeta a região da cabeça e do pescoço. Conforme relatado pelo Observatório Mundial do Cancro (OMC), foram registados 377.713 casos de carcinomas espinocelulares orais em 2020, com a maioria dos casos a ocorrer na Ásia. Este tipo de carcinoma, que representa aproximadamente 90% dos cancros orais, afeta predominantemente homens de meia-idade e idosos, causando desfiguração e comprometendo funções vitais como a deglutição, a fala e o paladar, o que impacta profundamente a qualidade de vida dos pacientes. Além disso, estima-se que a incidência de carcinomas espinocelulares orais aumente cerca de 40% até 2040, acompanhada por um aumento na mortalidade (Tan *et al.*, 2023).

Os avanços no diagnóstico e no tratamento melhoraram significativamente a taxa de sobrevivência a cinco anos dos pacientes com carcinoma espinocelular oral, passando de 59% para 70% entre 1990 e 2011. Esta melhoria depende de vários fatores, tais como a localização anatómica do cancro, o seu estágio e grau, a idade no momento do diagnóstico, o tipo de tratamento recebido e a presença de comorbilidades. Geograficamente, a Ásia regista os percentuais mais elevados de diagnósticos (64,2%) e de mortalidade (73,3%), enquanto a Oceânia apresenta as taxas mais baixas (diagnósticos a 1,3% e mortalidade a 0,56%) (Chamoli *et al.*, 2021).

O carcinoma espinocelular oral pode surgir em qualquer local da mucosa, mas as localizações mais comuns são a língua e o pavimento da boca (De Carvalho Melo *et al.*, 2021). Clinicamente, o carcinoma espinocelular oral é identificado por uma lesão vermelha e branca ou vermelha, com uma superfície ligeiramente irregular e bordos nítidos. As lesões nos estágios iniciais são geralmente indolores, mas podem causar desconforto e mostrar características como ulceração, formação de nódulos e fixação dos

tecidos ao progredir. A ulceração, sintoma típico do carcinoma espinocelular oral, caracteriza-se por um pavimento e bordos irregulares e é dura à palpação. O bordo lateral posterior da língua é a localização mais frequentemente afetada pelo carcinoma espinocelular oral, representando cerca de 50% dos casos, seguida pelo pavimento da boca, o palato mole, as gengivas, a mucosa oral e o palato duro. O carcinoma espinocelular oral espalha-se principalmente para os gânglios linfáticos do mesmo lado do pescoço através do sistema linfático, mas também pode invadir os gânglios linfáticos do lado oposto ou de ambos os lados. As metástases do carcinoma espinocelular oral são frequentemente encontradas nos pulmões, ossos e fígado (Yunhan *et al.*, 2023).

O tabagismo e o consumo de álcool, isolados ou combinados, são os principais fatores de risco do carcinoma da cabeça e do pescoço, responsáveis por 72% dos casos quando combinados. Estes riscos variam consoante o sub-sítio: o tabagismo está particularmente associado ao cancro da laringe e o álcool aos cancros da cavidade oral e da orofaringe. Embora fatores como a alimentação, a higiene oral e o estatuto socioeconómico estejam também implicados, o seu papel exato está ainda por aprofundar, nomeadamente devido às limitações metodológicas dos estudos epidemiológicos disponíveis (Gormley *et al.*, 2022).

A infeção pelo papilomavírus humano (HPV), nomeadamente o do tipo 16, é um fator de risco significativo para o cancro da orofaringe, que é frequentemente transmitido por contacto oro-genital. No entanto, estudos recentes sugerem que o HPV-18 pode também estar envolvido em alguns carcinomas espinocelulares da orofaringe, particularmente em doentes de raça negra, sendo detetado mais frequentemente do que noutras raças. Ao contrário do HPV-16, que está geralmente associado à sobreexpressão de p16, um biomarcador de transformação oncogénica, a expressão de p16 nos cancros relacionados com o HPV-18 parece ser menor, o que torna mais difícil estabelecer o seu papel na progressão do tumor. Os carcinomas HPV-positivos (HPV+) estão frequentemente associados a um melhor prognóstico, com um risco de mortalidade 60% inferior ao dos casos HPV-negativos (HPV-), devido a uma maior radiosensibilidade e a uma melhor resposta imunitária. No entanto, a distinção entre HPV-16 e HPV-18 pode influenciar esses benefícios terapêuticos, uma vez que o HPV-18 pode não conferir a mesma radiosensibilidade que o HPV-16. Estas diferenças biológicas destacam a necessidade de otimizar as estratégias de diagnóstico e tratamento, incorporando análises específicas para cada subtipo de HPV. Além disso, estudos genéticos identificaram variantes no

cromossoma 6 associadas à proteção contra determinados carcinomas HPV-positivos, sugerindo um impacto variável dos diferentes subtipos na progressão tumoral. Assim, é fundamental que estudos epidemiológicos aprofundem o papel do HPV-18 nos carcinomas da cavidade oral e da orofaringe, avaliando a sua influência na evolução da doença e na resposta às terapias disponíveis (Gormley *et al.*, 2022; Sabatini & Chiocca, 2019).

O tabagismo continua a ser o principal fator de risco para o carcinoma espinocelular da cabeça e do pescoço, sendo responsável por 75% dos casos na Europa Ocidental e por 70% dos casos no Reino Unido de carcinoma espinocelular da cabeça e do pescoço e de cancro oral e faríngeo. Os fumadores de elevado número de cigarros têm 5 a 25 vezes mais probabilidades de desenvolver carcinoma espinocelular da cabeça e do pescoço do que os não fumadores. O consumo regular de tabaco de mascar está também associado a um risco acrescido de carcinoma espinocelular da cabeça e do pescoço e de cancros orais, reforçando a importância deste fator de risco em várias regiões geográficas (Barsouk *et al.*, 2023). Os produtos do tabaco sem combustão e outras substâncias carcinogénicas, como a *bétel quid* e a noz de areca, também aumentam significativamente este risco, com um impacto particularmente acentuado no Sul e Sudeste Asiático. Estas substâncias, classificadas como carcinogénicas do grupo 1, contêm carcinogénicos químicos que aumentam o risco de desenvolvimento de cancro oral nos seus utilizadores (Chamoli *et al.*, 2021).

A utilização de dispositivos para fumar partilhados, como cachimbos de tabaco ou cachimbos de água, pode ser um vetor de transmissão do HPV, um fator de risco reconhecido para os carcinomas espinocelulares da cavidade oral. Uma vez que o HPV está presente nas membranas mucosas orais, o contacto repetido entre um cachimbo contaminado e os lábios de vários utilizadores pode facilitar a sua transmissão. Um estudo salientou o facto de a partilha de dispositivos para fumar constituir uma via indireta de contaminação pelo HPV, devido à deposição de partículas virais na ponta do dispositivo e à sua transferência para outro indivíduo não infetado. Embora menos estudado do que a transmissão sexual, este modo de transmissão poderia desempenhar um papel no aumento da prevalência de cancros da cabeça e do pescoço relacionados com o HPV. A redução da partilha de cachimbos poderia, portanto, ser uma medida preventiva adicional contra a propagação do vírus e o desenvolvimento de patologias associadas (Zwenger, 2009).

Além disso, o álcool, classificado como agente cancerígeno do grupo 1 pela Agência Internacional de Investigação do Cancro, está associado a vários tipos de cancro, incluindo os da cavidade oral e da cabeça e do pescoço. Metabolizado em acetaldeído, uma substância mutagénica, promove mutações no ácido desoxirribonucleico (ADN) e torna as membranas mucosas mais sensíveis aos carcinogéneos. Quando combinado com o tabaco, o álcool aumenta em 35 vezes o risco de carcinoma oral, contribuindo para 72% dos casos globais de carcinoma espinocelular da cabeça e do pescoço, dos quais 35% estão associados ao consumo combinado. O consumo de álcool, responsável por 4% dos casos em não fumadores, representa um risco maior em consumidores pesados (>50g/dia) e de bebidas espirituosas. Além disso, variantes da enzima acetaldeído desidrogenase, comuns em populações asiáticas, estão associadas a um risco mais elevado de resistência à quimiorradioterapia e a um pior prognóstico (Chamoli *et al.*, 2021; Barsouk *et al.*, 2023).

Depois, conforme explica a *Canadian Cancer Society* (2024) e Kontomanolis *et al.* (2020), os genes relacionados com o cancro dividem-se em três grandes categorias que regulam o crescimento celular e cujas mutações podem levar ao desenvolvimento do cancro. Os oncogenes, que surgem de mutações em genes normais chamados proto-oncogenes, fazem com que as células cresçam fora de controlo. Normalmente, os proto-oncogenes funcionam como interruptores “*on-off*” que ativam o crescimento e a divisão celular apenas quando necessário. Os oncogenes, por sua vez, estão constantemente ativos, levando a uma proliferação celular desordenada. Os genes supressores de tumores, por outro lado, desempenham um papel protetor, abrandando o crescimento celular, corrigindo erros no ADN e desencadeando a apoptose, ou morte celular programada, quando necessário. No entanto, uma mutação nestes genes torna-os inativos, favorecendo assim uma divisão celular excessiva e o desenvolvimento potencial de cancro. Entre estes genes, o gene TP53 ocupa uma posição central. Como gene supressor de tumores, o TP53 controla o crescimento e a divisão celular, enviando sinais a outros genes para reparar o ADN danificado. Se o ADN não puder ser reparado, o TP53 bloqueia a divisão celular e ordena a morte da célula. Quando o TP53 sofre uma mutação, as células com ADN danificado começam a crescer e a dividir-se de forma desordenada. Estas mutações são particularmente comuns, ocorrendo em mais de 50% de todos os cancros. Por fim, os genes de reparação do ADN corrigem os erros que ocorrem durante a duplicação do ADN.

Se estes genes sofrerem mutações, perdem a capacidade de reparar anomalias nos oncogenes e nos genes supressores de tumores, aumentando assim o risco de cancro.

No entanto, a proteína p53, frequentemente referida como a guardiã do genoma, é um fator de transcrição essencial que regula a expressão de centenas de genes envolvidos nas respostas celulares ao *stress*. Considerada um mediador-chave, está envolvida numa variedade de stresses, como danos no ADN, stress oxidativo, hipóxia ou perturbações metabólicas, e determina o destino das células induzindo a paragem da proliferação, a reparação de danos, a senescência ou a morte celular. O seu papel vai para além destas funções clássicas, pois desempenha também um papel crucial na regulação do metabolismo energético e na adaptação das células às variações do seu ambiente, nomeadamente em termos de disponibilidade de nutrientes. No entanto, estas funções metabólicas, muitas vezes não transcricionais, são ainda mal conhecidas. Em cerca de 50% dos tumores humanos, o gene que codifica o p53, TP53, está mutado, enquanto na outra metade, as alterações afetam reguladores a montante ou a jusante, levando à sua inativação funcional. Desta forma, o p53 atua como um supressor tumoral fundamental, e a sua inativação promove o desenvolvimento tumoral, afetando não só a homeostase dos tecidos, mas também os processos associados ao envelhecimento (Lacroix *et al.*, 2013).

O objetivo deste trabalho será analisar criticamente a literatura sobre o impacto do gene P53 no prognóstico e tratamento dos carcinomas espinocelulares orais. O processo delineado será, em primeiro lugar, caracterizar a frequência e os tipos de mutações da proteína p53, de seguida explicar o impacto e o efeito das mutações nos carcinomas espinocelulares da cavidade oral e, finalmente, apresentar e discutir as estratégias terapêuticas contra as mutações de p53.

II- Desenvolvimento

1. Materiais e métodos

Para a realização desta revisão narrativa foram utilizadas as bases de dados digitais: *PubMed*, *ScienceDirect* e *Google Scholar*. A pesquisa bibliográfica foi terminada em 30 de novembro de 2024. A análise dos resultados da pesquisa bibliográfica foi efetuada entre 10 de novembro de 2024 e 15 de janeiro de 2025. As palavras-chaves utilizadas foram : “*oral squamous cell carcinoma*”, “*p53*”, “*head and neck squamous cell carcinoma*”, “*prognostic*” e “*treatment*”. Foram aplicados os marcadores “AND” e “OR”. Então, os algoritmos usados foram “*p53 AND (head and neck squamous cell carcinoma OR oral squamous cell carcinoma)*” e “*p53 AND (HNSCC OR OSCC) AND (prognosis OR treatment)*”. Foram estipulados critérios de inclusão, nomeadamente, artigos publicados nos últimos dez anos (2014-2024), em idioma inglês, em francês e português, contendo informação relevante sobre os carcinomas espinocelulares orais, a proteína p53 e suas mutações e as estratégias terapêuticas. A pesquisa englobou artigos com tipologia de revisões narrativas, revisões sistemáticas, meta-análises, sites governamentais e tese de doutoramento. Os critérios de exclusão são os artigos com resumos inacessíveis. Após aplicação dos critérios de inclusão e de exclusão, foram encontrados 23.292 artigos. Após leitura dos títulos e dos resumos, foram retiradas as duplicações e títulos não associados à temática abordada. Desta forma, o número de artigos foi reduzido para 1.004 artigos. Destes 1.004 artigos, 41 foram utilizados pela sua relevância, validade e enquadramento no tema a abordar. Além disso, 6 artigos publicados antes de 2014 foram adicionados, por serem artigos científicos fundamentais ao desenvolvimento do tema, o que totaliza 47 artigos.

2. Frequência e tipos de mutações de p53 nos carcinomas espinocelulares da cavidade oral

i. Metodologias para identificação de mutações

Em primeiro, o *Sequenciamento de Nova Geração* (NGS) revolucionou o campo da oncologia, oferecendo uma capacidade sem precedentes para analisar rápida e simultaneamente milhões de fragmentos de ADN. Ao contrário do sequenciamento tradicional de Sanger, o NGS elimina a necessidade de conhecer previamente a sequência alvo, permitindo uma análise genética de alta capacidade e uma cobertura genómica

ampla. Estas características fazem do NGS uma ferramenta essencial para o diagnóstico, classificação e gestão personalizada dos cancros. Em particular, transformou a nossa compreensão dos mecanismos moleculares de muitos cancros, incluindo o carcinoma espinocelular oral (Kamps *et al.*, 2017).

O NGS inclui abordagens como o *whole exome sequencing* (WES) e o *whole genome sequencing* (WGS). O WES foca-se exclusivamente nas regiões codificantes do genoma, que representam 1 a 2% do ADN total, mas contêm a maioria das mutações patogénicas conhecidas, enquanto o sequenciamento do genoma completo oferece uma visão global que inclui regiões não codificantes envolvidas na regulação genética e na oncogénese. Estas abordagens permitem não apenas identificar mutações somáticas e germinativas específicas, mas também detetar variações estruturais complexas, como duplicações, deleções, translocações e novas isoformas de transcrição. Estas capacidades expandem significativamente o campo de investigação dos mecanismos oncogénicos subjacentes a doenças como o carcinoma espinocelular oral (Kamps *et al.*, 2017).

O NGS distingue-se pela sua capacidade de identificar biomarcadores genéticos que orientam tratamentos direcionados. Por exemplo, a identificação de mutações em genes como TP53, PIK3CA e NOTCH1 permitiu uma melhor compreensão dos mecanismos tumorais complexos do carcinoma espinocelular oral. Estas descobertas orientam a escolha de terapias direcionadas ou imunoterapias, como os inibidores de pontos de controlo imunitário (pembrolizumab, nivolumab), com base nas assinaturas genéticas específicas. Além disso, o NGS contribui para a identificação de assinaturas genéticas associadas à sensibilidade ou resistência aos tratamentos, reforçando assim a medicina de precisão. Adicionalmente, microARNs (miRNAs) como miR-21, miR-375 e miR-486-5p, identificados através do NGS, oferecem perspectivas promissoras como biomarcadores diagnósticos ou prognósticos para detetar precocemente recidivas e monitorizar a progressão dos cancros (S. Kim *et al.*, 2020).

Apesar das suas numerosas vantagens, o NGS enfrenta limitações importantes. Os custos, embora em redução, continuam elevados, constituindo um obstáculo à sua generalização, especialmente em sistemas de saúde com recursos limitados. A interpretação de *variants of undetermined significance* (VUS), permanece um desafio, exigindo estudos funcionais adicionais para avaliar o seu impacto clínico. Além disso, a gestão dos vastos volumes de dados gerados pelo NGS requer infraestruturas avançadas de bioinformática e uma

expertise multidisciplinar para garantir uma análise e interpretação precisas dos resultados (Kamps *et al.*, 2017).

No futuro, os avanços tecnológicos e a contínua redução dos custos podem permitir uma adoção mais ampla do NGS na prática clínica. O desenvolvimento de algoritmos bioinformáticos automatizados o que pode facilitar a interpretação dos dados, enquanto a generalização do sequenciamento do WGS poderá oferecer oportunidades sem precedentes para uma melhor gestão e mais personalizada dos pacientes. Assim, o NGS representa um pilar essencial para responder aos desafios complexos do diagnóstico e tratamento em oncologia, melhorando os resultados clínicos e abrindo caminho para uma medicina verdadeiramente personalizada (Kamps *et al.*, 2017).

O *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification* (MLPA) é um método molecular semi-quantitativo utilizado para detetar variações do número de cópias de ADN, tais como deleções e duplicações em genes alvo (CHUV Laboratoire d'oncogénomique, 2020). A técnica baseia-se na utilização de sondas fluorescentes específicas que hibridizam com sequências precisas do ADN alvo. Após a extração e a desnaturação do ADN, as sondas adjacentes hibridizam com as suas sequências-alvo e são ligadas por uma ligase apenas se a hibridação for perfeita (Coutton *et al.*, 2012).

Os fragmentos ligados são então amplificados por PCR multiplex, permitindo a deteção simultânea de vários *loci* numa única reação. Os produtos amplificados são depois analisados por eletroforese capilar, onde os sinais fluorescentes são medidos e comparados com uma amostra de referência para determinar variações no número de cópias de ADN (Deepha *et al.*, 2017). A presença de sondas adicionais indica duplicação, enquanto a sua ausência indica eliminação (CHUV Laboratoire d'oncogénomique, 2020).

A normalização dos sinais fluorescentes com um controlo saudável garante a fiabilidade dos resultados e permite uma quantificação precisa das variações genéticas (Coutton *et al.*, 2012). Esta capacidade de analisar várias regiões genómicas simultaneamente numa única experiência faz do MLPA uma ferramenta robusta e eficaz para o diagnóstico molecular (Deepha *et al.*, 2017).

Então, o MLPA é um método de deteção de anomalias genéticas, nomeadamente deleções e duplicações, por vezes inacessíveis a técnicas como o NGS ou chips de ADN. Este facto torna-o um método complementar ao NGS em contextos em que se sabe da existência de tais alterações (CHUV Laboratoire d'oncogénomique, 2020).

Entre as suas vantagens, o MLPA é uma técnica rápida, sensível e pouco dispendiosa, capaz de analisar até 45 *loci* simultaneamente numa única experiência. É particularmente útil em contextos clínicos para identificar eficientemente deleções, duplicações ou mosaicos, especialmente em oncogenética e farmacogenómica, graças à sua flexibilidade e à utilização de sondas sintéticas adaptáveis (Coutton *et al.*, 2012).

Além disso, o seu custo relativamente baixo e a sua robustez fazem dela uma ferramenta amplamente utilizada em aplicações clínicas, onde pode abranger um grande número de locais genómicos numa única análise (Deepa *et al.*, 2017).

Embora o MLPA seja uma técnica eficaz para detetar deleções e duplicações, tem alguns inconvenientes. A capacidade de multiplexagem é limitada a cerca de vinte *loci* quando são utilizadas sondas sintéticas, que são mais curtas do que as sondas comerciais. Além disso, os polimorfismos localizados perto dos locais de ligação podem levar a resultados falsos positivos, e a qualidade do ADN extraído é crucial para garantir o desempenho da polimerase (Coutton *et al.*, 2012).

A técnica também apresenta uma sensibilidade limitada para determinados tipos de variação genética, como mutações pontuais ou pequenas inserções/deleções. As variações nos locais de ligação da sonda podem gerar falsos positivos ou negativos, afetando a precisão dos resultados (Deepa *et al.*, 2017).

Por último, o MLPA tem um limiar de deteção de aproximadamente 30%, o que o torna ineficaz para identificar anomalias com baixas frequências alélicas abaixo deste limiar. Este facto limita a sua aplicação em casos de mosaicos ou mutações com baixa abundância nas amostras (CHUV Laboratoire d'oncogénomique, 2020).

Por fim, o MLPA tem algumas limitações específicas. Esta técnica não é adequada para analisar rearranjos complexos, necessitando nestas situações de abordagens complementares como o NGS ou a sequenciação Sanger dirigida para refinar o diagnóstico (Deepa *et al.*, 2017).

Finalmente, a implementação do MLPA pode ser complexa para laboratórios sem experiência, devido a constrangimentos relacionados com a modelação da sonda e os parâmetros bioquímicos específicos que têm de ser dominados (Coutton *et al.*, 2012). Estas limitações realçam a importância de combinar o MLPA com outros métodos de diagnóstico para obter uma correlação mais exata entre o genótipo e o fenótipo, melhorando assim a precisão do diagnóstico molecular (Deepa *et al.*, 2017).

A hibridação fluorescente *in situ* (FISH) é uma técnica molecular essencial para a análise orientada de regiões específicas dos cromossomas. Baseia-se na utilização de sondas fluorescentes que se hibridizam com as sequências de ADN de interesse, em cromossomas metafásicos ou em núcleos interfásicos. A FISH pode assim ser utilizada para detetar anomalias genéticas, quer se trate de aneuploidias (totais ou parciais), de translocações ou de rearranjos equilibrados. São utilizados três tipos principais de sondas: sondas “*breakapart*”, para identificar rearranjos dentro de um gene; sondas “*dual fusion*”, para detetar rearranjos entre dois genes; e sondas “*gain/loss*”, para analisar duplicações ou deleções cromossómicas (CHUV Laboratoire d'oncogénomique, 2020).

O protocolo de FISH envolve várias etapas. Uma vez preparadas as amostras (frescas, congeladas ou fixadas em parafina), as sondas fluorescentes são hibridizadas com as regiões-alvo do ADN. Os sinais gerados são então visualizados através de um microscópio de fluorescência, permitindo a análise direta e precisa de anomalias específicas (Marrano *et al.*, 2018). Este método é compatível com uma variedade de tipos de amostras, incluindo tecidos fixados ou arquivados, alargando a sua aplicação clínica (Khatri *et al.*, 2018).

Entre as suas vantagens, a FISH oferece alta precisão e sensibilidade, particularmente útil para detetar anormalidades genéticas, como translocações, duplicações ou deleções. Permite uma análise direta a nível celular e fornece resultados rápidos, adequados para decisões clínicas urgentes. Além disso, a sua versatilidade permite a sua utilização numa variedade de contextos de diagnóstico, com adaptabilidade a necessidades específicas graças à escolha de sondas (Catherwood *et al.*, 2019; Marrano *et al.*, 2018).

No entanto, a FISH tem algumas limitações. Requer sondas específicas e equipamento especializado, o que a torna relativamente dispendiosa. Além disso, o seu protocolo exige um conhecimento técnico aprofundado para garantir resultados fiáveis. O seu alcance continua a ser limitado, uma vez que não permite uma análise global do genoma e apenas deteta anomalias específicas para as quais as sondas foram concebidas (Khatri *et al.*, 2018; Marrano *et al.*, 2018). Além disso, a qualidade da amostra pode afetar os resultados: os sinais podem ser fracos ou ambíguos no caso de tecidos mal fixados ou degradados (Catherwood *et al.*, 2019).

A FISH tem muitas aplicações clínicas e não só. É utilizada para diagnosticar anomalias cromossómicas específicas, como deleções ou translocações, e para confirmar resultados

detetados por outros métodos. A sua compatibilidade com tecidos fixados e arquivados significa que pode ser utilizada mesmo na ausência de amostras frescas. Complementando abordagens moleculares como o NGS, a FISH proporciona uma análise direcionada e aprofundada (Khatri *et al.*, 2018; Marrano *et al.*, 2018).

A tecnologia FISH desempenha um papel fundamental na análise de anomalias no TP53. As deleções da região cromossômica 17p, onde se localiza o TP53, podem ser eficazmente identificadas utilizando sondas específicas. Estas deleções, frequentemente associadas a mutações do TP53, estão correlacionadas com o aumento da instabilidade genómica e um mau prognóstico (Khatri *et al.*, 2018). Além disso, a FISH permite a deteção de rearranjos cromossômicos ou perdas de genes envolvendo o TP53, contribuindo para uma melhor compreensão dos mecanismos oncogénicos subjacentes (Marrano *et al.*, 2018).

Em oncologia, a utilização da FISH para análise do TP53 ajuda a orientar as decisões terapêuticas. Por exemplo, as anomalias do TP53 detetadas por FISH podem identificar subgrupos de doentes suscetíveis de beneficiar de terapias direcionadas ou abordagens alternativas, particularmente quando as opções convencionais, como a quimioterapia, mostram eficácia reduzida na presença de alterações do TP53. Esta complementaridade entre a e outras técnicas de análise molecular permite melhorar a gestão dos doentes e personalizar as estratégias terapêuticas (Catherwood *et al.*, 2019).

Em conclusão, a FISH é um método essencial para a análise de anomalias genéticas direcionadas. Apesar das suas limitações em termos de custo e de alcance, continua a ser uma ferramenta fiável e versátil para o diagnóstico molecular. Quando integrado em estratégias multidimensionais, aumenta a precisão das análises genéticas e otimiza a gestão clínica (Catherwood *et al.*, 2019).

ii. Dados epidemiológicos

Conforme a *International Agency for Research on Cancer* (2022), o carcinoma espinocelular da cabeça e pescoço é o quinto cancro mais comum no mundo, com cerca de 940.000 novos casos e 480.000 mortes por ano, de acordo com o GLOBOCAN 2022.

Este grupo de cancros inclui locais da cavidade oral, laringe, orofaringe e outras estruturas da cabeça e do pescoço. A incidência varia consoante a região geográfica: é particularmente elevada no Sudeste Asiático, na Europa Central e na América do Sul, onde os principais fatores de risco continuam a ser o tabaco e o álcool. No entanto, nos

países ocidentais, a infecção pelo HPV está em vias de ultrapassar o do tabagismo como principal fator etiológico, particularmente no caso dos cânceros da orofaringe (Barsouk *et al.*, 2023).

A nível mundial, a incidência de carcinomas espinocelulares da cabeça e pescoço continua a aumentar, prevendo-se um aumento anual de 30% até 2030. Esta tendência é particularmente acentuada nos países em desenvolvimento, onde os estilos de vida que favorecem o consumo de tabaco e álcool continuam a ser predominantes. Nos países desenvolvidos, observa-se também um aumento entre as mulheres e as gerações mais jovens, frequentemente associado a mudanças culturais no que respeita ao consumo de álcool e à prevalência crescente do HPV. Em geral, os homens são duas a quatro vezes mais afetados do que as mulheres, e o risco aumenta significativamente com a idade (Gormley *et al.*, 2022).

As assimetrias socioeconómicas e os comportamentos de risco influenciam fortemente a distribuição e a sobrevivência dos doentes com carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço. Deve ser dada especial atenção a intervenções específicas, incluindo a vacinação contra o HPV e campanhas de prevenção destinadas a reduzir os comportamentos de risco, para contrariar esta progressão (Barsouk *et al.*, 2023; Gormley *et al.*, 2022).

iii. Tipos de mutações

As mutações são alterações permanentes na sequência do ADN que podem alterar a função dos genes e modificar as proteínas que estes codificam. As mutações genéticas podem ser classificadas em várias categorias, de acordo com a sua natureza e mecanismos. Estas dividem-se principalmente em duas categorias principais: mutações de substituição e mutações de deslocação (Association KJER France, 2015; Hanna *et al.*, 2005).

As substituições nucleotídicas ou mutações de substituição, que representam cerca de 70% das mutações, dividem-se em transições, mudança de uma base por outra da mesma natureza, como uma purina por outra purina, e transversões, substituição de uma purina por uma pirimidina ou inversamente. Estas mutações podem resultar de erros durante a replicação do ADN ou da exposição a agentes mutagénicos (Hanna *et al.*, 2005). As mutações de substituição ocorrem quando um nucleótido é substituído por outro. É possível distinguir entre mutações missense, que modificam o códon e levam à substituição de um aminoácido por outro na proteína, alterando potencialmente a sua

função; mutações nonsense, em que um códon é transformado num códon de paragem, interrompendo prematuramente a síntese protéica, tornando-a frequentemente não funcional; e mutações silenciosas, que, embora alterem um nucleótido, não têm qualquer efeito na proteína produzida, porque o novo aminoácido codificado é idêntico ou funcionalmente equivalente (Association KJER France, 2015).

As mutações de deslocação, que constituem cerca de 25% das mutações, podem causar um desvio no quadro de leitura, conduzindo frequentemente a proteínas truncadas e não funcionais (Hanna *et al.*, 2005). Incluem inserções, em que um ou mais nucleótidos são adicionados, deslocando assim os codões subsequentes e alterando a proteína resultante; deleções, que consistem na perda de nucleótidos, causando um deslocamento do quadro de leitura e potencialmente o aparecimento de sinais de paragem prematuros; e duplicações, em que um segmento de ADN é repetido, perturbando também a síntese proteica normal (Association KJER France, 2015). As grandes alterações genéticas, como duplicações, inversões ou translocações, alteram o genoma de forma mais ampla e podem afetar vários genes em simultâneo. As mutações dinâmicas, que envolvem repetições de sequências específicas, são comuns nas doenças neurodegenerativas e caracterizam-se pela sua instabilidade durante a transmissão genética. Mecanismos raros, como a inserção de elementos transponíveis ou a conversão de genes, também desempenham um papel no aparecimento de certas mutações patogénicas. Estes diferentes tipos de mutações, que afetam as regiões codificantes ou não codificantes do ADN, têm consequências variáveis na expressão dos genes e na função das proteínas associadas (Hanna *et al.*, 2005).

Estas mutações podem, portanto, perturbar gravemente as funções celulares, produzindo proteínas defeituosas ou impedindo a sua produção, o que pode favorecer processos patológicos como o desenvolvimento do cancro (Association KJER France, 2015).

No contexto do gene TP53, as mutações mais comuns são missense (75% dos casos) e nonsense (10% dos casos), afetando principalmente o domínio de ligação ao ADN. As mutações *missense* alteram a conformação da proteína p53, interrompendo a sua capacidade de ativar genes envolvidos na paragem do ciclo celular ou na apoptose. Algumas mutações missense também conferem propriedades oncogénicas à p53 mutada, como a inibição de p63 e p73 ou a ativação de vias que promovem a proliferação celular. As mutações *nonsense*, por outro lado, geram proteínas truncadas, instáveis e rapidamente degradadas, acentuando a perda de função. Embora estas mutações sejam específicas do

TP53, fazem parte dos mecanismos genéticos mais gerais responsáveis pela gênese tumoral (Bykov *et al.*, 2017).

3. Impacto das mutações no gene p53 nos carcinomas espinocelulares da cavidade oral

i. Efeito das mutações na função da proteína p53

As mutações no gene TP53, comuns nos carcinomas espinocelulares da cavidade oral, afetam a função da proteína p53 através de dois mecanismos principais: perda de função e ganho de função. As mutações de tipo *perda de função* desativam as funções supressoras da p53, impedindo a paragem do ciclo celular, a reparação do ADN e a apoptose. Isto promove a instabilidade genómica e permite que as células tumorais se multipliquem sem controlo. Estas mutações afetam frequentemente o domínio de ligação ao ADN, impedindo a ativação de genes essenciais para limitar o crescimento tumoral (Alvarado-Ortiz *et al.*, 2021; Marei *et al.*, 2021).

As mutações do tipo *ganho de função*, por outro lado, conferem ao p53 propriedades oncogénicas. Estas mutações, como as dos *hotspots* R175, R248 e R273, modificam as interações da p53 com outras proteínas, promovendo a proliferação, a invasão e a metástase. Estimulam também a reprogramação metabólica, como o efeito Warburg, que permite às células tumorais utilizarem mais glucose para se desenvolverem. Além disso, estas mutações ajudam as células tumorais a fugir ao sistema imunitário, aumentando moléculas como a *Programmed death-ligand 1* (PD-L1), que reduzem a atividade das células imunitárias (Alvarado-Ortiz *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2020).

Estas mutações também complicam o tratamento, uma vez que aumentam a resistência à quimioterapia e à radioterapia. Por exemplo, certas mutações inibem os mecanismos de apoptose, limitando a eficácia das terapias convencionais. Isto realça a importância de visar as mutações TP53 para desenvolver tratamentos mais eficazes, em particular com compostos que restauram a função normal do p53 ou inibem os seus efeitos oncogénicos (Marei *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2020).

ii. Prognóstico

O prognóstico dos doentes com carcinoma espinocelular da cavidade oral está intimamente ligado às alterações genéticas, incluindo mutações no gene p53, bem como

a fatores clínicos, patológicos e biológicos. As mutações no p53 contribuem para a progressão tumoral, influenciando a angiogénese, a invasão perineural e o crescimento tumoral, fatores que estão associados a metástases e a um pior prognóstico. Por exemplo, a invasão perineural, detetada em 17,4% dos casos, correlaciona-se com níveis elevados de *Nerve Growth Factor* (NGF) e tirosina quinase, exacerbando a agressividade do tumor. Biomarcadores como *High Mobility Group AT-Hook2* (HMGA2), *Inhibitor of differentiation* (Id-1) e p16 ajudam a refinar a avaliação prognóstica. Tumores HPV+, frequentemente associados a baixos níveis de mutações no p53, apresentam melhor prognóstico devido à maior resposta ao tratamento e menor risco de recorrência. Por outro lado, tumores HPV-, ligados a mutações de p53, têm pior evolução clínica. A sobrevivência aos 5 anos varia com o estágio clínico: 79,8% em estádios iniciais e 53,9% em estádios avançados. Estes dados sublinham a importância do diagnóstico precoce e do tratamento multidisciplinar, sendo o impacto das mutações de p53 um dos principais fatores determinantes na evolução clínica destes pacientes (Tan *et al.*, 2023).

4. Efeitos das mutações de ganho de função e perda de função de p53 na progressão tumoral

i. Mecanismos de ganho de função

As mutações de ganho de função modificam o gene ou a proteína, ampliando uma função existente ou conferindo uma nova atividade. Dividem-se em duas categorias principais: os alelos hipermórficos, que aumentam a produção ou a atividade da proteína, e os alelos neomórficos, que conferem uma função totalmente nova à proteína (Hanna *et al.*, 2005).

As mutações de ganho de função no gene TP53 transformam a proteína p53 num agente ativo na progressão do tumor. Ao contrário das mutações de perda de função, que inativam a proteína p53, as mutações de ganho de função conferem à proteína p53 novas propriedades oncogénicas que aumentam a sobrevivência e a agressividade das células cancerosas. Estas mutações têm vários efeitos deletérios nos processos tumorais (Zhou *et al.*, 2016).

Em primeiro lugar, a proteína p53 mutada pode perturbar os mecanismos de reparação do ADN, agravando os erros genéticos e contribuindo para a instabilidade genómica. Este facto desempenha um papel importante na acumulação de mutações adicionais, tornando as células tumorais ainda mais agressivas. Em segundo lugar, as células que expressam a

p53 mutada tornam-se menos sensíveis à quimioterapia e à radioterapia, o que dificulta a sua eliminação e reduz a eficácia dos tratamentos. Além disso, o p53 mutado favorece a migração e a invasão das células cancerosas, aumentando a sua capacidade de metastização. Estes efeitos são amplificados por interações específicas entre a p53 mutada e outras proteínas ou fatores de transcrição. Por último, a proteína mutada está envolvida em modificações epigenéticas que alteram a expressão de outros genes. Estas alterações permitem que as células tumorais se adaptem a ambientes hostis, promovendo o seu crescimento e sobrevivência em condições desfavoráveis (Zhou *et al.*, 2016).

Em alguns casos, estas mutações resultam num ganho de função tóxica, em que as propriedades recém-adquiridas da proteína se tornam prejudiciais para as células. Estas mutações podem ter um impacto significativo, alterando o equilíbrio celular e promovendo processos patológicos, como o aumento da proliferação ou a resistência aos mecanismos de regulação celular (Hanna *et al.*, 2005).

Assim, no carcinoma espinocelular da cabeça e do pescoço, estas mutações de ganho de função no TP53 agravam significativamente o prognóstico, tornando as células tumorais não só mais difíceis de tratar, mas também capazes de contornar os mecanismos naturais de supressão tumoral. Esta combinação de efeitos contribui para a aceleração da progressão do tumor e para uma resposta terapêutica menos eficaz, realçando a importância destas mutações no agravamento da doença (Zhou *et al.*, 2016).

ii. Mecanismos de perda de função

As mutações de perda de função resultam numa redução ou ausência total da atividade da proteína codificada pelo gene. Estas mutações podem ser de dois tipos principais: alelos amorfos, que resultam numa perda completa de expressão ou na produção de uma proteína totalmente inativa, e alelos hipomórficos, que permitem uma expressão parcial ou uma atividade reduzida da proteína. Esta atividade reduzida pode alterar algumas funções biológicas, mantendo uma atividade mínima (Hanna *et al.*, 2005).

Então, as mutações no gene p53 conduzem principalmente a uma perda das funções normais da proteína p53, conhecida como p53 de *wild type* (p53 WT), o que constitui uma grande vantagem para o desenvolvimento de tumores ao privar as células dos seus mecanismos de defesa anti tumoral, como a paragem do ciclo celular e a apoptose. A maioria das mutações que afetam o *DNA binding domain* (DBD) do p53 reduzem ou impedem a sua interação com as sequências de ADN alvo, alterando assim a sua

capacidade de transcrição. Em particular, esta deficiência perturba a indução de p21, que é essencial para a paragem do ciclo celular em resposta a danos no ADN. Na ausência desta regulação, as células cancerosas escapam a estes mecanismos e continuam a proliferar apesar da sua instabilidade genética (Chollat-Namy, 2021).

Além disso, a perda da função transcricional do p53 impede a sua regulação negativa pelo *Murine Double Minute 2* (MDM2), levando a uma acumulação de p53 mutado nas células tumorais. Em condições normais, o p53 WT ativa a expressão de proteínas pró-apoptóticas como Bid, Noxa, Bax, Bak, Puma e APAF-1, ao mesmo tempo que reprime proteínas anti-apoptóticas como Bcl-2 e survivina. Por conseguinte, as mutações perturbam estas funções, bloqueando a indução da apoptose e favorecendo a sobrevivência das células cancerosas. Adicionalmente, ao inibir a formação de complexos com Bcl-xL a nível mitocondrial, o p53 WT deixa de poder induzir a apoptose por esta via. Assim, a perda da capacidade do p53 de iniciar a apoptose favorece a sobrevivência das células danificadas, mesmo quando estas apresentam danos extensos no ADN, conferindo uma vantagem seletiva significativa às células cancerosas. Esta perda de função é um passo crucial no processo de carcinogénese. No entanto, certas mutações podem alterar seletivamente a capacidade do p53 de induzir a paragem do ciclo celular ou a apoptose, sem afetar a outra função (Chollat-Namy, 2021).

Por outro lado, a acumulação de p53 WT no citoplasma pode dificultar o processo de autofagia, promovendo assim a sobrevivência celular (Rodriguez *et al.*, 2012). Em contrapartida, algumas mutações do p53, como a K382R, anulam a capacidade do p53 de exercer o seu papel inibitório no processo de autofagia (Morselli *et al.*, 2011).

Do mesmo modo, dado que o p53 desempenha um papel fundamental na resposta aos danos no ADN, as suas mutações podem também perturbar os mecanismos celulares de reparação do ADN. Isto é particularmente observado em células homocigóticas para mutações da p53, como as da síndrome de Li-Fraumeni, que apresentam deficiências acentuadas na reparação do ADN (Chollat-Namy, 2021). De forma semelhante, dado o papel do p53 na supressão de tumores através da indução da senescência, as mutações do p53 perturbam estes mecanismos de senescência nas células cancerosas, facilitando a sua proliferação (Qian & Chen, 2013).

5. Estratégias terapêuticas contra as mutações de p53 no tratamento dos carcinomas espinocelulares da cavidade oral

i. Terapias convencionais

O tratamento do carcinoma espinocelular da cabeça e pescoço baseia-se numa possível combinação de cirurgia, radioterapia e quimioterapia, dependendo do estágio TNM e do local do tumor primário. No entanto, as mutações no gene p53, frequentemente observadas nestes carcinomas, podem afetar significativamente a eficácia destas terapias, influenciando a resposta aos danos celulares e os mecanismos de apoptose. Aproximadamente 40% dos doentes têm uma doença limitada ou em estágio inicial (estádios I e II), normalmente tratada apenas com cirurgia ou radioterapia. Para os doentes com doença localmente avançada (estádios III e IV A/B), ressecável ou não, o tratamento padrão inclui quimiorradioterapia à base de platina, com ou sem quimioterapia de indução como terapêutica sequencial (Marur & Forastiere, 2016; Zhou *et al.*, 2016).

No caso de doença metastática, a quimioterapia combinada é preferida para os doentes em bom estado geral, enquanto a quimioterapia de agente único ou os melhores cuidados de suporte são considerados para os doentes em estado geral mais deteriorado. Mas, no caso de recidiva local ou regional, a escolha do tratamento depende de fatores como o local da recidiva, a carga tumoral e os tratamentos anteriores. As opções incluem cirurgia de resgate, radioterapia ou re-irradiação combinada com quimioterapia, ou quimioterapia isolada se as opções cirúrgicas ou radioterapêuticas não forem viáveis. Estes tratamentos, quer sejam cirúrgicos ou não cirúrgicos, são frequentemente acompanhados de toxicidade, levando a um certo grau de disfunção orgânica a longo prazo, que é frequentemente significativo (Marur & Forastiere, 2016).

Em primeiro, a cirurgia é o principal tratamento para o carcinoma espinocelular da cavidade oral, sendo utilizada tanto em estádios iniciais como avançados. É frequentemente combinada com radioterapia e/ou quimioterapia para tratar características patológicas desfavoráveis, como margens positivas, margens estreitas, invasão perineural, vascular e linfática (Chamoli *et al.*, 2021).

A cirurgia curativa primária para o carcinoma espinocelular da cabeça e pescoço está reservada para tumores ressecáveis que permitem a obtenção de margens saudáveis, preservando as funções essenciais. Dependendo da anatomia e das características do tumor, é preferível recorrer à cirurgia aberta convencional ou a técnicas minimamente

invasivas, como a *transoral robotic surgery* (TORS) ou a cirurgia laser. Estas últimas limitam os riscos de deformidades estéticas e problemas funcionais, tornando-as opções frequentemente preferidas por doentes jovens e saudáveis com cancro HPV+. Atualmente, a cirurgia robótica transoral está a emergir como uma alternativa à quimiorradioterapia, oferecendo uma abordagem de preservação funcional com ou sem dissecação cervical (Marur & Forastiere, 2016).

Em mãos experientes, provou ser eficaz e segura para carcinoma espinocelular da cabeça e pescoço bem selecionados. Estão a decorrer ensaios clínicos para avaliar melhor a sua eficácia e a da TORS a laser (Marur & Forastiere, 2016). Os avanços nas técnicas de ressecção minimamente invasivas, como a ressecção robótica transoral, a cirurgia laser e a laringectomia parcial com preservação da laringe, combinados com métodos de reconstrução melhorados, alargaram as possibilidades de tratamento cirúrgico primário sob a direção de cirurgiões oncológicos especializados em patologias da cabeça e do pescoço (Johnson *et al.*, 2020).

Além disso, os carcinomas espinocelulares da cabeça e do pescoço afetam vários locais anatómicos, o que pode levar a variações nas abordagens de tratamento, dependendo da localização. Em geral, os tratamentos são adaptados ao estágio da doença. Nos estádios iniciais (estádios I ou II), o tratamento baseia-se principalmente na cirurgia ou na radioterapia. Se forem identificadas características desfavoráveis após a ressecção, é recomendada a radioterapia adjuvante com ou sem quimioterapia. Para os estádios avançados (estádios III ou IV A/B), o tratamento combina geralmente cirurgia seguida de radioterapia pós-operatória ou quimiorradioterapia em casos com fatores de risco elevados, como a extensão extracapsular ou margens cirúrgicas incompletas. A quimiorradioterapia concomitante está indicada para doentes inoperáveis, quando se pretende a preservação de órgãos ou quando a cirurgia é considerada demasiado mutilante. Os cancros em estágio IV C são geridos principalmente de acordo com o estado de desempenho e capacitação do doente e as suas comorbilidades, que podem exigir tratamentos paliativos locais ou sistémicos (De Bakker *et al.*, 2022).

Depois, a radioterapia é um componente essencial das terapias convencionais para os carcinomas espinocelulares da cavidade oral, sendo frequentemente administrada após a cirurgia. Esta opção terapêutica explica-se pela impossibilidade de remover cirurgicamente os tecidos irradiados e pela reduzida eficácia da regeneração devido à fibrose dos tecidos. A decisão de utilizar a radioterapia no local primário depende de

vários fatores, incluindo o tamanho do tumor, a presença de margens cirúrgicas positivas e a invasão perineural, linfática ou vascular. Além disso, é prática comum tratar a região cervical para reduzir o risco de metástases e recidiva, particularmente nos gânglios linfáticos com disseminação extracapsular. De acordo com as recomendações, a radioterapia deve ser iniciada no prazo de seis semanas após a cirurgia, com uma dose cumulativa padrão de cerca de 60 Gy, ajustada de acordo com as características individuais de cada doente (Tan *et al.*, 2023).

A radioterapia desempenha um papel crucial no tratamento do carcinoma oral, particularmente numa fase inicial (pT1-pT2 com envolvimento nodal N1). Pode ser administrada isoladamente ou em combinação com cirurgia e/ou quimioterapia, conforme recomendado pelas diretrizes da *National Comprehensive Cancer Network* (NCCN). Uma abordagem comum consiste em administrar uma dose diária fracionada de raios gama, que varia entre 1,8 e 2 Gy, para atingir progressivamente uma dose total de 66 a 72 Gy, necessária para eliminar eficazmente as células tumorais. O mecanismo de ação baseia-se na destruição do ADN das células cancerosas, o que impede a sua proliferação e conduz à sua morte programada (Chamoli *et al.*, 2021). No entanto, mutações no gene p53, que regula os mecanismos de reparação do ADN e apoptose, podem comprometer a eficácia da radioterapia em alguns doentes, conduzindo a uma maior resistência tumoral e a um prognóstico desfavorável (Zhou *et al.*, 2016).

A quimiorradioterapia definitiva é uma abordagem terapêutica importante para os doentes com carcinoma espinocelular da cabeça e pescoço avançado ($\geq T3$) ou com envolvimento linfonodal extenso, particularmente quando as opções cirúrgicas não são adequadas ou para preservar a função essencial. Esta estratégia combina radioterapia e quimioterapia, com cisplatina administrada numa dose padrão de 100 mg/m² de três em três semanas. Este protocolo oferece uma sobrevida global a três anos de 37%, nomeadamente nos doentes HPV-. Para doentes com contraindicação para doses elevadas de cisplatina, como perda auditiva pré-existente ou insuficiência renal, doses semanais reduzidas de 40 mg/m² podem proporcionar resultados de eficácia semelhantes (Johnson *et al.*, 2020).

Para o tratamento do carcinoma espinocelular da cabeça e pescoço localmente avançado, a radioterapia é normalmente utilizada como adjuvante da cirurgia ou em combinação com quimioterapia, com doses que variam entre 60 e 70 Gy, consoante seja utilizada como tratamento adjuvante ou como tratamento curativo inicial. No entanto, as doses superiores a 55 Gy aumentam o risco de toxicidades tardias, incluindo xerostomia,

disfagia, dependência de um tubo de gastrostomia, aspiração crónica e hipotireoidismo, sobretudo por afetarem as glândulas salivares, os músculos constritores da faringe e a glândula tiroide (Marur & Forastiere, 2016).

Em doentes com características patológicas associadas a um risco elevado de recorrência, como a extensão extracapsular, margens cirúrgicas estreitas ou invasivas ou invasão perineural, a combinação de quimioterapia de alta dose à base de cisplatina com radioterapia melhora significativamente a sobrevivência livre de doença e a sobrevivência global. Contudo, esta abordagem trimodal, que combina cirurgia, radioterapia e quimioterapia, conduz a um aumento das toxicidades tardias, incluindo disfagia crónica, um risco acrescido de aspiração e mortalidade não relacionada com o cancro. Por conseguinte, uma avaliação exata da extensão da doença, incluindo a deteção da extensão extracapsular, é essencial antes de iniciar o tratamento definitivo para limitar as complicações desnecessárias e maximizar o benefício terapêutico (Johnson *et al.*, 2020).

Os mais recentes avanços na radioterapia conformada com modulação da intensidade marcaram um avanço significativo no tratamento dos carcinomas espinocelulares da cabeça e do pescoço. Esta técnica permite administrar doses precisas, poupando estruturas sensíveis como as glândulas salivares, reduzindo assim a xerostomia e melhorando a qualidade de vida dos pacientes. No entanto, apesar das suas vantagens, a aplicação de restrições de dose aos músculos constritores da faringe continua a ser um desafio, particularmente no tratamento dos cancros da orofaringe, onde ainda podem ocorrer efeitos secundários persistentes, como a aspiração, a disfagia e a dependência de um tubo de gastrostomia percutânea. Estão a ser exploradas estratégias de desintensificação da dose para doentes com baixo risco de recorrência, oferecendo a esperança de minimizar ainda mais os efeitos tardios sem comprometer a eficácia terapêutica (Marur & Forastiere, 2016).

Por fim, a quimioterapia é um pilar essencial no tratamento dos carcinomas espinocelulares orais, especialmente quando combinada com radioterapia para tumores avançados com margens positivas, extensão extracapsular ou em estádios avançados (pT3-pT4a). Estes tratamentos baseiam-se em agentes citotóxicos, como a cisplatina, o carboplatina e o 5-fluorouracilo (5-FU), que danificam o ADN das células tumorais ou induzem a sua morte por apoptose. No entanto, as mutações em p53, que perturbam os mecanismos de morte celular programada, podem reduzir a eficácia da quimioterapia, tornando essencial o desenvolvimento de abordagens terapêuticas direcionadas. Então, o

5-FU interfere na síntese de ADN, enquanto o docétaxel bloqueia a divisão celular, reforçando assim a eficácia global do tratamento (Chamoli *et al.*, 2021; Zhou *et al.*, 2016).

A combinação de quimioterapia e radioterapia tornou-se uma estratégia de eleição para cânceros localmente avançados ou com fatores de risco patológicos. A administração de cisplatina em dose elevada com radioterapia melhora significativamente a sobrevivência livre de doença e a sobrevivência global, embora doses semanais reduzidas de cisplatina possam ser consideradas para pacientes mais frágeis. Agentes direcionados a vias oncogénicas, como o cetuximab, também oferecem benefícios, embora variem consoante os casos. Estas inovações, aliadas a uma abordagem multidisciplinar, são fundamentais para otimizar os resultados, minimizando as toxicidades tardias (Johnson *et al.*, 2020).

Além disso, novas moléculas direcionadas a vias oncogénicas específicas mostram um potencial promissor. Por exemplo, o cetuximab, um inibidor do *Epithelial Growth Factor Receptor* (EGFR), e compostos como o NVP-BEZ235 (que inibe PI3K/AKT/mTOR) ou o PRI-724 (que perturba Wnt/ β -catenina) abrem perspectivas para tratamentos mais eficazes e menos invasivos. Estas inovações, embora ainda em fase experimental, destacam a rápida evolução das terapias convencionais e direcionadas para o tratamento de carcinomas orais avançados (Tan *et al.*, 2023).

ii. Terapias alvo

As terapias-alvo, um verdadeiro pilar da medicina de precisão, visam anomalias moleculares específicas associadas ao crescimento e à sobrevivência das células tumorais, poupando as células saudáveis. Atuam igualmente no microambiente tumoral, reforçando as defesas imunitárias do tumor. A sua precisão reduz significativamente os efeitos secundários, como a queda de cabelo, e, graças aos testes complementares, permitem identificar os doentes suscetíveis de beneficiar delas, tornando a sua aplicação personalizada. No entanto, estas terapias têm as suas limitações, nomeadamente a resistência das células cancerosas através de mecanismos adaptativos ou o aparecimento de novas mutações, bem como, a sua inacessibilidade a certos cânceros que não têm alvos exploráveis. Além disso, podem provocar efeitos secundários específicos, como perturbações cutâneas ou gastrointestinais. Apesar destes desafios, as perspectivas são promissoras: a investigação esforça-se por descobrir novos alvos moleculares, integrar biomarcadores e combinar estes tratamentos com outras abordagens, como a imunoterapia. O aparecimento dos imunoconjugados, que fornecem moléculas

terapêuticas aos tumores com precisão, ilustra esta dinâmica. Em suma, as terapias orientadas estão a revolucionar o tratamento do cancro, oferecendo tratamentos personalizados, mas exigindo esforços constantes para ultrapassar as suas atuais limitações (Fondation ARC, 2024).

Então, os *Antibody-Drug Conjugates* (ADC), representam um grande avanço no domínio das terapias alvo em oncologia. Estas moléculas combinam um anticorpo monoclonal específico de um antígeno tumoral com um potente agente citotóxico através de um linker. Esta conceção permite que o tratamento seja administrado diretamente às células tumorais, reduzindo assim os efeitos secundários nos tecidos saudáveis. As sucessivas gerações de ADC registaram melhorias significativas, nomeadamente com agentes citotóxicos mais potentes, como as auristatinas ou as pirrolobenzodiazepinas, e linker mais estáveis e sensíveis a estímulos específicos. No entanto, subsistem limitações, incluindo a toxicidade fora do alvo, devido à baixa proporção de ADC que atinge o tumor, e os mecanismos de resistência dos tumores, como a diminuição da expressão do antígeno alvo. As perspetivas atuais incluem o desenvolvimento de novas estratégias de conjugação, a descoberta de alvos antigénicos adicionais e a combinação de imunoconjugados com outras terapêuticas, como os inibidores do ponto de controlo imunitário, para maximizar a sua eficácia. Estes avanços promissores fazem dos ADC uma ferramenta essencial no tratamento dos cancros, incluindo os carcinomas espinocelulares da cavidade oral, abrindo caminho a opções terapêuticas mais personalizadas e eficazes (Beck *et al.*, 2019).

Depois, as terapias alvo dirigidas ao gene TP53 mutado representam um grande avanço no tratamento do cancro. Sendo o gene supressor de tumores com mutações mais frequentes, o TP53 é um alvo terapêutico de eleição. As mutações no TP53 conduzem a uma perda ou ganho de função oncogénica, tornando a proteína p53 incapaz de regular processos cruciais como a apoptose, a paragem do ciclo celular e a reparação do ADN. Para restaurar essas funções, moléculas como APR-246 e COTI-2 estão em desenvolvimento clínico. O APR-246 actua reativando a conformação funcional da p53 mutada e induzindo a apoptose nas células tumorais. O COTI-2 tem como alvo as vias a jusante interrompidas pelo TP53 mutado para restaurar as respostas celulares normais. Este tipo de abordagens oferecem perspetivas promissoras para melhorar os tratamentos, embora ainda necessitem de validação clínica para ultrapassar os desafios associados aos efeitos fora do alvo e à variabilidade das mutações (Bykov *et al.*, 2017).

Por fim, os inibidores do EGFR constituem uma estratégia terapêutica importante no tratamento dos carcinomas de células escamosas da cabeça e do pescoço. Estes agentes têm como alvo uma via de sinalização chave envolvida na proliferação celular e na resistência à apoptose. Entre eles, os anticorpos monoclonais, como o cetuximab, ligam-se à porção extracelular do EGFR, inibindo assim a sua ativação. Estudos clínicos demonstraram que a adição de cetuximab à radioterapia melhora significativamente a sobrevivência global em doentes com carcinoma espinocelular da cabeça e do pescoço localmente avançado (estádios III/IV), em comparação com a radioterapia isolada. Em doentes com doença recorrente ou metastática, a combinação de cetuximab com quimioterapia demonstrou melhorar a sobrevivência livre de progressão e as taxas de resposta global. Contudo, a utilização destes agentes está associada a um aumento moderado de acontecimentos adversos graves, incluindo toxicidades cutâneas, mucosite grave e desequilíbrios eletrolíticos. Apesar destes efeitos secundários, os inibidores do EGFR, em particular o cetuximab, continuam a ser um componente essencial dos protocolos terapêuticos direcionados, oferecendo benefícios significativos em termos de sobrevivência para populações selecionadas de doentes (Tian *et al.*, 2017).

iii. Imunoterapia

A imunoterapia representa uma abordagem promissora para o tratamento do carcinoma espinocelular da cabeça e do pescoço, particularmente em doentes que falharam a cirurgia, a radioterapia ou a quimioterapia. Estes cancros são frequentemente considerados imunossupressores, com a disfunção do sistema imunitário a desempenhar um papel fundamental no seu desenvolvimento ou recorrência. A imunoterapia visa reativar a resposta imunitária anti tumoral, visando os mecanismos pelos quais as células cancerosas escapam, em particular através de inibidores dos pontos de controlo imunitário, como os agentes anti-PD-1/PD-L1. Estes tratamentos, incluindo o pembrolizumab e o nivolumab, demonstraram eficácia clínica e estão aprovados para o tratamento do carcinoma espinocelular da cabeça e do pescoço metastático (Chamoli *et al.*, 2021; Tan *et al.*, 2023).

Os mecanismos da imunoterapia incluem o bloqueio de sinais de imunossupressão, promovendo assim a ativação de células T CD8⁺ citotóxicas, que são essenciais para a eliminação do tumor. Estratégias complementares, como o IRX-2, uma preparação biológica multicelular que contém citocinas (IL-2, IL-1 β , IFN- γ , TNF- α), ou anticorpos monoclonais que têm como alvo as células T reguladoras (Tregs), visam reforçar as

defesas imunitárias inatas e adaptativas. Outras abordagens estão a explorar a inibição do recrutamento de macrófagos associados a tumores e células supressoras derivadas da medula óssea para reduzir a imunossupressão no microambiente tumoral (Tan *et al.*, 2023).

Estudos recentes também destacaram o impacto das mutações TP53 no microambiente imunitário. Estas mutações estão associadas à redução da expressão de marcadores para células T CD8⁺, células *Natural Killer* (Células NK) e linfócitos infiltrantes de tumores, bem como a um desequilíbrio entre células imunoestimuladoras e imuno-inibidoras. Estas alterações comprometem a eficácia da resposta imunitária e sublinham a importância de abordagens que combinem a imunoterapia e as terapias dirigidas para melhorar os resultados clínicos nestes doentes. Em suma, a imunoterapia, combinada com abordagens multidisciplinares e uma gestão cuidadosa e transversal das potenciais toxicidades, oferece novas perspetivas para ultrapassar a imunossupressão associada ao carcinoma espinocelular da cabeça e pescoço e melhorar a sobrevida e a qualidade de vida dos doentes. (Nathan *et al.*, 2022).

Mas, apesar dos seus avanços, a imunoterapia apresenta desafios, como os casos de hiperprogressão observados em alguns doentes HPV- ou as reações imunitárias adversas que requerem um acompanhamento rigoroso (Johnson *et al.*, 2020).

iv. Terapias combinadas

Em primeiro lugar, a quimiorradioterapia combina quimioterapia, frequentemente à base de cisplatina ou carboplatina, com radioterapia para melhorar o controlo local do tumor e reduzir o risco de recorrência. Esta abordagem é particularmente eficaz nas fases avançadas do carcinoma de células escamosas da cavidade oral. No entanto, está associada a uma toxicidade elevada, incluindo mucosite e disfagia graves, o que exige um controlo médico rigoroso dos efeitos secundários. Esta estratégia continua a ser a base do tratamento dos cancros localmente avançados (Marur & Forastiere, 2016).

Em segundo lugar, os inibidores do EGFR, como o cetuximab e o panitumumab, são frequentemente utilizados em combinação com a radioterapia. Estes anticorpos monoclonais bloqueiam os sinais pró-tumorais ativados pelos receptores EGFR, reduzindo assim a proliferação celular. Este tratamento é uma alternativa eficaz para os doentes que não são elegíveis para a quimiorradioterapia, particularmente os que têm

comorbilidades. No entanto, é menos eficaz em doentes HPV+ e pode causar efeitos secundários específicos, como erupções cutâneas (Marur & Forastiere, 2016).

Depois, a imunoterapia, incluindo os inibidores do ponto de controlo imunitário, como o pembrolizumab e o nivolumab, pode ser combinada com quimioterapia ou radioterapia. Esta combinação reforça a resposta imunitária através da reativação dos linfócitos T contra as células tumorais. É particularmente eficaz no cancro avançado ou metastático, oferecendo benefícios mesmo em doentes refratários aos tratamentos padrão. No entanto, o seu custo elevado, as respostas variáveis em função da expressão de PD-L1 e os efeitos secundários autoimunes continuam a ser grandes desafios (Johnson *et al.*, 2020).

Além disso, as terapias direcionadas exploram inibidores moleculares, como os que visam as vias PI3K/AKT/mTOR, para sensibilizar as células tumorais à radioterapia. Estas abordagens aumentam a apoptose celular e reduzem a resistência dos tumores à terapêutica. São promissoras nos cancros mais resistentes aos tratamentos convencionais, embora a validação clínica ainda esteja em curso e os mecanismos de resistência possam limitar a sua eficácia (De Bakker *et al.*, 2022).

Por fim, nos doentes HPV+, caracterizados por um melhor prognóstico, a radioterapia de dose reduzida é uma estratégia que visa reduzir a toxicidade mantendo uma eficácia terapêutica comparável. Esta abordagem baseia-se numa seleção rigorosa dos doentes e exige uma validação através de ensaios clínicos rigorosos para não comprometer os resultados oncológicos (Johnson *et al.*, 2020).

6. Discussão

As mutações no gene TP53 desempenham um papel central na progressão dos carcinomas espinocelulares orais. No entanto, os estudos divergem quanto ao seu impacto exato no prognóstico e na resposta ao tratamento. Estas diferenças refletem tanto metodologias variadas como diferentes contextos clínicos, tornando essencial uma análise crítica da literatura existente. Ragos *et al.* (2018) e Nathan *et al.* (2022) destacam as mutações de perda de função do TP53 como um fator-chave na progressão do tumor. Estes estudos demonstram que a perda da capacidade do TP53 para regular a apoptose e o ciclo celular conduz a um aumento da instabilidade genómica e da agressividade tumoral. Em contraste com estes estudos, Tanaka *et al.* (2017) e Yue *et al.* (2017) sublinham a importância das mutações de ganho de função. Estes trabalhos destacam que alguns mutantes TP53

adquirem propriedades oncogénicas ao alterar a expressão de genes relacionados com a invasão e a migração celular.

Essas diferenças podem ser explicadas pelas metodologias utilizadas. Por exemplo, os estudos centrados nas mutações de perda de função utilizam frequentemente abordagens genómicas gerais, como o NGS, ao passo que os estudos sobre mutações de ganho de função incorporam análises funcionais mais específicas. Esta falta de integração das duas abordagens limita uma compreensão global dos papéis do TP53 nos carcinomas espinocelulares orais. Além disso, alguns estudos não distinguem claramente as mutações de acordo com a sua natureza (missense, nonsense...), o que complica a sua interpretação. Por exemplo, Nathan *et al.* (2022) sublinham que as mutações missense no domínio de ligação ao ADN são as mais frequentes, mas nem sempre especificam o seu impacto funcional exato. A investigação futura deve, portanto, adotar uma abordagem que combine as análises genómicas e funcionais para melhor caracterizar as mutações do TP53. Além disso, a integração de modelos pré-clínicos específicos, como culturas tridimensionais ou modelos de ratos, poderia ajudar a validar as hipóteses sobre as mutações de ganho e de perda de função. Estas abordagens permitiriam não só esclarecer o papel das mutações do TP53 nos carcinomas espinocelulares orais, mas também identificar alvos terapêuticos específicos, melhorando assim o prognóstico dos doentes.

As mutações no gene TP53 desempenham um papel central em vários cancros, embora o seu impacto varie em função do contexto tumoral. No cancro da mama, em que o TP53 está mutado em cerca de 30% dos casos, estas mutações estão associadas a fenótipos agressivos, nomeadamente nos subtipos triplo-negativos. Influenciam tanto a resposta ao tratamento como o prognóstico clínico, embora os estudos apresentem resultados divergentes consoante o tipo de mutação e o tratamento administrado (Shahbandi *et al.*, 2020). Do mesmo modo, no cancro epitelial do ovário de alto grau, as mutações de p53 são quase universais e contribuem para a rápida progressão do tumor e para a heterogeneidade intratumoral, exacerbando a resistência às terapias à base de platina (Patch *et al.*, 2015). Comparativamente, nos carcinomas espinocelular da cavidade oral, as mutações de p53, presentes em 40-70% dos casos, estão fortemente correlacionadas com fatores de risco ambientais, como o tabagismo e o álcool. Estas mutações conduzem a um aumento da instabilidade genómica e à fuga apoptótica, exacerbando a progressão do tumor (Zhou *et al.*, 2016). Assim, embora estes cancros partilhem uma dependência

comum da perda de função de p53, as variações teciduais e contextuais influenciam profundamente o seu impacto no prognóstico e na resposta terapêutica.

A utilização de mutações de TP53 como biomarcadores no carcinoma espinocelular oral é um assunto controverso. Estas mutações são estudadas tanto como marcadores prognósticos como preditivos, mas os resultados da investigação permanecem heterogêneos. Alguns autores, como Zhou *et al.* (2016), argumentam que as mutações de TP53, particularmente em câncros HPV-, estão fortemente associadas a um mau prognóstico, devido ao aumento da agressividade do tumor e à redução da sobrevivência. Outros, como Nathan *et al.* (2022), salientam que a utilização do TP53 como biomarcador é limitada pela sua elevada frequência nos câncros, o que reduz a sua especificidade. Estes artigos sublinham igualmente a necessidade de combinar o TP53 com outros biomarcadores para obter resultados clinicamente significativos.

Uma grande divergência reside nas metodologias utilizadas para estudar o gene TP53. Os estudos centrados no sequenciamento genético, como discutido por Ragos *et al.* (2018), identificam mutações, mas, nem sempre fornecem dados sobre o seu impacto funcional. Por outro lado, estudos como os revistos por De Bakker *et al.* (2022) exploram os efeitos biológicos das mutações, mas, faltam de dados sobre a sua correlação com os resultados clínicos. Além disso, poucos estudos têm em conta as diferenças clínicas entre os câncros HPV+ e HPV-, o que distorce as conclusões sobre a relevância do gene TP53 como biomarcador em diferentes contextos clínicos. Por conseguinte, para reforçar a utilização clínica do gene TP53 como biomarcador, é essencial integrar abordagens combinadas, misturando genómica, análise de transcrições genéticas e análises funcionais. A investigação futura deve também explorar a interação entre o TP53 e outras alterações moleculares para identificar assinaturas prognósticas e preditivas robustas.

Para além das mutações do gene TP53, outras alterações genéticas desempenham um papel fundamental no desenvolvimento e progressão dos carcinomas espinocelulares da cavidade oral. Primeiro, as mutações no promotor TERT, presentes em cerca de 47% dos carcinomas espinocelulares orais, reativam a telomerase, conferindo às células tumorais uma capacidade proliferativa ilimitada. A mutação -124 C > T está particularmente associada a um risco acrescido de progressão do tumor e de mortalidade (Boscolo-Rizzo *et al.*, 2023). Além disso, as mutações FAT1, frequentemente observadas em carcinomas espinocelulares da cavidade oral, afetam a via de sinalização Wnt/ β -catenina, um processo envolvido na diferenciação celular e na migração tumoral. Estas alterações

interrompem a atividade dos inibidores da Wnt, promovendo a proliferação descontrolada e o aumento da invasão (Xie *et al.*, 2021). Depois, as mutações no gene PIK3CA, que ativam a via PI3K/AKT, contribuem para a sobrevivência celular e a resistência à apoptose, agravando a progressão do tumor (Lui *et al.*, 2014). Em comparação, as mutações de p53 nos carcinomas espinocelulares orais, encontradas em 40-70% dos casos, perturbam os mecanismos de reparação do ADN e a indução da apoptose, aumentando a instabilidade genômica (Zhou *et al.*, 2016). Assim, embora o gene TP53 continue a ser uma alteração central, as mutações no TERT, FAT1 e PIK3CA destacam-se pelos seus papéis específicos nas vias de sinalização e mecanismos biológicos que promovem a carcinogénese nos carcinomas espinocelulares orais.

O tratamento do TP53 nos carcinomas espinocelulares orais é uma abordagem terapêutica promissora, mas, as estratégias desenvolvidas até à data têm vantagens e limitações significativas. De Bakker *et al.* (2022) destacam estratégias para reativar o gene TP53 mutante, nomeadamente com moléculas como PRIMA-1 ou APR-246. Estas abordagens visam restaurar a capacidade do gene TP53 para induzir a apoptose e regular o ciclo celular. Por outro lado, Tanaka *et al.* (2017) sublinham a importância de bloquear os efeitos oncogénicos do gene TP53 mutante, como a regulação do FOXM1 e das vias de sinalização invasivas. Por conseguinte, as abordagens que visam o gene TP53 mutante enfrentam vários desafios. Inibidores como o PRIMA-1 mostraram uma eficácia limitada em ensaios clínicos, em parte devido à diversidade das mutações do gene TP53 e ao seu impacto variável. Além disso, poucos estudos incorporam modelos pré-clínicos robustos para validar estas estratégias. As terapias combinadas, incluindo inibidores da MDM2 ou agentes imunomoduladores, oferecem um potencial interessante, mas, requerem mais estudos para avaliar a sua viabilidade clínica. Por conseguinte, a investigação futura deve centrar-se em abordagens combinatórias que visem tanto as mutações do gene TP53 como as vias associadas. Além disso, o desenvolvimento de biomarcadores preditivos poderia ajudar a selecionar os doentes com maior probabilidade de beneficiar destas terapias.

Os tratamentos convencionais para o carcinoma espinocelular oral, incluindo a cirurgia, a radioterapia e a quimioterapia, constituem a base do tratamento dos doentes. No entanto, a sua eficácia varia consideravelmente em função do estatuto do cancro em termos de HPV. Os cancros HPV+, por exemplo, respondem melhor aos tratamentos convencionais do que os seus homólogos HPV-. Esta diferença levanta questões sobre a otimização das terapias e a sua personalização para melhorar os resultados clínicos. Marur e Forastiere

(2016) salientam que os câncros HPV+ respondem melhor à radioterapia e à quimioterapia, permitindo reduzir as doses e atenuar as toxicidades. Estes doentes beneficiam geralmente de melhores resultados com esquemas de tratamento menos agressivos, sem comprometer o controlo do tumor. Por outro lado, Johnson *et al.* (2020) salientam que os câncros HPV- requerem um tratamento mais agressivo devido à sua maior resistência, nomeadamente quando apresentam mutações de p53. Estas diferenças justificam abordagens terapêuticas personalizadas para maximizar os benefícios e minimizar os efeitos secundários.

Os câncros HPV-, frequentemente associados a mutações do gene TP53, representam um subgrupo que requer intensificação terapêutica. Zhou *et al.* (2016) propõem a integração de biomarcadores como TP53 para estratificar os doentes e adaptar os protocolos terapêuticos. No entanto, esta abordagem continua a ser limitada pela falta de validação clínica e pela heterogeneidade das mutações observadas. Embora os tratamentos convencionais sejam eficazes nas fases iniciais, a sua toxicidade continua a ser um grande desafio para os câncros avançados. Tan *et al.* (2023) salientam que a radioterapia, combinada com a quimioterapia, conduz frequentemente a efeitos secundários graves, como a fibrose ou a mucosite, que afetam a qualidade de vida dos pacientes. Estes efeitos são mais acentuados nos doentes HPV-, devido à necessidade de um tratamento mais intensivo. Estes diferentes artigos põem em evidência uma grande dicotomia na resposta aos tratamentos convencionais entre os câncros HPV+ e HPV-. Enquanto os câncros HPV+ podem ser tratados de forma menos intensiva, os câncros HPV- exigem uma maior personalização, nomeadamente através da integração de biomarcadores como o TP53. No entanto, esta abordagem continua a ser limitada por deficiências metodológicas, como a falta de ensaios clínicos estratificados de acordo com o estatuto do HPV e a diversidade de mutações do gene TP53.

Assim, os tratamentos convencionais, embora eficazes, requerem uma personalização para otimizar os resultados de acordo com os subtipos biológicos do carcinoma espinocelular oral. Por conseguinte, a investigação no futuro deve centrar-se na validação clínica de biomarcadores como o TP53, a fim de orientar as decisões terapêuticas, em particular para os câncros HPV-, na avaliação de protocolos ajustados com uma extensão dos estudos mais recentes para doentes HPV+ a outros subgrupos, e na integração de novas abordagens terapêuticas, como os inibidores do EGFR ou as terapias-alvo, para os doentes que apresentam resistência aos tratamentos convencionais.

Os tratamentos convencionais para o carcinoma espinocelular oral, embora eficazes, têm grandes limitações devido à sua toxicidade e à variabilidade das respostas. A integração de biomarcadores como o TP53 permitiria orientar o tratamento e estratificar os doentes em função do seu perfil molecular. No entanto, esta abordagem suscita debates sobre a sua viabilidade clínica e o seu impacto nos resultados terapêuticos. Zhou *et al.* (2016) sublinham que as mutações do gene TP53 estão associadas a uma maior resistência à quimioterapia e à radioterapia, particularmente nos cancros HPV-. Esta observação destaca o papel potencial do TP53 como biomarcador para identificar os doentes que necessitam de abordagens terapêuticas intensificadas. De Bakker *et al.* (2022) propõem a combinação de moléculas como PRIMA-1 ou APR-246 com terapias convencionais para restaurar a função do TP53 mutante. Embora promissoras, estas abordagens continuam limitadas a subgrupos específicos de mutações e requerem uma validação clínica mais aprofundada. No entanto, embora a integração do TP53 como biomarcador seja teoricamente interessante, Tan *et al.* (2023) salientam que os ensaios clínicos atuais não incluem sistematicamente a estratificação com base no estado do gene TP53. Esta lacuna dificulta a aplicação prática desta estratégia num contexto clínico real. Assim, estes artigos citados anteriormente evidenciam um consenso sobre a importância dos biomarcadores para a personalização dos tratamentos, mas divergem quanto à sua aplicação prática. Enquanto Zhou *et al.* (2016) propõem o gene TP53 como uma medida fundamental para prever a resposta terapêutica, De Bakker *et al.* (2022) insistem na necessidade de combinar biomarcadores com abordagens direcionadas para maximizar a sua eficácia. Por outro lado, Tan *et al.* (2023) criticam a falta de normalização e validação clínica de biomarcadores como o TP53.

Apesar da sua eficácia, as terapias convencionais apresentam limitações significativas, nomeadamente em termos de toxicidade e resistência em estádios avançados. A integração de novas abordagens terapêuticas, como os inibidores que visam as vias de sinalização ou as nanotecnologias, oferece perspetivas interessantes para melhorar os resultados. De Bakker *et al.* (2022) destacam as moléculas PRIMA-1 e APR-246, que têm por objetivo restaurar a função do TP53 mutante. Combinados com a quimioterapia ou a radioterapia, estes agentes poderiam melhorar a resposta dos tumores e ultrapassar algumas das resistências observadas com os tratamentos habituais. Tan *et al.* (2023) discutem a utilização de nanopartículas para atingir as células cancerosas, reduzindo simultaneamente os efeitos secundários dos tratamentos convencionais. Embora

promissora, esta abordagem ainda se encontra na fase pré-clínica e não dispõe de dados sobre a sua eficácia a longo prazo. Zhou *et al.* (2016) sugerem que as mutações do gene TP53 poderiam orientar a utilização de agentes quimioterapêuticos específicos, como os inibidores da PARP, para os cancros deficientes na reparação do ADN. No entanto, esta abordagem requer uma validação rigorosa antes de poder ser integrada na prática clínica.

A integração de novas terapêuticas com tratamentos convencionais parece prometedora, mas levanta desafios. Enquanto De Bakker *et al.* (2022) propõem abordagens que podem ser diretamente transpostas para os doentes, Tan *et al.* (2023) exploram opções a mais longo prazo, como a nanomedicina. Estas perspetivas devem ser confrontadas com os limites dos biomarcadores discutidos por Zhou *et al.* (2016), para garantir a sua eficácia clínica. A investigação futura deve, por conseguinte, avaliar as sinergias entre os tratamentos convencionais e as novas terapias, integrando agentes direcionados, como o PRIMA-1, com abordagens emergentes, como a nanomedicina, acelerar os ensaios clínicos sobre terapias combinadas, testando combinações de quimioterapia/radioterapia com agentes direcionados para o gene TP53, e reforçar a colaboração entre laboratórios e clínicas, desenvolvendo abordagens translacionais para garantir a aplicabilidade de novas estratégias.

III-Conclusão

As mutações no gene TP53 desempenham um papel fundamental na progressão dos carcinomas espinocelulares orais, constituindo-se como um fator determinante no seu prognóstico e na resposta ao tratamento.

Estas alterações genéticas, quer resultem em perda de função ou ganho de função, perturbam profundamente mecanismos celulares essenciais como a regulação da apoptose, o controlo do ciclo celular e a reparação do ADN. Estão também associadas a um aumento da instabilidade genómica e da agressividade tumoral, particularmente nos carcinomas espinocelulares HPV-.

Clinicamente, as mutações TP53 parecem ser biomarcadores promissores, embora a sua diversidade e impacto variável ainda limitem a sua utilização prática de forma efetiva. Estas mutações têm uma influência significativa na eficácia das terapias convencionais, como a radioterapia e a quimioterapia, nomeadamente ao promoverem o aumento da resistência tumoral.

Esta complexidade evidencia a necessidade de desenvolver outras abordagens terapêuticas inovadoras, especificamente dirigidas à capacidade de alterações do TP53, por exemplo, recorrendo a moléculas capazes de restaurar as suas funções supressoras ou inibir os seus efeitos oncogénicos.

No entanto, apesar destes avanços científicos, continuam a existir desafios metodológicos. Uma compreensão mais profunda das interações entre o TP53 e outras alterações moleculares continua a ser crucial para aperfeiçoar as estratégias terapêuticas. A este respeito, o desenvolvimento de modelos pré-clínicos robustos e de ensaios clínicos rigorosos poderia ajudar a validar a utilização do TP53 como biomarcador e a explorar terapias combinadas adaptadas aos perfis moleculares específicos dos carcinomas orais de células escamosas.

O TP53 é, portanto, um ator central na biologia dos carcinomas espinocelulares, tendo uma influência decisiva na sua progressão e na resposta ao tratamento. Os esforços futuros devem centrar-se na integração destas descobertas na medicina personalizada, com o objetivo de melhorar o prognóstico e a qualidade de vida dos pacientes que sofrem deste tipo de cancro.

IV- Referências bibliográficas

- Alvarado-Ortiz, E., De la Cruz-López, K. G., Becerril-Rico, J., Sarabia-Sánchez, M. A., Ortiz-Sánchez, E., & García-Carrancá, A. (2021). Mutant p53 Gain-of-Function : Role in Cancer Development, Progression, and Therapeutic Approaches. *Frontiers In Cell And Developmental Biology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.607670>
- Association KJER France (2015, Setembro 16). *Les différents types de mutations*. KJER France. https://www.kjer-france.org/wp-content/uploads/2015/09/types_mutations.pdf
- Barsouk, A., Aluru, J. S., Rawla, P., Saginala, K., & Barsouk, A. (2023). Epidemiology, Risk Factors, and Prevention of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Medical Sciences*, 11(2), 42. <https://doi.org/10.3390/medsci11020042>
- Beck, A., Dumontet, C., & Joubert, N. (2019). Les immuno-conjugués en oncologie. *Médecine/Sciences*, 35(12), 1034-1042. <https://doi.org/10.1051/medsci/2019227>
- Boscolo-Rizzo, P., Tirelli, G., Polesel, J., Sia, E., Phillips, V., Borsetto, D., De Rossi, A., & Giunco, S. (2023). TERT promoter mutations in head and neck squamous cell carcinoma : A systematic review and meta-analysis on prevalence and prognostic significance. *Oral Oncology*, 140, 106398. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2023.106398>
- Bykov, V. J. N., Eriksson, S. E., Bianchi, J., & Wiman, K. G. (2017). Targeting mutant p53 for efficient cancer therapy. *Nature Reviews. Cancer*, 18(2), 89-102. <https://doi.org/10.1038/nrc.2017.109>
- Canadian Cancer Society (2024). *Changements génétiques et risques de cancer*. Société Canadienne du Cancer. <https://cancer.ca/fr/cancer-information/what-is-cancer/genes-and-cancer/genetic-changes-and-cancer-risk#:~:text=Les%20oncogènes%20sont%20des%20gènes,s'ils%20subissent%20une%20mutation>
- Catherwood, M. A., Gonzalez, D., Donaldson, D., Clifford, R., Mills, K., & Thornton, P. (2019). Relevance of TP53 for CLL diagnostics. *Journal Of Clinical Pathology*, 72(5), 343-346. <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2018-205622>
- Chamoli, A., Gosavi, A. S., Shirwadkar, U. P., Wangdale, K. V., Behera, S. K., Kurrey, N. K., Kalia, K., & Mandoli, A. (2021). Overview of oral cavity squamous cell carcinoma: Risk factors, mechanisms, and diagnostics. *Oral Oncology*, 121, 105451. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2021.105451>
- Chollat-Namy, M. (2021). *Effet de l'inactivation du gène suppresseur de tumeur P53 et de sa réactivation pharmacologique sur la réponse cytotoxique anti-tumorale* [Thèse de doctorat, Université Paris-Saclay]. HAL open science. https://theses.hal.science/tel-03186860v1/file/95973_CHOLLAT-NAMY_2020_archivage.pdf
- CHUV Laboratoire d'oncogénomique (2020, Janeiro 21). *Hybridation in situ fluorescente*. Centre hospitalier universitaire vaudois. <https://www.chuv.ch/fr/log/accueil/prestations/hybridation-in-situ-fluorescente-fish>
- CHUV Laboratoire d'oncogénomique (2020, Janeiro 21). *MLPA*. Centre hospitalier universitaire vaudois. <https://www.chuv.ch/fr/log/accueil/prestations/mlpa>

- Coutton, C., Vieville, G., Satre, V., Devillard, F., & Amblard, F. (2012). Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) et sondes « à façon » entièrement synthétiques. Guide pratique, recommandations et expérience au CHU de Grenoble. *IRBM*, 33(3), 227-235. <https://doi.org/10.1016/j.irbm.2012.04.004>
- De Bakker, T., Journe, F., Descamps, G., Saussez, S., Dragan, T., Ghanem, G., Krayem, M., & Van Gestel, D. (2022). Restoring p53 Function in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma to Improve Treatments. *Frontiers In Oncology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.799993>
- De Carvalho Melo, B. A., Vilar, L. G., De Oliveira, N. R., De Lima, P. O., De Barros Pinheiro, M., Domingueti, C. P., & Pereira, M. C. (2021). Human papillomavirus infection and oral squamous cell carcinoma - a systematic review. *Brazilian Journal Of Otorhinolaryngology*, 87(3), 346-352. <https://doi.org/10.1016/j.bjorl.2020.10.017>
- Deeptha, S., Vengalil, S., Preethish-Kumar, V., Polavarapu, K., Nalini, A., Gayathri, N., & Purushottam, M. (2017). MLPA identification of dystrophin mutations and in silico evaluation of the predicted protein in dystrophinopathy cases from India. *BMC Medical Genetics*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/s12881-017-0431-6>
- Ferlay, J.; Ervik, M.; Lam, F.; Colombet, M.; Mery, L.; Piñeros, M.; Znaor, A.; Soerjomataram, I.; Bray, F. *Global Cancer Observatory: Cancer Today*; International Agency for Research on Cancer: Lyon, France, 2020.
- Fondation ARC (2024). *Soigner un cancer par thérapies ciblées*. Fondation pour la recherche sur le cancer. <https://www.fondation-arc.org/support-information/fiche-soigner-cancer-par-therapies-ciblees>
- Gormley, M., Creaney, G., Schache, A., Ingarfield, K., & Conway, D. I. (2022). Reviewing the epidemiology of head and neck cancer : definitions, trends and risk factors. *BDJ*, 233(9), 780-786. <https://doi.org/10.1038/s41415-022-5166-x>
- Hanna, N., Parfait, B., Vidaud, D., & Vidaud, M. (2005). Mécanismes et conséquences des mutations. *Médecine/Sciences*, 21(11), 969-980. <https://doi.org/10.1051/medsci/20052111969>
- International Agency for Research on Cancer. (2022). *Cancer factsheets*. <https://gco.iarc.fr/today/en/fact-sheets-cancers>
- Johnson, D. E., Burtneess, B., Leemans, C. R., Lui, V. W. Y., Bauman, J. E., & Grandis, J. R. (2020). Head and neck squamous cell carcinoma. *Nature Reviews Disease Primers*, 6(1). <https://doi.org/10.1038/s41572-020-00224-3>
- Kamps, R., Brandão, R., Bosch, B., Paulussen, A., Xanthoulea, S., Blok, M., & Romano, A. (2017). Next-Generation Sequencing in Oncology : Genetic Diagnosis, Risk Prediction and Cancer Classification. *International Journal Of Molecular Sciences*, 18(2), 308. <https://doi.org/10.3390/ijms18020308>
- Khatri, G., Singh, M., Sareen, P., & Joshi, K. (2018). Role of genomic changes in chromosome 17 and p53 gene in oral squamous cell carcinoma patients by Fluorescence in situ hybridization in Indian population. *Journal Of Anatomical Society Of India*, 67(2), 120-123. <https://doi.org/10.1016/j.jasi.2018.11.005>
- Kim, S., Lee, J. W., & Park, Y. (2020). The Application of Next-Generation Sequencing to Define Factors Related to Oral Cancer and Discover Novel Biomarkers. *Life*, 10(10), 228. <https://doi.org/10.3390/life10100228>

- Kontomanolis, E. N., Koutras, A., Syllaios, A., Schizas, D., Mastoraki, A., Garmpis, N., Diakosavvas, M., Angelou, K., Tsatsaris, G., Pagkalos, A., Ntounis, T., & Fasoulakis, Z. (2020). Role of Oncogenes and Tumor-suppressor Genes in Carcinogenesis : A Review. *Anticancer Research*, 40(11), 6009-6015. <https://doi.org/10.21873/anticanres.14622>
- Lacroix, M., Linares, L. K., & Cam, L. L. (2013). Rôle du supresseur de tumeurs p53 dans le contrôle du métabolisme. *Médecine/Sciences*, 29(12), 1125-1130. <https://doi.org/10.1051/medsci/20132912016>
- Lui, V. W. Y., Peyser, N. D., Ng, P. K., Hritz, J., Zeng, Y., Lu, Y., Li, H., Wang, L., Gilbert, B. R., General, I. J., Bahar, I., Ju, Z., Wang, Z., Pendleton, K. P., Xiao, X., Du, Y., Vries, J. K., Hammerman, P. S., Garraway, L. A., ..., Grandis, J. R. (2014). Frequent mutation of receptor protein tyrosine phosphatases provides a mechanism for STAT3 hyperactivation in head and neck cancer. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, 111(3), 1114-1119. <https://doi.org/10.1073/pnas.1319551111>
- Marei, H. E., Althani, A., Afifi, N., Hasan, A., Caceci, T., Pozzoli, G., Morrione, A., Giordano, A., & Cenciarelli, C. (2021). p53 signaling in cancer progression and therapy. *Cancer Cell International*, 21(1). <https://doi.org/10.1186/s12935-021-02396-8>
- Marrano, P., Shago, M., Somers, G. R., & Thorner, P. S. (2018). Fluorescent In Situ Hybridization for TP53 in the Diagnosis of Pediatric Osteogenic Sarcoma. *The American Journal Of Surgical Pathology*, 42(6), 744-749. <https://doi.org/10.1097/pas.0000000000001054>
- Marur, S., & Forastiere, A. A. (2016). Head and Neck Squamous Cell Carcinoma : Update on Epidemiology, Diagnosis, and Treatment. *Mayo Clinic Proceedings*, 91(3), 386-396. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2015.12.017>
- Morselli, E., Shen, S., Ruckenstuhl, C., Bauer, M. A., Mariño, G., Galluzzi, L., Criollo, A., Michaud, M., Maiuri, M. C., Chano, T., Madeo, F., & Kroemer, G. (2011). p53 inhibits autophagy by interacting with the human ortholog of yeast Atg17, RB1CC1/FIP200. *Cell Cycle*, 10(16), 2763-2769. <https://doi.org/10.4161/cc.10.16.16868>
- Nathan, C., Khandelwal, A. R., Wolf, G. T., Rodrigo, J. P., Mäkitie, A. A., Saba, N. F., Forastiere, A. A., Bradford, C. R., & Ferlito, A. (2022). TP53 mutations in head and neck cancer. *Molecular Carcinogenesis*, 61(4), 385-391. <https://doi.org/10.1002/mc.23385>
- Patch, A., Christie, E. L., Etemadmoghadam, D., Garsed, D. W., George, J., Fereday, S., Nones, K., Cowin, P., Alsop, K., Bailey, P. J., Kassahn, K. S., Newell, F., Quinn, M. C. J., Kazakoff, S., Quek, K., Wilhelm-Benartzi, C., Curry, E., Leong, H. S., Hamilton, A., ..., Bowtell, D. D. L. (2015). Whole-genome characterization of chemoresistant ovarian cancer. *Nature*, 521(7553), 489-494. <https://doi.org/10.1038/nature14410>
- Qian, Y., & Chen, X. (2012). Senescence Regulation by the p53 Protein Family. *Methods In Molecular Biology*, 37-61. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-239-1_3

- Ragos, V., Mastronikolis, N. S., Tsiambas, E., Baliou, E., Mastronikolis, S. N., Tsoukalas, N., Patsouri, E. E., & Fotiades, P. P. (2018). p53 mutations in oral cavity carcinoma. *PubMed*, 23(6), 1569-1572. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30610778>
- Rodriguez, O. C., Choudhury, S., Kolukula, V., Vietsch, E. E., Catania, J., Preet, A., Reynoso, K., Bargonetti, J., Wellstein, A., Albanese, C., & Avantaggiati, M. L. (2012). Dietary downregulation of mutant p53 levels via glucose restriction. *Cell Cycle*, 11(23), 4436-4446. <https://doi.org/10.4161/cc.22778>
- Sabatini, M. E., & Chiocca, S. (2019). Human papillomavirus as a driver of head and neck cancers. *British Journal Of Cancer*, 122(3), 306-314. <https://doi.org/10.1038/s41416-019-0602-7>
- Shahbandi, A., Nguyen, H. D., & Jackson, J. G. (2020). TP53 Mutations and Outcomes in Breast Cancer : Reading beyond the Headlines. *Trends In Cancer*, 6(2), 98-110. <https://doi.org/10.1016/j.trecan.2020.01.007>
- Tan, Y., Wang, Z., Xu, M., Li, B., Huang, Z., Qin, S., Nice, E. C., Tang, J., & Huang, C. (2023). Oral squamous cell carcinomas: state of the field and emerging directions. *International Journal Of Oral Science*, 15(1). <https://doi.org/10.1038/s41368-023-00249-w>
- Tanaka, N., Zhao, M., Tang, L., Patel, A. A., Xi, Q., Van, H. T., Takahashi, H., Osman, A. A., Zhang, J., Wang, J., Myers, J. N., & Zhou, G. (2017). Gain-of-function mutant p53 promotes the oncogenic potential of head and neck squamous cell carcinoma cells by targeting the transcription factors FOXO3a and FOXM1. *Oncogene*, 37(10), 1279-1292. <https://doi.org/10.1038/s41388-017-0032-z>
- Tian, Y., Lin, J., Tian, Y., Zhang, G., Zeng, X., Zheng, R., Zhang, W., & Yuan, Y. (2017). Efficacy and safety of anti-EGFR agents administered concurrently with standard therapies for patients with head and neck squamous cell carcinoma : a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *International Journal Of Cancer*, 142(11), 2198-2206. <https://doi.org/10.1002/ijc.31157>
- Xie, J., Huang, L., Lu, Y., & Zheng, D. (2021). Roles of the Wnt Signaling Pathway in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Frontiers In Molecular Biosciences*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2020.590912>
- Yue, X., Zhao, Y., Xu, Y., Zheng, M., Feng, Z., & Hu, W. (2017). Mutant p53 in Cancer : Accumulation, Gain-of-Function, and Therapy. *Journal Of Molecular Biology*, 429(11), 1595-1606. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2017.03.030>
- Zhang, C., Liu, J., Xu, D., Zhang, T., Hu, W., & Feng, Z. (2020). Gain-of-function mutant p53 in cancer progression and therapy. *Journal Of Molecular Cell Biology*, 12(9), 674-687. <https://doi.org/10.1093/jmcb/mjaa040>
- Zhou, G., Liu, Z., & Myers, J. N. (2016). TP53 Mutations in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma and Their Impact on Disease Progression and Treatment Response. *Journal Of Cellular Biochemistry*, 117(12), 2682-2692. <https://doi.org/10.1002/jcb.25592>
- Zwenger, S. R. (2009). Bogarting that Joint Might Decrease Oral hpv among Cannabis Users. *Current Oncology*, 16(6), 5-7. <https://doi.org/10.3747/co.v16i6.429>