



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CAMPUS SOBRAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

JEFFERSON DOUGLAS LIMA FERNANDES

**ASSOCIAÇÃO DA SOX2 NO PROGNÓSTICO E SOBREVIVÊNCIA EM
PACIENTES COM CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS ORAL: UMA
REVISÃO SISTEMÁTICA E METANÁLISE**

SOBRAL – CE

2023

JEFFERSON DOUGLAS LIMA FERNANDES

**ASSOCIAÇÃO DA SOX2 NO PROGNÓSTICO E SOBREVIDA EM
PACIENTES COM CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS ORAL: UMA
REVISÃO SISTEMÁTICA E METANÁLISE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Ceará - Campus Sobral como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Área de concentração: Medicina II - Neoplasias Benignas e Malignas da Cavidade Oral.

Linha de Pesquisa: Doenças Crônicas e Câncer.

Orientador: Prof. Dr. Filipe Nobre Chaves.

SOBRAL – CE

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- F1a FERNANDES, JEFFERSON DOUGLAS LIMA FERNANDES.
ASSOCIAÇÃO DA SOX2 NO PROGNÓSTICO E SOBREVIDA EM PACIENTES COM CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS ORAL: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA E METANÁLISE / JEFFERSON DOUGLAS LIMA FERNANDES FERNANDES. – 2023.
59 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Campus de Sobral, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Sobral, 2023.
Orientação: Prof. Dr. FILIPE NOBRE CHAVES.
1. Sobrevida. 2. Prognóstico. 3. Neoplasias Bucais. 4. Carcinoma de Células Escamosas Oral. 5. SOX2.
I. Título.

CDD 610

JEFFERSON DOUGLAS LIMA FERNANDES

**ASSOCIAÇÃO DA SOX2 NO PROGNÓSTICO E SOBREVIDA EM
PACIENTES COM CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS ORAL: UMA
REVISÃO SISTEMÁTICA E METANÁLISE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Ceará - Campus Sobral como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Aprovado em: 24/07/2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Filipe Nobre Chaves

Universidade Federal do Ceará (UFC)

(Orientador)

Prof. Dr. Marcelo Bonifácio da Silva Sampieri

Universidade Federal do Ceará (UFC)

(Avaliador Interno)

Prof. Dr. Ealber Carvalho Macedo Luna

Faculdade Luciano Feijão (FLF)

(Avaliador Externo)

A **Deus**, que se faz presente em todos os momentos, meu guia. Pelo seu infinito amor e sua graça. A Ele que amparou meus anseios e me deu força e coragem necessária para seguir, esperar e acreditar que com Ele é possível chegar.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, **José Raimundo Aguiar Fernandes** e **Nilcinete Lima Costa**, que são meus pilares e minha fortaleza. Cresci vendo vocês superarem cada obstáculo que a vida colocava, passaram por momentos tão difíceis que as vezes iam dormir se sentindo exaustos, mas mesmo assim levantavam todas as manhãs com energia e ânimo, para dar amor incondicional. Obrigado pela referência do que sou e do que busco ser.

A minha irmã **Nívia Delamoniky Lima Fernandes**, que trilha também os caminhos da odontologia, por sempre me dar forças e me fazer acreditar no tempo que leva o “processo”, afinal construir uma casa na rocha demora mais que na areia, no entanto é mais firme a prova de tempestades.

As minhas queridas avós **Maria Nilça Lima Costa** e **Lionete Carneiro de Aguiar Fernandes** (in memoriam), grandes exemplos de mulheres de fé, garra e sabedoria. Obrigado, por todo amor e oração.

Aos meus avôs (in memoriam) **Antônio Cunha Fernandes** e **Cícero Francisco da Costa**, duas estrelas que sempre estão intercedendo por mim.

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Filipe Nobre Chaves**, pela manifestação de apoio e disponibilidade, que com inteligência ímpar, me aconselhou, orientou de forma assertiva e pelo estímulo permanente, não somente nos estudos, mas com ensinamentos para vida. Obrigado pela sua amizade, pela atenção e convivência científica. Seus ensinamentos mudaram minha forma de diagnosticar, refletir, agir e me fizeram buscar sempre a excelência.

Ao colega, **Me. Denis Francisco Gonçalves de Oliveira**, pela excelente contribuição, como também por todo incentivo e paciência. Foi um privilégio trabalhar com você.

Aos colegas de mestrado, **Ma. Camila Melo Mesquita** e **Wylly Wesley Costa de Moura**, pela amizade e contribuição neste trabalho.

Agradeço a banca avaliadora, composta pelos professores **Dr. Marcelo Bonifácio da Silva Sampieri** e **Dr. Ealber Carvalho Macedo Luna**, pelas contribuições para aperfeiçoamento deste trabalho, por meio de suas valiosas considerações.

A **Universidade Federal do Ceará** e seu **corpo docente**, que são fundamentais para a construção do profissional que estou me tornando.

Ao **Grupo de Estudo em Estomatologia e Patologia Oral de Sobral (GEEPOS)** e **Ambulatório de Estomatologia da UFC – Sobral** pela honra de fazer

parte, pela transmissão de conhecimentos técnico-científicos que contribuíram de forma extraordinária para minha formação acadêmico-profissional.

A Cordenção de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES),
pelo apoio financeiro e por acreditar na importância da ciência para sociedade.

“Mas os que confiam no Senhor recebem sempre novas forças. Voam nas alturas como águias, correm e não perdem as forças, andam e não se cansam”.

(Isaías 40:31)

RESUMO

O carcinoma de células escamosas oral (CCEO) é responsável por mais de 90% de todas as malignidades orais, sendo considerado um problema de saúde pública, associado a baixa taxa de sobrevida. Diversos fatores genéticos e ambientais estão envolvidos no processo da carcinogênese oral, e o *SOX2* (*SRY-box transcription factor 2*) tem despertado grande interesse na comunidade científica, pois a mesma é um importante marcador de células-tronco, que está associada a proliferação celular, migração, invasão, tumorigênese, anti-apoptose e quimiorresistência. Nesse contexto, avaliar os mecanismos do papel dual desse gene, a sua expressão e a associação com prognóstico e sobrevida nos CCEO são os objetivos do presente trabalho. Esta revisão sistemática e meta-análise [PROSPERO (CRD42023431821)] incluiu estudos observacionais que compararam a associação de desfechos clínico-patológicos e de sobrevida com a imunexpressão de *SOX2* em pacientes com CCEO e avaliou a certeza da evidência gerada. Na presente pesquisa foram investigados os desfechos: sobrevida global (OS), específica da doença (DSS) e livre da doença (DFS). Para isso foi utilizado *hazard ratio* (*HR*) como medida de efeito e *GRADE* para a avaliação da certeza da evidência. Como resultados, sete estudos de coortes foram incluídos nesta revisão, sendo analisados 900 casos de CCEO, cuja idade média dos pacientes era de 54,63 anos, predominantemente do sexo masculino (66,33%), sendo o sítio de maior acometimento a língua (72,7%), tempo médio de acompanhamento de 60,94 meses e histórico de tabagismo em 55,22% dos casos. Em relação à expressão de *SOX2*, a maior parte dos casos foi classificada como apresentando expressão aumentada (56,01%). Não se observou associação com significância estatística entre a expressão de *SOX2* e OS ($p=0,53$ e $0,44$), DSS ($p=0,74$) e DFS ($p=0,42$). A compreensão dos mecanismos pelos quais a expressão anormal de *SOX2* interfere na sobrevida ainda não está bem elucidada, sendo necessários mais estudos com delineamento prospectivo, padronizados e que trabalhe análises combinadas, afim de compreender o papel dessa via, para que se possa desenvolver estratégias terapêuticas mais eficazes.

Palavras-chaves: Sobrevida; Prognóstico; Neoplasias Bucais; Carcinoma de Células Escamosas Oral; *SOX2*.

ABSTRACT

Oral squamous cell carcinoma (OSCC) accounts for more than 90% of all oral malignancies and considered a public health problem, associated with a low survival rate. Several genetic and environmental factors are involved in the process of oral carcinogenesis, and *SOX2* (*SRY-box transcription factor 2*) has aroused great interest in the scientific community, as it is an important stem cell marker, which is associated with cell proliferation, migration, invasion, tumorigenesis, anti-apoptosis and chemoresistance. In this context, to evaluate the mechanisms of the dual role of this gene, its expression and the association with prognosis and survival in OSCC are the objectives of the present work. This systematic review and meta-analysis [PROSPERO (CRD42023431821)] included observational studies that compared the association of clinicopathologic and survival outcomes with *SOX2* immunoeexpression in OSCC patients and assessed the certainty of the evidence generated. In the present study, the following outcomes were investigated: overall survival (OS), disease-specific survival (DSS) and disease-free survival (DFS). For this purpose, *hazard ratio* (*HR*) used as a measure of effect and GRADE was used to assess the certainty of the evidence. As results, seven cohort studies were included in this review, 900 cases of OSCC were analyzed, whose mean age of patients was 54.63 years, predominantly male (66.33%), the site of greatest involvement being the tongue (72.7%), mean follow-up time of 60.94 months and history of smoking in 55.22% of cases. Regarding *SOX2* expression, most cases classified as having increased expression (56.01%). No statistically significant association was observed between *SOX2* expression and OS ($p=0.53$ and 0.44), DSS ($p=0.74$) and DFS ($p=0.42$). The understanding of the mechanisms by which abnormal *SOX2* expression interferes with survival yet not well elucidated, and more studies with a prospective, standardized design and combined analyses needed to understand the role of this pathway in order to develop more effective therapeutic strategies.

Keywords: Survival; Prognosis; Mouth Neoplasms; Oral Squamous Cell Carcinoma; *SOX2*.

LISTA DE FIGURAS

FIGURAS REVISÃO DE LITERATURA

- FIGURA 1** – Funções da SOX2 na carcinogênese (Adaptado de REN et al., 2016). ...19
- FIGURA 2** – Via de Sinalização SOX2 interage com outras vias na carcinogênese (DING et al., 2023). 20

FIGURAS CAPÍTULO ÚNICO

- FIGURA 1** – Identificação e seleção dos estudos. 42
- FIGURA 2** – Resultados da avaliação de risco de viés. 43
- FIGURA 3** – Associação entre expressão de SOX 2 e sobrevida no CCEO. 44

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 – Lista de verificação de avaliação crítica do JBI para estudos de coorte....	
.....	45
QUADRO 2 – Classificação do risco de viés.	46

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Resumo das características descritivas dos estudos incluídos.	47
TABELA 2 – Metanálises das características sociodemográficas e clínicas.	48
TABELA 3 – Avaliação da certeza da evidência.	49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AKT	Serina/treonina proteína quinase.
ALDH1A1	Aldeído Desidrogenase 1.
BMI1	Proteína do grupo <i>Polycomb</i> , capaz de induzir atividade de telomerase, levando à imortalização de células epiteliais.
CCEO	Carcinoma de Células Escamosas Orais.
CD133	Glicoproteína expressa em células-tronco hematopoiéticas.
CD44	Glicoproteína de membrana celular envolvida em interações célula-célula, migração e adesão.
CSCs	Do inglês, <i>Cancer Stem Cells</i> ; Células-tronco Cancerígenas.
DFS	Do inglês, <i>Disease-Free Survival</i> .
DNA	Do inglês, <i>Desoxyribonucleic acid</i> ; Ácido Desoxirribonucléico.
DSS	Do inglês, <i>Disease Specific Survival</i> .
EGFR	Receptor do fator de crescimento epidérmico.
EpCAM	Do inglês, <i>Epithelial cell adhesion molecule</i> ; molécula de adesão celular epitelial.
ERK	Proteína quinase regulada extracelular (ERK).
GLOBOCAN	Do inglês, <i>Global Cancer Observatory</i> .
HMG	Do inglês, <i>High Mobility Group Proteins</i> ; Proteínas de Grupo de Alta Mobilidade.
HPV	Do inglês, <i>Human Papiloma Virus</i> ; Papiloma Vírus Humano.
HR	Do inglês, <i>Hazard Ratio</i> .
IFITM	Proteína transmembrana induzida por interferon.
INCA	Instituto Nacional do Câncer.
L1CAM	Do inglês, <i>L1 cell adhesion molecule</i> ; proteína transmembrana membro da família de proteínas L1.
OCT4	Octâmero de ligação do fator de transcrição 4; gene de regulação da pluripotência das células-tronco embrionárias.
OS	Do inglês, <i>Overall Survival</i> .
PI3K	Do inglês <i>Phosphatidylinositol-3-Kinase</i> .
PRISMA	Do inglês, <i>Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses</i> .

PROSPERO	Do inglês, <i>International Prospective Register of Systematic Reviews</i> .
SOX2	Do inglês, <i>SRY-box transcription fator 2</i> .
STAT3	Do inglês, <i>Signal transducer and activator of transcription 3</i> ; controla processos celulares como a proliferação e a sobrevivência.
TBL1XR1	Transducina (beta)-like 1 receptor ligado ao X 1.
WNT	Família de glicoproteínas secretadas que desempenham papéis essenciais no desenvolvimento embrionário e fetal e na manutenção dos tecidos.
XIAP	IAP ligada ao cromossomo X.
β-CATENINA	Proteína codificada pelo gene CTNNB1 em seres humanos.

SUMÁRIO

1	REVISÃO DE LITERATURA	17
2	PROPOSIÇÕES	22
3	CAPÍTULO ÚNICO	23
4	CONCLUSÃO GERAL	53
	REFERÊNCIAS	54

1 REVISÃO DE LITERATURA

1.1 – Câncer de Boca

O câncer é uma das principais causas de morte e uma barreira importante para o aumento da expectativa de vida em todos os países do mundo. Estima-se que mundialmente uma a cada seis mortes seja por câncer (BRAY et al., 2018). No cenário brasileiro estima-se 704.000 novos casos de câncer para cada ano do triênio 2023-2025, destes 2,15% acometem a cavidade oral (FERLAY et al., 2018; INCA, 2022).

O câncer de cabeça e pescoço corresponde à 16^a neoplasia maligna mais prevalente em todo o mundo (LEEMANS; SNIJDERS; BRAKENHOFF, 2018; GLOBOCAN, 2020; JIANG et al., 2022). Se caracteriza por ser um grupo heterogêneo de tumores, que se origina principalmente na língua, assoalho de boca, mucosa bucal, palato e rebordo alveolar; repercutindo na qualidade de vida do paciente tanto durante o diagnóstico, quanto no período de tratamento (COCA-PELAZ et al., 2018; COLEVAS et al., 2018; JIANG et al., 2022). Segundo dados do GLOBOCAN (*Global Cancer Observatory*) do ano de 2020, 2% dos novos casos de câncer diagnosticados no mundo e 1,8% das mortes por câncer foram associadas ao carcinoma de células escamosas oral (CCEO) (SUNG et al., 2021; JOSHI et al., 2023).

No Brasil, estimou-se para cada ano do triênio 2023-2025, uma incidência de 15.100 novos casos de câncer da cavidade oral, destes 10.900 em homens (10,30/100 mil) e 4.200 em mulheres (3,83/100 mil), sendo considerado assim o 8º tipo mais comum de câncer (INCA, 2022). A incidência de carcinomas de células escamosas oral varia de acordo com a região do país, sendo mais frequente nas regiões Sul e Sudeste - 70% da incidência (INCA, 2022).

Diversos são os fatores de risco elencados na literatura para o CCEO, os principais deles são tabagismo, alcoolismo, exposição à radiação ultravioleta, nutrição, susceptibilidade genética, além de infecções virais pelo papiloma vírus humano (HPV) e herpes simples (CHI; DAY; NEVILLE, 2015; HINGSAMMER et al., 2019; CHOW et al., 2020; JIANG et al., 2022).

Histologicamente o CCEO apresenta diferentes graus de displasia epitelial oral, que podem estar correlacionados com o grau de progressão da doença (ARGIRIS; KARAMOUZIS; RABEN, 2008; HASHIBE et al., 2009; CANNING et al., 2019; HOU et al., 2020). Inicialmente as lesões podem apresentar-se assintomáticas e a maioria dos diagnósticos somente são realizados quando a lesão já se encontra em estágio avançado (estágios III ou IV), o que acaba

resultando em um prognóstico ruim, com sobrevida em 05 anos <50% dos casos (CAMPBELL et al., 2018; ALVES et al., 2021; ZHAO et al., 2021). Ademais, 40% dos carcinomas orais são apresentados como carcinomas de língua (LEEMANS; SNIJDERS; BRAKENHOFF, 2018; CANNING et al., 2019).

Nas últimas décadas foram evidenciados grandes avanços no mapeamento de vários componentes do microambiente tumoral, nessa perspectiva temos as células-tronco cancerígenas (CSCs), uma população distinta de células neoplásicas que estão associadas à progressão tumoral, metástase, recidiva e resistência às terapias antineoplásicas convencionais (ALI et al., 2017; ALVES et al., 2021). O papel das CSCs já vem sendo estudado em vários tumores sólidos (WUEBBEN et al., 2017; BADWELAN et al., 2023), incluindo o CCEO (DE MORAES et al., 2017; BOXBERG et al., 2018; GUNDUZ et al., 2021). A resistência à terapia antineoplásica e as taxas de recidiva da lesão conferem às CSCs a capacidade em determinar os resultados terapêuticos e de prognóstico (ALI et al., 2017; CAMPBELL et al., 2018; HOU et al., 2020).

É indubitável que apenas as características clínicas e histopatológicas não são preditores eficazes sobre a evolução ou involução das lesões malignas. Por esse motivo, muitos estudos investigam alterações moleculares na tentativa de identificar biomarcadores preditivos da carcinogênese (CÂMARA et al., 2016). Esses marcadores são proteínas que participam de vias de sinalização no ciclo celular, na supressão de tumores, estabilidade genômica, apoptose, angiogênese e proliferação celular, além de outras funções celulares (MUKOHARA et al., 2015).

Nessa perspectiva, vários marcadores moleculares foram reconhecidos como importantes e vem sendo amplamente estudados no CCEO, dentre eles, SOX2, CD44, ALDH1A1, CD133, podoplanina, EpCAM, BMI1 e OCT4 (WUEBBEN et al., 2017; HÜSER et al., 2018; GUNDUZ et al., 2021; BADWELAN et al., 2023). Ademais, estudos mostraram associações negativas e positivas de CSCs com características clinicopatológicas e desfechos de prognóstico e sobrevida no CCEO (PRINCE et al., 2007; MOHARIL et al., 2017; JOHNSON et al., 2020; CHAUDHURY et al., 2023).

1.2 – Via de Sinalização SOX2

SOX2, sigla do inglês “*SRY-box transcription factor 2*”, é uma família de fatores de transcrição com uma característica da região de ligação do DNA através do domínio HMG (do inglês, *High Mobility Group Proteins*), que é altamente conservada em eucariotos, um gene codificador de fator de transcrição de éxon único, localizado em 3q26.3-27, que apresenta papel importante em várias fases do desenvolvimento embrionário, importância na biologia do desenvolvimento e das células-tronco e também podem afetar a diferenciação celular ao promover alterações na transição epitélio-mesenquimal que levam a um ganho de motilidade e polaridade das células epiteliais, aumentando o potencial de invasão e metástase (REN et al., 2016; TANG et al., 2022; CHAUDHURY et al., 2023).

As proteínas da família SOX, à nível molecular, compartilham um domínio de ligação de DNA de grupo de alta mobilidade e sua expressão é regulada por fatores intrínsecos e extrínsecos, o que pode traduzir em múltiplos fenótipos biológicos por meio da ativação de várias vias de sinalização carcinogênicas (JI et al., 2018; SHONIBARE et al., 2022). Adicionalmente, SOX2 é considerado um importante marcador de CSCs e correlacionada com diferentes funções na carcinogênese (figura 1) (REN et al., 2016).



Figura 1: Funções da SOX2 na carcinogênese (Adaptado de REN et al., 2016).

SOX2 pode ser observado inserido em múltiplas vias de sinalização (figura 2), como proteína transmembrana induzida por interferon (IFITM), receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR), IAP ligada ao cromossomo X (XIAP), proteína quinase regulada extracelular (ERK), fosfoinosítídeo 3-quinase (PI3K), serina/treonina proteína quinase (AKT), transducina (beta)-like 1 receptor ligado ao X 1 (TBL1XR1), ERK, SOX17/miR-371-5p. Estas vias podem regular SOX2 para aumentar os fenótipos de plasticidade das CSCs nas neoplasias (JI et al., 2018; YANG et al., 2019; LU et al., 2021; DING et al., 2023).

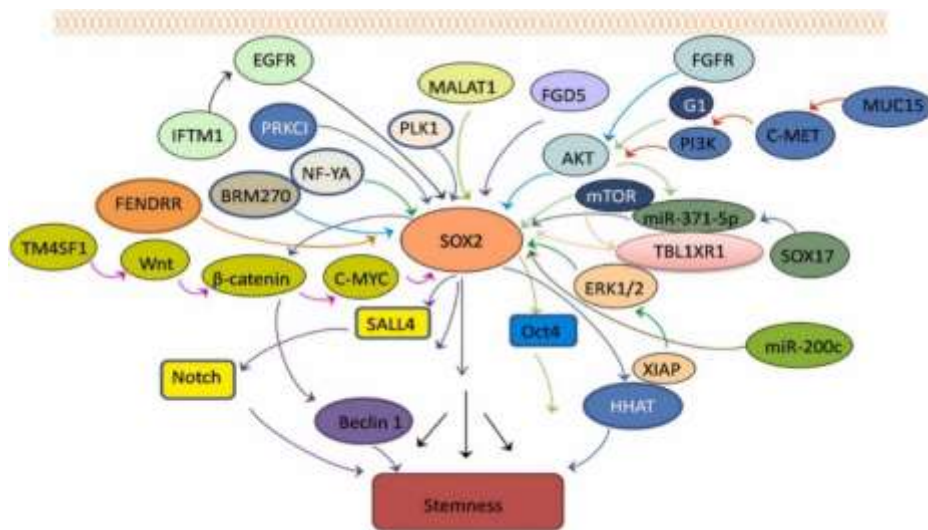


Figura 2: Via de Sinalização SOX2 interage com outras vias na carcinogênese (DING et al., 2023).

Dentre formas de avaliar a expressão de SOX2, uma delas é por meio de análise imunoistoquímica, na qual a expressão tem sido encontrada em pelo menos 30% dos tumores avaliados, sendo o principal ponto de localização da imunomarcagem o núcleo celular, vide que as proteínas SOX são reguladas em vários níveis e agem de uma forma dose-dependente, dessa forma, se ligando a regiões no DNA e podem formar complexos com outros fatores de transcrição (LEIS et al. 2012; FU et al., 2016; VIDHALE et al., 2022). A superexpressão de SOX2 está frequentemente associada a um prognóstico adverso, incluindo recorrência, linfonodo, metástases à distância, além de resistência a radioterapia, quimioterapia e uma diminuição da taxa de sobrevivência (LIU et al., 2013; MOHARIL et al., 2017). Outros estudos evidenciaram que a alta expressão de SOX2 conferia um melhor prognóstico (JOHNSON et al., 2020; ADNAN et al., 2022).

A proteína SOX2 foi conhecida inicialmente por regular a autorrenovação de células-tronco embrionárias bem como é um importante mecanismo para a manutenção de células-tronco em vários tecidos adultos. Recentemente, a amplificação do gene de *SOX2* tem sido associada com o desenvolvimento de carcinoma de células escamosas em vários sítios tais como o pulmão e o esôfago. Embora os níveis de SOX2 sejam modulados transcricionalmente e translacionalmente, a modificação pós-translacional também é importante para as várias funções da SOX2 refletindo no papel dual dessa proteína. Em diversos casos de neoplasias malignas, altos níveis de SOX2 estão correlacionados com pior prognóstico e aumento da proliferação de células-tronco tumorais. Portanto, SOX2 pode ser potencialmente explorada como uma nova via terapêutica para o tratamento de câncer (LIU et al. 2013).

Nos últimos anos, descobriu-se que a SOX2 é altamente expressa em diferentes tipos de tumores, como câncer de mama, câncer de pulmão, câncer colorretal, câncer pancreático e câncer gástrico (YUAN et al., 2021; LI et al., 2022; TANG et al., 2022; BALBINOT et al., 2023). Entretanto, no CCEO, o papel da expressão de SOX2 e as características clinicopatológicas e o prognóstico do paciente são altamente divergentes (FU et al., 2016; BAUMEISTER et al., 2018; DE VICENTE et al., 2019; CHAUDHURY et al., 2023). Ademais, os estudos publicados em sua maioria são de pequeno porte e heterogêneos, assim, é difícil avaliar o prognóstico clínico de SOX2 em pacientes com CCEO, necessitando de estudos de associação que avalie a superexpressão dessa proteína no câncer oral.

2 PROPOSIÇÕES

2.1 – Geral

Analisar a associação entre expressão de SOX2 e sobrevida no CCEO, através de uma revisão sistemática e metanálise.

2.2 – Específicas

- Realizar uma revisão sistemática sobre o papel prognóstico de SOX2 no CCEO;
- Realizar metanálises para agrupar as medidas de efeitos referente aos desfechos de interesse;
- Avaliar a certeza da evidência gerada para os desfechos de interesse;
- Descrever as características dos estudos que investigam o papel de SOX2 no CCEO;
- Descrever as características sociodemográficas e clínicopatológicas dos pacientes.

3 CAPÍTULO ÚNICO

A presente dissertação de Mestrado está baseada no Artigo 43 do Regimento Interno do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Ceará que regulamenta o formato alternativo para dissertação de Mestrado e permite a inserção de artigos científicos de autoria ou coautoria do candidato.

CAPÍTULO ÚNICO – “SOX2 e sobrevida no carcinoma de células escamosas oral: uma revisão sistemática e metanálise”. Jefferson Douglas Lima Fernandes, Filipe Nobre Chaves. Este artigo foi submetido para publicação no periódico da revista “*ASIAN PACIFIC JOURNAL OF CANCER PREVENTION*”. (ISSN: 1513-7368), que possui classificação A4 do Qualis Referência na Plataforma Sucupira (CAPES) referente ao presente quadriênio.

Página de Títulos

REVISÃO SISTEMÁTICA

**SOX2 E SOBREVIDA NO CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS ORAL: UMA
REVISÃO SISTEMÁTICA E METANÁLISE**

SOX2 E SOBREVIDA NO CCEO

Jefferson Douglas Lima Fernandes¹, Filipe Nobre Chaves^{2*}

¹ Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Campus de Sobral, Brasil.

² Doutor, Professor Adjunto da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Ceará, Campus de Sobral, Brasil.

***Autor Correspondente:** Filipe Nobre Chaves, DDS, MSc, PhD.

Rua Conselheiro José Júlio, S/N. Centro, Sobral, Ceará, Brazil.

Zip code: 62.010-820. Phone: +55 (85) 3695-4626.

E-mail: filipenobrechaves@gmail.com

Conflito de interesses: Os autores declaram não ter qualquer conflito de interesses.

Todos os autores concordaram com a submissão.

INTRODUÇÃO

O câncer de cabeça e pescoço se caracteriza por um grupo heterogêneo de tumores com alta prevalência na população mundial, destacando-se o carcinoma de células escamosas oral (CCEO) que representa 90% de todas as malignidades, sendo o 16º câncer mais comum, responsável por uma incidência de cerca de 660.000 casos e 325.000 mortes por ano em todo o mundo; e geralmente está associado a um prognóstico ruim, gerando custos anuais de tratamento na faixa de 2 bilhões de dólares (Chamoli et al., 2021; Sung et al., 2021; Badwelan et al., 2023). O CCEO apresenta uma baixa sobrevida em 5 anos (<50%) e taxa de recidiva variando de 18-76% dos casos (Chen et al., 2022; Muller & Tilakaratne, 2022; Badwelan et al., 2023; Gonzalez et al., 2023).

Nos últimos anos tem crescido o número de estudos que se concentram na busca por biomarcadores moleculares que visem entender a relação entre as células-tronco cancerígenas (CSCs) e a ocorrência e desenvolvimento do tumor de maneira a prever a concepção de novos métodos de diagnósticos, terapêuticos e prognósticos (Fu et al., 2016; Rodrigues et al., 2018; Chen et al., 2022). Nessa perspectiva, cada vez ganha mais destaque estudos sobre o gene codificador de fator de transcrição *SOX2* (do inglês, *SRY-box transcription factor 2*), que se destaca por ser um importante marcador de células-tronco e é citado em aproximadamente 25 tipos de cânceres humanos, incluindo o câncer de cabeça e pescoço, estando associado a proliferação celular, migração, invasão, tumorigênese, anti-apoptose e quimiorresistência (Li et al., 2020; Wang et al., 2020; Yuan et al., 2021; Zhao et al., 2021; Tang et al., 2022).

Entretanto, ainda é controverso na literatura a associação entre CCEO e a via de sinalização da *SOX2*. Para alguns autores a superexpressão de *SOX2* está associada à metástase linfonodal e baixa sobrevida (Du et al., 2011; Liu et al., 2018; Adnan et al., 2022), enquanto outros estudos indicam um melhor prognóstico associado (Huang et al., 2014; Fu et al., 2016). Portanto, estudos de correlação de literaturas publicadas são necessários para que se possa avaliar sistematicamente a expressão de *SOX2* e seu papel dual na carcinogênese oral, especialmente no tocante a taxa de sobrevida.

Desse modo, o presente estudo buscou investigar o papel da expressão de *SOX2* na sobrevida de pacientes com CCEO, analisar dados clínicos-patológicos e avaliar a certeza da evidência gerada, através de uma revisão sistemática e metanálise.

MATERIAIS E MÉTODOS

A presente pesquisa utilizou como base o *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA) (Page et al., 2021), sendo cadastrada na *International Prospective Register of Systematic Reviews* (PROSPERO), com o número de identificação CRD42023431821.

Critérios de Elegibilidade

A pergunta norteadora para elaboração dessa revisão foi: existe associação entre a expressão de SOX2 e a sobrevida no CCEO?

Para respondê-la, foram adotados os seguintes critérios de inclusão: estudos publicados utilizando o alfabeto romano, estudos que investigam a expressão de SOX2 em CCEO; estudos com delineamento do tipo coorte; estudos que investigam sobrevida global (OS), específica da doença (DSS) e livre da doença (DFS). Não restringimos o período de publicação. Foram excluídos: revisões de literatura; séries de casos; relatos de casos; estudos transversais; estudos duplicados; estudos realizados em modelo animal ou *in vitro*; e os estudos que não reportaram dados referente ao *hazard ratio* (HR).

Fontes de Informação

As buscas foram realizadas nas seguintes bases de dados: PubMed, Web of Science, Scopus, Livivo e Embase. Para a identificação da literatura cinzenta utilizamos o Google Scholar, selecionando os 100 primeiros resultados. Na fase de gerenciamento das referências e exclusão de estudos duplicados utilizamos como ferramenta o EndNote Web e o Rayyan (Ouzzani et al., 2016). As buscas foram realizadas em 05 de junho de 2023.

Estratégia de Busca

As estratégias de busca foram construídas pela combinação dos seguintes descritores: “*Survival*”, “*Prognosis*”, “*Mouth Neoplasms*”, “*Oral Squamous Cell Carcinoma*” e “*SOX2*”. Ressalta-se que utilizamos também termos semelhantes e os operadores booleanos “AND” e “OR” (apêndice A).

Seleção dos Estudos

O processo de seleção dos estudos foi realizado por três revisores de forma independente (JDLF, CMM e WWCM). Primeiramente (fase 1), os estudos foram selecionados por meio da leitura de títulos e resumos. Posteriormente (fase 2), os estudos foram avaliados com base no texto completo. Em caso de discordância entre os revisores, consultamos um quarto revisor (DFGO). O software Rayyan foi utilizado para o gerenciamento das duas fases do processo de seleção.

Processo de Coleta de Dados

Três revisores de forma independente e previamente calibrados realizaram a coleta dos dados (JDLF, CMM e WWCM) por meio de uma planilha de coleta de dados do *Google Sheets*. A discussão com um quarto revisor (DFGO) resolveu os casos de discordância. Os dados coletados foram: autor, ano, país, continente, tipo de estudo, amostra, idade, sexo, localização do tumor, diferenciação do tumor, classificação TNM, estágio clínico, hábitos (tabagismo e ingestão de álcool), número de pacientes com baixa e alta expressão de SOX2, ponto de corte para SOX2, método de investigação da expressão de SOX2, tempo de *follow up*, e dados de HR.

Avaliação do risco de viés

O risco de viés entre os estudos incluídos foi investigado por três revisores de forma independente (JDLF, CMM e WWCM), e em casos de divergências um quarto revisor (DFGO) auxiliou no consenso. Para essa etapa foi utilizado o checklist de avaliação crítica para estudos de coorte do Instituto Joanna Briggs (Moola et al., 2020), que apresenta as questões descritas no quadro 1.

O risco de viés dos estudos incluídos foi estimado com base no percentual de respostas “sim” obtidas no checklist. Os pontos de corte adotados (quadro 2) foram estabelecidos com base em estudos que utilizaram checklist do Instituto Joanna Briggs (Oliveira et al., 2021; Réus et al., 2022). Para construção da figura de risco de viés foi utilizado o software R, versão 4.3.1 (pacote dmetar).

Medidas de Efeitos e Síntese dos Resultados

Na presente pesquisa foram investigados os desfechos: OS, DSS e DFS. Para isso foi utilizado o HR como medida de efeito. Ademais, realizou-se o agrupamento dos dados pelo

método do inverso da variância, através do software estatístico R (versão 4.3.1, pacote meta). Associamos a alta expressão de SOX2 com os desfechos. Por conseguinte, utilizou-se o inverso do HR nos casos que este se referia à associação entre baixa expressão e desfechos. Devido os estudos serem de populações variadas, adotou-se o modelo randômico, sendo a heterogeneidade estatística avaliada por meio do I^2 e do teste Q. O nível de significância assumido para todas as análises foi de 5% ($p < 0,05$).

Avaliação da Certeza da Evidência

Para a avaliação da certeza da evidência se utilizou o *Grading of Recommendations, Assessment, Development and Evaluations* (GRADE) (Guyatt et al., 2011). O mesmo possui os seguintes critérios para classificar a evidência: risco de viés, inconsistência, imprecisão, presença de evidência indireta e o viés de publicação. A partir dos quais será elencado o nível de evidência dos estudos em alta, moderada, baixa e muito baixa. É importante salientar que os estudos observacionais são categorizados como possuindo baixa certeza de evidência, podendo elevar a certeza com base nos seguintes critérios: fatores de confusão que podem minimizar o efeito, dose resposta e efeito de grande magnitude.

RESULTADOS

Seleção dos estudos

Identificou-se 502 estudos nas bases de dados e literatura cinzenta (figura 1). 235 estudos eram duplicados. Dessa forma, 267 estudos foram avaliados com base no título e resumo, sendo que apenas 20 registros seguiram para fase 2 de seleção. Desses, 6 estudos eram resumo de congresso. Por conseguinte, apenas 14 artigos foram avaliados na fase 2 de seleção (leitura de texto completo). 7 estudos satisfizeram os critérios de elegibilidade e foram incluídos na presente revisão.

Caracterização dos estudos e da amostra

Sete estudos de coortes foram incluídos nesta revisão (tabela 1). Foram publicados entre 2011 e 2022, sendo provenientes da China (3), Taiwan (1), Índia (1), Paquistão (1) e Espanha (1). Em relação à amostra (tabela 2), 900 casos de CCEO foram analisados. Esses pacientes apresentavam uma idade média de 54,63 anos, cuja maioria era do sexo masculino (66,33%). Foram acompanhados por um tempo médio de 60,94 meses, e muitos pacientes

apresentavam histórico de tabagismo (55,22%). A localização mais afetada foi língua (72,7%), sendo que a maior parte das lesões eram moderadamente diferenciada (53,92%). Esses tumores foram classificados principalmente como T1 e T2 (70,89%), e a maioria dos pacientes não apresentavam envolvimento linfonodal (70,25%). Por conseguinte, esses pacientes foram mais frequentemente diagnosticados em estágios iniciais (54,08%). Em relação à expressão de SOX2, a maior parte dos casos foi classificada como apresentando expressão aumentada (56,01%).

Risco de viés

No geral, os estudos apresentaram baixo risco de viés. Destaca-se que as perguntas que apresentaram maior percentual de risco de viés foram aquelas sobre fatores de confusão e sobre o *follow up* (figura 2).

Resultados individuais dos estudos

Adnan et al. (2022) investigaram por imunoistoquímica a expressão de SOX2 em 100 pacientes com CCEO. Em análise univariada, não se observou associação com significância estatística entre SOX2 e OS [HR=1,247 (IC de 95%: 0,668-2,325), p=0,321], nem com DFS [HR=1,36 (IC de 95%: 0,79-2,35), p=0,265].

De Vicente et al. (2019) já observaram resultados com significância estatística. Os pesquisadores investigaram a expressão nuclear de SOX2, via análise imunoistoquímica, em 125 casos de CCEO. O estudo evidenciou que o aumento da expressão de SOX2 se associou com uma melhor OS [HR=0,59 (IC de 95%: 0,33-1,05), p=0,07].

Huang et al. (2014), Fu et al. (2016) e Pradhan et al. (2019) obtiveram resultados semelhantes aos De Vicente et al. (2019). Huang et al. (2014) investigaram a imunoexpressão de SOX2 em 66 casos de CCEO de língua e demonstraram que o aumento da expressão desse biomarcador é preditor independente para melhor OS [HR por análise univariada = 0,68 (IC de 95%: 0,46-1,01), p=0,056; HR por análise multivariada = 0,55 (IC de 95%: 0,36-0,84), p=0,005]. Fu et al. (2016), avaliando 436 pacientes com CCEO, evidenciaram que níveis mais elevados da expressão de SOX2 estão associados a uma melhor DSS [HR por análise univariada= 0,55 (IC de 95%: 0,41-0,73), p=0,02; HR por análise multivariada= HR: 0,63 (IC de 95%: 0,47-0,84), p=0,002]. E Pradhan et al. (2019), apesar de avaliar 60 casos de CCEO, inclui apenas 30 casos nas análises de sobrevida, mostrando que níveis reduzidos de SOX2 se associaram com uma pior DFS (IC de 95%: 10,627-27,149; p=0,043).

Por outro lado, Du et al. (2011) mostraram que alta expressão de SOX2 é preditor independente para pior OS [HR=2,94 (IC de 95%: 1,10-7,89), p=0,32], DSS [HR=3,25 (IC de 95%: 1,09-9,71), p=0,035] e DFS [HR=4,04 (IC de 95%: 1,378-11,85), p=0,011]. O estudo avaliou 82 casos de CCEO.

Achados semelhantes foram obtidos por Liu et al. (2018). Estes investigaram a expressão de SOX2 em 61 amostras de CCEO, utilizando imunohistoquímica. Os pesquisadores mostraram existir associação com significância estatística entre a expressão de SOX2 e a sobrevida de pacientes com CCEO. O aumento da expressão desse marcador prediz de forma independente pior OS [HR por análise univariada= 3,98 (IC de 95%: 1,36-11,58), p=0,011; HR por análise multivariada: 3,37 (IC de 95%: 1,10-10,29), p=0,033].

Síntese dos resultados

Sobrevida global

Foram incluídos 3 estudos com 227 pacientes na metanálise com dados provenientes de análise univariada (figura 3 A) e 3 estudos com 209 pacientes na análise multivariada (figura 3 B). Não se observou associação com significância estatística entre a expressão de SOX2 e sobrevida global (p=0,53 e 0,44), sendo que os dados se mostraram bastante heterogêneos ($I^2 = 81\%$ e 87% ; p<0,01). Devido ao número reduzido de estudos, não foi possível investigar a heterogeneidade estatística, nem avaliar o viés de publicação.

Sobrevida específica da doença

Foram incluídos dois estudos com 561 pacientes na metanálise com dados provenientes de análise univariada (figura 3 C). Observou-se existir associação entre SOX2 e sobrevida específica da doença (p<0,01). Alta expressão de SOX2 se associou com melhor sobrevida, com resultado homogêneo ($I^2 = 0\%$; p=0,83). No entanto, na análise multivariada (2 estudos com 518 pacientes, figura 3 D) não se observou tal associação (p=0,74), evidenciando heterogeneidade no resultado ($I^2 = 88\%$; p<0,01). Não se investigou as causas da heterogeneidade, nem viés de publicação devido ao número reduzido de estudos que entraram nas metanálises.

Sobrevida livre da doença

Só foi possível agrupar os dados provenientes de análise univariada (2 estudos com 130 pacientes, figura 3 E). Não se observou associação com significância estatística entre SOX2

e sobrevida livre de doença ($p=0,42$), com resultado bastante heterogêneo ($I^2 = 99\%$; $p<0,01$). Devido ao limitado número de estudos, não foi possível investigar as causas da heterogeneidade, nem o viés de publicação. Em relação à análise multivariada, apenas um estudo apresentou tal informação (Du et al., 2011), mostrando uma associação significativa entre alta expressão e pior sobrevida ($p=0,011$).

Certeza da evidência

Os três desfechos apresentaram avaliação da certeza da evidência muito baixa. Contribui para essa avaliação a presença de heterogeneidade estatística, a imprecisão dos achados e ainda a suspeita de viés de publicação (tabela 3).

DISCUSSÃO

A expressão anormal de fatores genéticos se tornou uma preocupação crescente na terapia do câncer (Alves et al., 2021; Xiao et al., 2022; Badwelan et al., 2023). Os marcadores de CSCs são considerados importantes sinalizadores a serem explorados devido ao seu potencial prognóstico e a capacidade de iniciar e manter o processo da carcinogênese (Hou et al., 2020; Gunduz et al., 2021; Orrapin et al., 2022; Xiao et al., 2022). Nessa perspectiva, o papel da SOX2 vem sendo muito discutido, visto que ela é considerada importante para manutenção da autorrenovação das CSCs, atuando como um ativador transcricional, sendo essencial na regulação de genes, embriogênese e pluripotência celular (Orrapin et al., 2022).

A proteína SOX2 foi conhecida inicialmente pela regulação a autorrenovação de células-tronco embrionárias, apresentando-se como um fator de transcrição para o estabelecimento de células-tronco pluripotentes induzidas (Liu et al., 2013). Devido à implicação da proteína SOX2 em importantes mecanismos celulares, foi demonstrado que ela sofre expressão anormal em várias doenças, especialmente no câncer (Mirzaei et al., 2022). Desse modo, há um entendimento que *SOX2* atua agindo como uma oncoproteína, regulando a fisiologia do câncer através da promoção de vias de sinalização, como WNT/ β -Catenina, via PI3K/AKT e STAT3 (Shonibare et al., 2022; Venugopal et al., 2023). A expressão aumentada de SOX2 em pacientes com câncer evidencia resultados prognósticos diferentes dependendo do local de acometimento, por exemplo, para tumores cerebrais, torácicos, ginecológicos, mama e urológico, a superexpressão medeia a progressão do tumor, as metástases linfonodais e a baixa

taxa de sobrevida (Mollaoglu et al., 2018; Aldape et al., 2019; Qin et al., 2020; Robinson et al., 2021; Mirzaei et al., 2022).

Alguns estudos observam que uma superexpressão de SOX2 está correlacionada a melhor prognóstico e aumento da taxa de sobrevida (Fu et al., 2016; De Vicente et al., 2019), entretanto, também é observado uma regulação positiva de SOX2 na resistência à terapia, favorece metástases e progressão das células cancerígenas, estando associada ao mau prognóstico e diminuição da sobrevida global dos pacientes (Du et al., 2011; Chaudhury et al., 2023). Por sua vez, no CCEO os níveis de expressão da proteína SOX2, evidencia resultados controversos, o que sugere um papel dual dessa via nas neoplasias de cabeça e pescoço (Fu et al., 2016; De Vicente et al., 2019). Esses diferentes papéis para SOX2 envolvem complicadas redes de regulação que consistem em microRNAs, quinases e moléculas de sinalização. Embora os níveis de SOX2 sejam modulados transcricionalmente e translacionalmente, a modificação pós-translacional também é importante para as várias funções do SOX2 (Liu et al., 2013).

Na presente revisão sistemática, não se observou associação entre expressão de SOX2 e sobrevida no CCEO na maioria das análises. Esses achados foram divergentes de uma meta-análise recente que investigou o papel prognóstico de SOX2 em pacientes com tumores sólidos. Esse estudo mostrou que a alta expressão de SOX2 está associada com pior prognóstico em pacientes com tumores sólidos (Wang et al., 2020). Destaca-se, que os achados podem ter sido diferentes principalmente pelo fato desse estudo ter considerado além da cavidade oral, outras localizações nas análises.

Resultados semelhantes aos nossos, foram apresentados por uma revisão que investigou o papel prognóstico desse marcador no câncer de cabeça e pescoço. O estudo mostra não existir associação com significância estatística entre a expressão reduzida de SOX2 e sobrevida global [HR = 1,30 (0,88 – 1,91); p = 0,18], nem com sobrevida livre da doença [HR = 1,39 (1,00 - 1,93); p = 0,05] (Li et al., 2020). Esses dados se mostraram congruentes com os achados da presente pesquisa provavelmente devido existir alguns estudos incluídos na presente revisão que também foram considerados naquele estudo.

É importante destacar que apesar da SOX2 estar relacionada com desfechos desfavoráveis em vários tipos de câncer (Wang et al., 2020), estudos têm mostrado que este fator de transcrição pode desempenhar um efeito antitumoral através da regulação de genes supressores de tumor em tecidos e condições específicas (Wang et al., 2020). Adicionalmente, pesquisas evidenciam que a expressão de SOX2 em estágios avançados do tumor pode interferir na plasticidade das células tumorais e na ativação da transição mesenquimal pela

estabilização do fenótipo epitelial (Thierauf et al., 2017). Esses mecanismos podem justificar o fato da alta expressão de SOX2 ter se associado a uma melhor sobrevida específica da doença na meta-análise com dados provenientes de análise univariada.

Ademais, em outros tipos de cânceres, como melanoma e câncer de pulmão, já vem sendo investigado o papel da plasticidade dos tumores, impulsionado por uma rede de fatores de transição epitelial para mesenquimal mediado por proteínas como a SOX2, que interagem com reguladores epigenéticos, sendo proposta para explicar a rápida adaptação das células do câncer ao tratamento (Tang et al., 2020; Guo et al., 2023). Dentro desse contexto é de extrema importância definir a rede de reguladores epigenéticos que cooperam com os fatores de transição epitelial para mesenquimal no câncer de forma geral e também no CCEO, para impulsionar a remodelação do epigenoma e a rápida troca de fenótipo das células cancerígenas, a fim de identificar epidrogas relevantes (Nieto et al., 2016; Arozarena et al., 2019).

Nesta revisão, a certeza da evidência foi classificada como muito baixa para os três desfechos. Um dos motivos para tal classificação foi o fato dos estudos terem se mostrados heterogêneos entre si. Entraram nas análises pesquisas provenientes de diferentes países, apresentando amostras diferentes, com características sociodemográficas e clínicas diferentes. Vale destacar que apesar de todos os estudos incluídos terem utilizado imunistoquímica, a execução variou entre os estudos, principalmente em relação à diluição do anticorpo e na avaliação da imunomarcção. Outro fator que levou ao rebaixamento da evidência foi a imprecisão dos achados. Ressalta-se que um número reduzido de estudos entrou nas análises, o que levou a suspeitar de viés de publicação. Dessa forma, esses fatores contribuíram para que os resultados fossem considerados como tendo baixa evidência.

É importante destacar que o presente trabalho apresenta algumas limitações. Primeiramente, a técnica de imunistoquímica e a avaliação da imunomarcção variaram entre os estudos, podendo comprometer a dicotomização entre pacientes com baixa expressão e aqueles com alta expressão de SOX2. Outro problema a reportar, foi o número reduzido de estudos incluídos e um número menor ainda de pesquisas que realizaram análise multivariada, levando a achados incertos. Destaca-se que alguns artigos foram excluídos devido à ausência de dados de HR. Tais trabalhos poderiam ter contribuído para resultados mais promissores. Por último, alguns estudos não deixam claro a direção da associação, o que nos levou a comparar com os dados apresentados em curvas de Kaplan-Meier para uma maior certeza na coleta de dados.

Por conseguinte, como os achados se mostram incertos, novos estudos são necessários. Esses novos trabalhos devem idealmente: ter delineamento prospectivo; padronizar a técnica de imunoistoquímica e avaliação da imunomarcação; investigar o papel de fatores de confusão ajustando os resultados com análises multivariadas; apresentar dados de HR e intervalo de confiança; e deixar claro a direção da associação. Em adição, será necessária uma atualização da presente revisão.

REFERÊNCIAS

Adnan Y, Ali S, Farooqui H, Kayani H, Idrees R, Awan, M. **High CD44 Immunoexpression Correlates with Poor Overall Survival: Assessing the Role of Cancer Stem Cell Markers in Oral Squamous Cell Carcinoma Patients from the High-Risk Population of Pakistan.** *International journal of surgical oncology* 2022, 9990489.

Aldape K, Brindle K, Chesler L, Chopra R, Gajjar A, Gilbert M, Gottardo N, Gutmann D. **Challenges to curing primary brain tumours.** *Nature reviews. Clinical oncology* 2019, **16(8)**, 509–520.

Alves A, Diel L, Ramos G, Pinto A, Bernardi L, Yates J, 3rd, Lamers M. **Tumor microenvironment and Oral Squamous Cell Carcinoma: A crosstalk between the inflammatory state and tumor cell migration.** *Oral oncology* 2021, **112**, 105038.

Arozarena I, Wellbrock C. **Phenotype plasticity as enabler of melanoma progression and therapy resistance.** *Nature reviews. Cancer* 2019, **19(7)**, 377–391.

Badwelan M, Muaddi H, Ahmed A, Lee K, Tran S. **Oral Squamous Cell Carcinoma and Concomitant Primary Tumors, What Do We Know? A Review of the Literature.** *Current Oncology* 2021, **30(4)**, 3721-34.

Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel R, Torre L, Jemal A. **Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries.** *CA: a cancer journal for clinicians* 2018, **68(6)**, 394–424.

Chamoli A, Gosavi A, Shirwadkar U, Wangdale K, Behera S, Kurrey N, Kalia K, Mandoli A. **Overview of oral cavity squamous cell carcinoma: Risk factors, mechanisms, and diagnostics.** *Oral oncology* 2021, **121**, 105451.

Chen Y, Feng Y, Yan F, Zhao Y, Zhao H, Guo Y. **A Novel Immune-Related Gene Signature to Identify the Tumor Microenvironment and Prognose Disease Among Patients With**

Oral Squamous Cell Carcinoma Patients Using ssGSEA: A Bioinformatics and Biological Validation Study. *Frontiers in immunology* 2022, **13**, 922195.

Coca-Pelaz A, Takes R, Hutcheson K, Saba N, Haigentz M, Bradford, C, de Bree R, Strojjan P, Lund, V, Mendenhall W, Nixon I, Quer M, Rinaldo A, Ferlito A. **Head and Neck Cancer: A Review of the Impact of Treatment Delay on Outcome.** *Advances in therapy* 2018, **35**(2), 153–160.

de Vicente J, Donate-Pérez Del Molino P, Rodrigo J, Allonca E, Hermida-Prado F, Granda-Díaz R, Rodríguez Santamarta T, García-Pedrero J. **SOX2 Expression Is an Independent Predictor of Oral Cancer Progression.** *Journal of clinical medicine* 2018, **8**(10), 1744.

Du L, Yang Y, Xiao X, Wang C, Zhang X, Wang L, Zhang X, Li W, Zheng G, Wang S, Dong Z. **Sox2 nuclear expression is closely associated with poor prognosis in patients with histologically node-negative oral tongue squamous cell carcinoma.** *Oral oncology* 2011, **47**(8), 709–713.

e Oliveira J, Pauletto P, Werlich M, Massignan C, Lehmkuhl K, Porfírio G, Curi Hallal A, De Luca Canto G. **Prevalence of orofacial injuries in wheeled non-motor sports athletes: A systematic review and meta-analysis.** *Dental traumatology: official publication of International Association for Dental Traumatology* 2021, **37**(4), 546–556.

Fu T, Hsieh I, Cheng J, Tsai M, Hou Y, Lee J, Liou H, Huang S, Chen H, Yen L, Tseng H, Ger, L. **Association of OCT4, SOX2, and NANOG expression with oral squamous cell carcinoma progression.** *Journal of oral pathology & medicine* 2016: official publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology, **45**(2), 89–95.

GLOBOCAN. Cancer today. **Data visualization tools for exploring the global cancer burden in 2020.** IARC 2020. Disponível em: <https://gco.iarc.fr/today/home>.

Gonzalez M, Riera March A. **Tongue Cancer.** In StatPearls. *StatPearls Publishing* 2023.

Gunduz M, Gunduz E, Tamagawa S, Enomoto K, Hotomi M. **Cancer stem cells in oropharyngeal cancer.** *Cancers* 2021, **13**(15), 3878.

Guo L, Mohanty A, Singhal S, Srivastava S, Nam A, Warden C. **Targeting ITGB4/SOX2-driven lung cancer stem cells using proteasome inhibitors.** *iScience* 2023, **26**(8), 107302.

Guyatt G, Oxman A, Akl E, Kunz R, Vist G, Brozek J, Norris S, Falck-Ytter Y, Glasziou P, DeBeer H, Jaeschke R, Rind D, Meerpohl J, Dahm P, Schünemann H. **GRADE guidelines: 1. Introduction-GRADE evidence profiles and summary of findings tables.** *Journal of clinical epidemiology* 2011, **64**(4), 383–394.

Hou C, Cai H, Zhu Y, Huang S, Song F, Hou J. **Development and Validation of Autophagy-Related Gene Signature and Nomogram for Predicting Survival in Oral Squamous Cell Carcinoma.** *Frontiers in oncology* 2020, **10**, 558596.

Huang C, Xu X, Wu T, Sun Z, Zhang, W. **Correlation of ALDH 1, CD 44, OCT 4 and SOX 2 in tongue squamous cell carcinoma and their association with disease progression and prognosis.** *Journal of oral pathology & medicine* 2014, **43**(7), 492-8.

Li B, Chen M, Pan M. **Sex determining region Y-box 2 is a prognostic factor for head and neck squamous cell carcinoma: Evidence from 11 published investigations.** *Journal of Cancer Research and Therapeutics* 2020, **16**(3), 434-9.

Li X, Cao X, Zhang J, Fu J, Mohedaner M, Danzengzhuoga, Sun X, Yang G, Yang Z, Kuo C, Chen X, Cohen A, Liu Z. **Accelerated aging mediates the associations of unhealthy lifestyles with cardiovascular disease, cancer, and mortality.** *Journal of the American Geriatrics Society* 2023, 10.1111/jgs.18611. Advance online publication.

Liu K, Lin B, Zhao M, Yang X, Chen M, Gao A, Liu F, Que J, Lan X. **The multiple roles for Sox2 in stem cell maintenance and tumorigenesis.** *Cellular signaling* 2013, **25**(5), 1264–1271.

Liu X, Qiao B, Zhao T, Hu F, Lam A, Tao Q. **Sox2 promotes tumor aggressiveness and epithelial-mesenchymal transition in tongue squamous cell carcinoma.** *International journal of molecular medicine* 2018, **42**(3), 1418–1426.

Mirzaei S, Paskeh M, Entezari M, Mirmazloomi S, Hassanpoor A, Aboutalebi M. **SOX2 function in cancers: Association with growth, invasion, stemness and therapy response.** *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie* 2022, **156**, 113860.

Mollaoglu G, Jones A, Wait S, Mukhopadhyay A, Jeong S, Arya R. **The Lineage-Defining Transcription Factors SOX2 and NKX2-1 Determine Lung Cancer Cell Fate and Shape the Tumor Immune Microenvironment.** *Immunity* 2018, **49**(4), 764–779.e9.

Moola S, Munn Z, Tufanaru C. Chapter 7: **Systematic reviews of etiology and risk.** *Joanna briggs institute reviewer’s manual.* *The Joanna Briggs Institute* 2020, **5**, 217-269.

Muller S, Tilakaratne W. **Update from the 5th edition of the World Health Organization classification of head and neck tumors: tumours of the oral cavity and mobile tongue.** *Head and neck pathology* 2022, **16**(1), 54-62.

Nieto M, Huang R, Jackson R, Thiery J. EMT: 2016. *Cell* 2016, **166**(1), 21–45.

OMS. Relatório Regional Europeu de Obesidade da OMS da Organização Mundial da Saúde 2022. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/353747/9789289057738-eng.pdf>.

Orrapin S, Udomruk S, Lapisatepun W, Moonmuang S, Phanphaisarn A, Phinyo P, Pruksakorn D, Chaiyawat P. **Clinical Implication of Circulating Tumor Cells Expressing Epithelial Mesenchymal Transition (EMT) and Cancer Stem Cell (CSC) Markers and Their Perspective in HCC: A Systematic Review.** *Cancers* 2022, **14**(14), 3373.

Ouzzani M, Hammady H, Fedorowicz Z, Elmagarmid A. **Rayyan—a web and mobile app for systematic reviews.** *Systematic reviews* 2016, **5**, 1-10.

Page M, McKenzie J, Bossuyt P, Boutron I, Hoffmann T, Mulrow C. **The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews.** *International journal of surgery (London, England)* 2021, **88**, 105906.

Pradhan S, Guddattu V, Solomon M. **Association of the co-expression of SOX2 and Podoplanin in the progression of oral squamous cell carcinomas-an immunohistochemical study.** *Journal of Applied Oral Science* 2019, **27**.

Qin C, Sheng Z, Huang X, Tang J, Liu Y, Xu T, Qiu X. **Cancer-driven IgG promotes the development of prostate cancer through the SOX2-CIgG pathway.** *The Prostate* 2020, **80**(13), 1134–1144.

Réus J, Polmann H, Souza B, Flores-Mir C, Gonçalves D, de Queiroz L, Okeson J, De Luca Canto G. **Association between primary headaches and temporomandibular disorders: A systematic review and meta-analysis.** *Journal of the American Dental Association (1939)* 2022, **153**(2), 120–131.e6.

Robinson M, Gilbert S, Waters J, Lujano-Olazaba O, Lara J, Alexander L, Green S, Burkeen G, Patrus O, Sarwar Z, Holmberg R, Wang C, House C. **Characterization of SOX2, OCT4 and NANOG in Ovarian Cancer Tumor-Initiating Cells.** *Cancers* 2021, **13**(2), 262.

Rodrigues M, Xavier F, Andrade N, Lopes C, Miguita Luiz L, Sedassari B, Ibarra A, López R, Kliemann Schmerling C, Moyses R, Tajara da Silva E, Nunes F. **Prognostic implications of CD44, NANOG, OCT4, and BMI1 expression in tongue squamous cell carcinoma.** *Head & neck* 2018, **40**(8), 1759–1773.

Shonibare Z, Monavarian M, O'Connell K, Altomare D, Shelton A, Mehta S. **Reciprocal SOX2 regulation by SMAD1-SMAD3 is critical for anoikis resistance and metastasis in cancer.** *Cell reports* 2022, **40**(4), 111066.

Sung H, Ferlay J, Siegel R, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. **Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries.** *CA: a cancer journal for clinicians* 2022, **71**(3), 209–249.

Tang K, Liu J, Liu B, Meng C, Liao J. **SOX2 contributes to invasion and poor prognosis of gastric cancer: A meta-analysis.** *Medicine* 2022, **101**(36), e30559.

Tang Y, Durand S, Dalle S, Caramel J. **EMT-Inducing Transcription Factors, Drivers of Melanoma Phenotype Switching, and Resistance to Treatment.** *Cancers* 2020, **12**(8), 2154.

Thierauf J, Veit J, Hess J. **Epithelial-to-mesenchymal transition in the pathogenesis and therapy of head and neck cancer.** *Cancers* 2017, **9**(7), 76.

Venugopal D, Caleb C, Kirupakaran N, Shyamsundar V, Ravindran S, Yavasve M, Krishnamurthy A. **Clinicopathological Significance of Cancer Stem Cell Markers (OCT-3/4 and SOX-2) in Oral Submucous Fibrosis and Oral Squamous Cell Carcinoma.** *Biomedicines* 2023, **11**(4), 1040.

Wang S, Liu X, Chen Y, Zhan X, Wu T, Chen B, Sun G, Yan S, Xu L. **The role of SOX2 overexpression in prognosis of patients with solid tumors: A meta-analysis and system review.** *Medicine* 2020, **99**(13), e19604.

Xiao M, Zhang X, Zhang D, Deng S, Zheng A, Du F, Shen J, Yue L, Yi T, Xiao Z, Zhao Y. **Complex interaction and heterogeneity among cancer stem cells in head and neck squamous cell carcinoma revealed by single-cell sequencing.** *Frontiers in immunology* 2022, **13**, 1050951.

Yuan D, Wang J, Yan M, Xu Y. **SOX2 as a prognostic marker and a potential molecular target in cervical cancer: A meta-analysis.** *The International Journal of Biological Markers* 2021, **36**(4), 45-53.

Zhao G, Wang X, Qu L, Zhu Z, Hong J, Hou H, Li Z, Wang J, Lv Z. **The Clinical and Molecular Characteristics of Sex-Determining Region Y-Box 2 and its Prognostic Value**

in Breast Cancer: A Systematic Meta-Analysis. *Breast care (Basel, Switzerland)* 2021, **16**(1), 16–26.

Wang S, Liu X, Chen Y, et al (2020). The role of SOX2 overexpression in prognosis of patients with solid tumors: A meta-analysis and system review. *Medicine*, **99**(13).

Xiao M, Zhang X, Zhang D, et al (2022). Complex interaction and heterogeneity among cancer stem cells in head and neck squamous cell carcinoma revealed by single-cell sequencing. *Frontiers in Immunology*, **13**, 1050951.

Yuan D, Wang J, Yan M, Xu Y (2021). SOX2 as a prognostic marker and a potential molecular target in cervical cancer: A meta-analysis. *The International Journal of Biological Markers*, **36**(4), 45-53.

Zhao G, Wang X, Qu L, et al (2021). The clinical and molecular characteristics of sex-determining region Y-box 2 and its prognostic value in breast cancer: a systematic meta-analysis. *Breast Care*, **16**(1), 16-26.

Figura 1 – Identificação e seleção dos estudos (Fonte: Próprio autor).

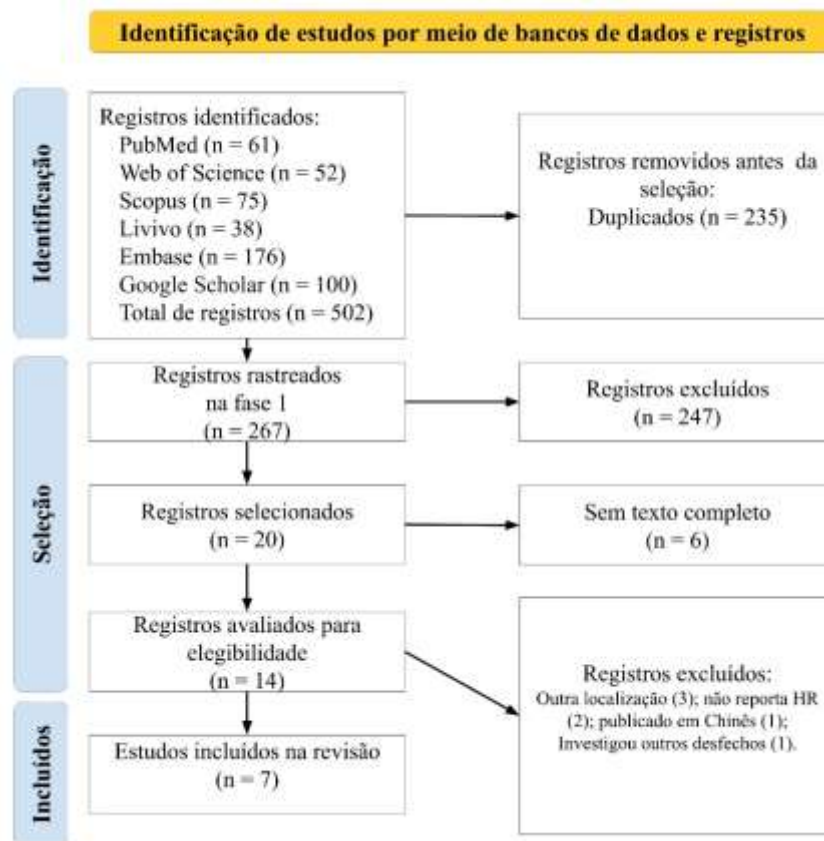


Figura 2 – Resultados da avaliação de risco de viés (Fonte: Próprio autor).

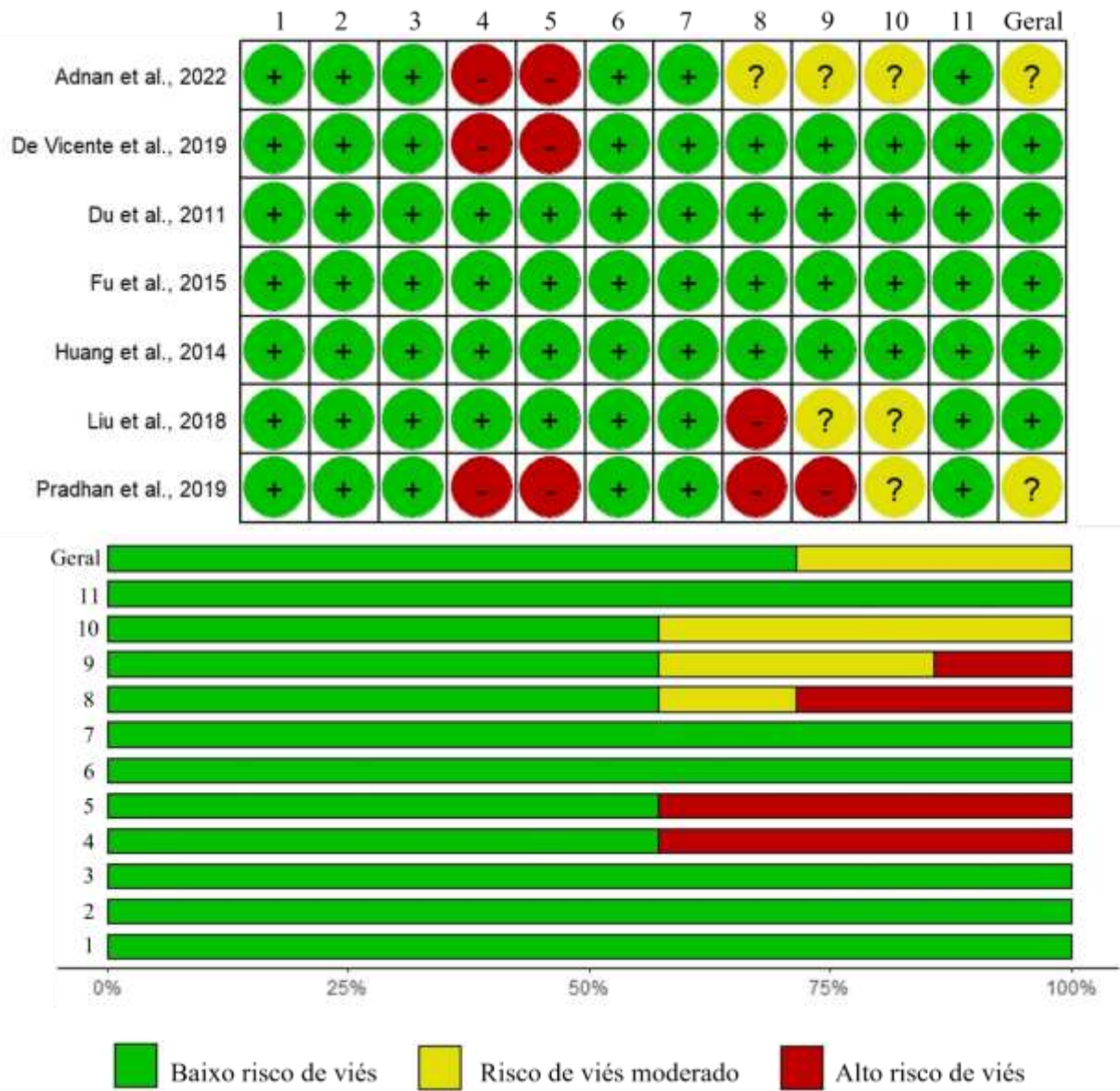
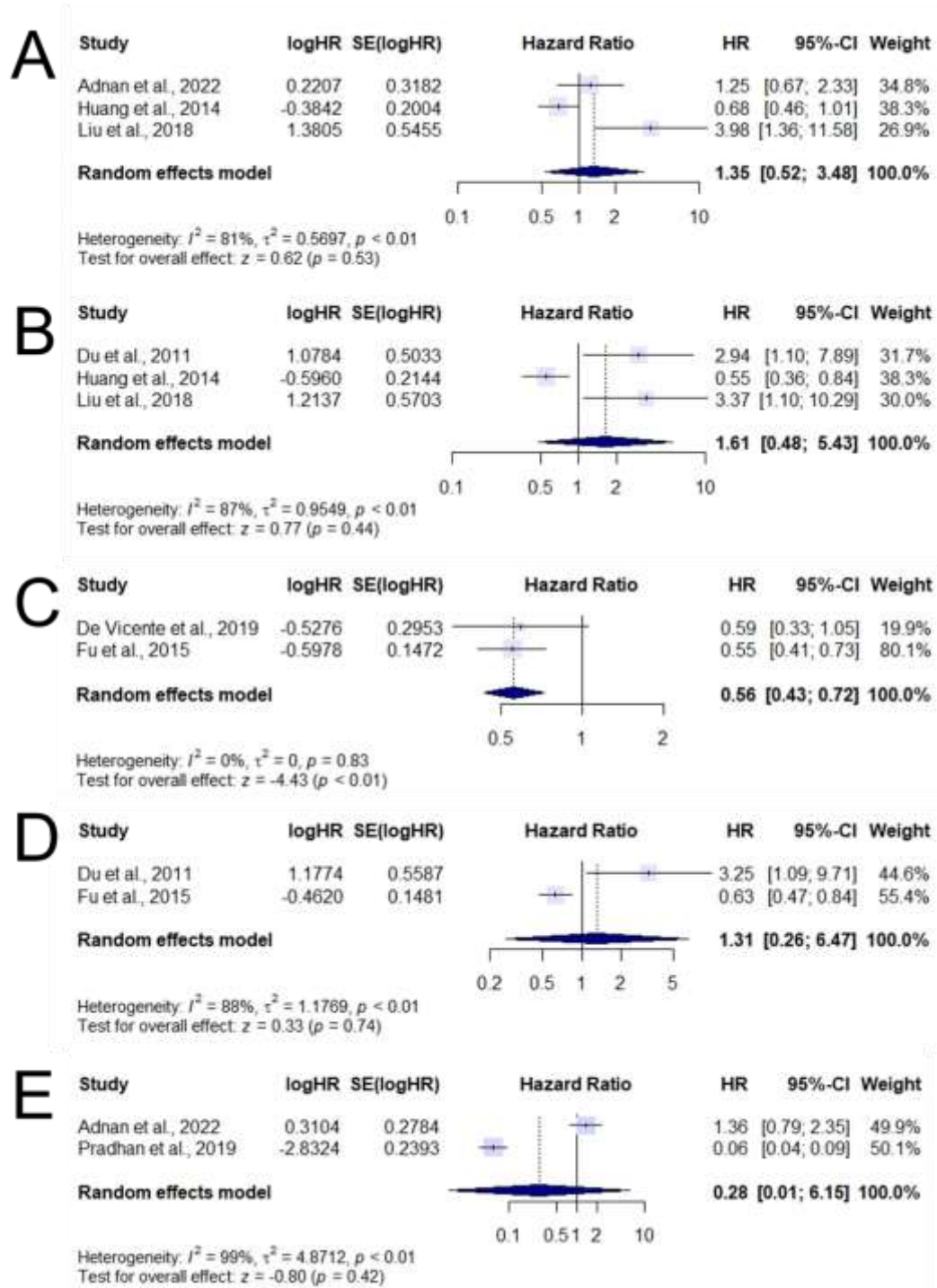


Figura 3 – Associação entre expressão de SOX 2 e sobrevida no CCEO.



A, sobrevida global por análise univariada; B, sobrevida global por análise multivariada; C, sobrevida específica da doença por análise univariada; D, sobrevida específica da doença por análise multivariada; E, sobrevida livre da doença por análise univariada; CCEO, carcinoma de células escamosas oral.

Quadro 1 - Lista de verificação de avaliação crítica do JBI para estudos de coorte.

Item	Questão
1	Os dois grupos eram semelhantes e recrutados a partir da mesma população?
2	A exposição foi medida de forma semelhante para designar as pessoas a grupos expostos e não expostos?
3	A exposição foi medida de forma válida e confiável?
4	Foram identificados fatores de confusão?
5	Foram estabelecidas estratégias para lidar com fatores de confusão?
6	Os grupos / participantes estavam livres do desfecho no início do estudo (ou no momento da exposição)?
7	Os resultados foram medidos de forma válida e confiável?
8	O tempo de <i>follow up</i> foi relatado e suficiente para que os resultados ocorressem?
9	O <i>follow up</i> foi completo e, em caso negativo, as razões para a perda de acompanhamento foram descritas e exploradas?
10	Foram utilizadas estratégias para abordar o <i>follow up</i> incompleto?
11	Foi usada análise estatística apropriada?

Quadro 2 – Classificação do risco de viés.

Sim (%)	Classificação
< 50	Alto risco de viés
50 – 70	Moderado risco de viés
> 70	Baixo risco de viés

Tabela 1 – Resumo das características descritivas dos estudos incluídos.

Autor	Ano	País	continente	amostra	Método	Ponto de corte	Desfechos
Adnan et al., 2022	2022	Paquistão	Ásia	100	IHQ	Negativo para < 10% de células positivas	OS; DFS
De Vicente et al., 2019	2019	Espanha	Europa	125	IHQ	Negativo para < 10% de células positivas	DSS
Du et al., 2011	2011	China	Ásia	82	IHQ	Baixo = fraca marcação e <5% de células positivas	OS; DFS; DSS
Fu et al., 2016	2015	Taiwan	Ásia	436	IHQ	Baixo = escore ≤ 1	DSS
Huang et al., 2014	2014	China	Ásia	66	IHQ	Baixo = escore (0-1)	OS
Liu et al., 2018	2018	China	Ásia	61	IHQ	Baixo = escore ≤ 4	OS
Pradhan et al., 2019	2019	Índia	Ásia	30*	IHQ	Baixo = escore (0-1)	DFS

*Apesar de uma amostra de 60 pacientes, apenas 30 pacientes foram incluídos nas análises de sobrevida; IHQ, imuno-histoquímica; OS, sobrevida global; DFS, sobrevida livre da doença; DSS, sobrevida específica da doença.

Tabela 2 – Metanálises das características sociodemográficas e clínicas.

Características	Medida agrupada	95% de IC	Heterogeneidade	
			I ² (%)	P
Idade (anos)	54,63*	51,02-58,23	91	<0,01
Sexo				
Masculino (%)	66,33	54,41-78,25	96	<0,01
Feminino (%)	33,67	21,75-45,59	96	<0,01
Tabagismo (%)	55,22	35,26-75,19	93	<0,01
Follow-up (meses)	60,94*	52,15-69,73	92	<0,01
Localização				
Língua (%)	72,7	48,03-97,37	99	<0,01
Outras	27,3	2,63-51,97	99	<0,01
Diferenciação do tumor				
Bem (%)	42,03	28,28-55,78	96	<0,01
Moderadamente (%)	53,92	38,44-69,4	96	<0,01
Pobremente (%)	5,24	3,54-6,93	0	0,43
Tamanho do tumor				
T1 e T2 (%)	70,89	65,83-75,95	59	0,03
T3 e T4 (%)	28,7	23,46-33,94	62	0,02
Envolvimento linfonodal				
N0 (%)	70,25	61,18-79,32	82	<0,01
N+ (%)	29,75	20,68-38,82	82	<0,01
Estágio clínico				
Estágios iniciais (%)	54,08	45,39-62,76	84	<0,01
Estágios avançados (%)	45,92	37,24-54,61	84	<0,01
Expressão de SOX2				
Reduzida (%)	43,62	36,88-50,36	71	<0,01
Aumentada (%)	56,01	48,58-63,44	76	<0,01

Legenda: *Média; IC, intervalo de confiança.

Tabela 3 – Avaliação da certeza da evidência.

Desfecho	Risco de viés	Inconsistência	Evidência indireta	Imprecisão	Viés de publicação	Certeza
OS	Não grave	Muito grave ^a	Não grave	Muito grave ^b	Altamente ^c suspeito	⊕○○○ Muito baixa
DSS	Não grave	Muito grave ^a	Não grave	Muito grave ^b	Altamente ^c suspeito	⊕○○○ Muito baixa
DFS	Grave ^d	Muito grave ^a	Não grave	Muito grave ^b	Altamente ^c suspeito	⊕○○○ Muito baixa

a, Alta heterogeneidade; b, amplo intervalo de confiança e medidas de efeito em direções contrárias; c, número reduzido de estudos; d, a maioria dos estudos apresentaram risco de viés moderado; OS, sobrevida global; DSS, sobrevida específica da doença; DFS, sobrevida livre da doença.

**APÊNDICE A – ESTRATÉGIAS DE BUSCAS UTILIZADAS NAS DIFERENTES
BASES DE DADOS.**

PubMed	("Survival"[Mesh] OR "Survival" OR "disease-free survival" OR "overall survival" OR "hazard ratio" OR "cancer-specific survival" OR "disease-specific survival" OR "recurrence-free survival" OR "Prognosis"[Mesh] OR "Prognosis" OR "Prognoses" OR "Prognostic Factors" OR "Prognostic Factor") AND ("Mouth Neoplasms"[Mesh] OR "Mouth Neoplasm" OR "Oral Neoplasm" OR "Oral Neoplasms" OR "Cancer of Mouth" OR "Mouth Cancers" OR "Oral Cancer" OR "Oral Cancers" OR "Cancer of the Mouth" OR "Mouth Cancer" OR "Oral Squamous Cell Carcinoma" OR "Oral Tongue Squamous Cell Carcinoma" OR "Oral Cavity Squamous Cell Carcinoma" OR "Squamous Cell Carcinoma of the Mouth") AND ("SRY-related HMG-box Gene 2" OR "SOX2" OR "SOX2 protein, human" [Supplementary Concept] OR "SRY-box 2" OR "sex determining region Y-box 2" OR "sex-determining region Y" OR "SRY box-2" OR "Sex determine region Y box 2" OR "SRY-Related HMG-Box Gene 2" OR "SRY box-2" OR "SOX-2")
LIVIVO	("Survival" OR "disease-free survival" OR "overall survival" OR "hazard ratio" OR "cancer-specific survival" OR "disease-specific survival" OR "recurrence-free survival" OR "Prognosis" OR "Prognoses" OR "Prognostic Factors" OR "Prognostic Factor") AND ("Mouth Neoplasm" OR "Oral Neoplasm" OR "Oral Neoplasms" OR "Cancer of Mouth" OR "Mouth Cancers" OR "Oral Cancer" OR "Oral Cancers" OR "Cancer of the Mouth" OR "Mouth Cancer" OR "Oral Squamous Cell Carcinoma" OR "Oral Tongue Squamous Cell Carcinoma" OR "Oral Cavity Squamous Cell Carcinoma" OR "Squamous Cell Carcinoma of the Mouth") AND ("SRY-related HMG-box Gene 2" OR "SOX2" OR "SRY-box 2" OR "sex determining region Y-box 2" OR "sex-determining region Y" OR "SRY box-2" OR "Sex determine region Y box 2" OR "SRY-Related HMG-Box Gene 2" OR "SRY box-2" OR "SOX-2")
Scopus	TITLE-ABS-KEY ("Survival" OR "disease-free survival" OR "overall survival" OR "hazard ratio" OR "cancer-specific survival" OR "disease-specific survival" OR "recurrence-free survival" OR "Prognosis" OR "Prognoses" OR "Prognostic Factors" OR "Prognostic Factor") AND TITLE-ABS-KEY ("Mouth Neoplasm" OR "Oral Neoplasm" OR "Oral Neoplasms" OR "Cancer of Mouth" OR "Mouth Cancers" OR "Oral Cancer" OR "Oral Cancers" OR "Cancer of the Mouth" OR "Mouth Cancer" OR "Oral Squamous Cell Carcinoma" OR "Oral Tongue Squamous Cell Carcinoma" OR "Oral Cavity Squamous Cell Carcinoma" OR "Squamous Cell Carcinoma of the Mouth") AND TITLE-ABS-KEY ("SRY-related HMG-box Gene 2" OR "SOX2" OR "SRY-box 2" OR "sex determining region Y-box 2" OR "sex-determining region Y" OR "SRY box-2" OR "Sex determine region Y box 2" OR "SRY-Related HMG-Box Gene 2" OR "SRY box-2" OR "SOX-2")

<p>Embase</p>	<p>#1 ('survival'/exp OR 'survival' OR 'disease-free survival'/exp OR 'disease-free survival' OR 'overall survival'/exp OR 'overall survival' OR 'hazard ratio'/exp OR 'hazard ratio' OR 'cancer-specific survival'/exp OR 'cancer-specific survival' OR 'disease-specific survival'/exp OR 'disease-specific survival' OR 'recurrence-free survival'/exp OR 'recurrence-free survival' OR 'prognosis'/exp OR 'prognosis' OR 'prognoses' OR 'prognostic factors' OR 'prognostic factor'/exp OR 'prognostic factor')</p> <p>#2 ('mouth neoplasm'/exp OR 'mouth neoplasm' OR 'oral neoplasm' OR 'oral neoplasms' OR 'cancer of mouth' OR 'mouth cancers' OR 'oral cancer'/exp OR 'oral cancer' OR 'oral cancers' OR 'cancer of the mouth' OR 'mouth cancer'/exp OR 'mouth cancer' OR 'oral squamous cell carcinoma'/exp OR 'oral squamous cell carcinoma' OR 'oral tongue squamous cell carcinoma'/exp OR 'oral tongue squamous cell carcinoma' OR 'oral cavity squamous cell carcinoma'/exp OR 'oral cavity squamous cell carcinoma' OR 'squamous cell carcinoma of the mouth')</p> <p>#3 ('sox2' OR 'sry-box 2' OR 'sex determining region y-box 2' OR 'sex-determining region y' OR 'sex determine region y box 2' OR 'sry-related hmg-box gene 2' OR 'sry box-2' OR 'sox-2')</p> <p>#1 AND #2 AND #3</p>
<p>Web of Science</p>	<p>"Survival" OR "disease-free survival" OR "overall survival" OR "hazard ratio" OR "cancer-specific survival" OR "disease-specific survival" OR "recurrence-free survival" OR "Prognosis" OR "Prognoses" OR "Prognostic Factors" OR "Prognostic Factor" (Todos os campos) AND "Mouth Neoplasm" OR "Oral Neoplasm" OR "Oral Neoplasms" OR "Cancer of Mouth" OR "Mouth Cancers" OR "Oral Cancer" OR "Oral Cancers" OR "Cancer of the Mouth" OR "Mouth Cancer" OR "Oral Squamous Cell Carcinoma" OR "Oral Tongue Squamous Cell Carcinoma" OR "Oral Cavity Squamous Cell Carcinoma" OR "Squamous Cell Carcinoma of the Mouth" (Todos os campos) AND "SRY-related HMG-box Gene 2" OR "SOX2" OR "SRY-box 2" OR "sex determining region Y-box 2" OR "sex-determining region Y" OR "SRY box-2" OR "Sex determine region Y box 2" OR "SRY-Related HMG-Box Gene 2" OR "SRY box-2" OR "SOX-2" (Todos os campos)</p>
<p>Google Scholar</p>	<p>Com todas as palavras: Survival;</p> <p>Com a frase exata: Oral Squamous Cell Carcinoma;</p> <p>com no mínimo uma das palavras: SOX2, SOX-2.</p>

APÊNDICE B – ESTUDOS EXCLUÍDOS NA FASE 2 DE SELEÇÃO

Estudo	Motivo da exclusão
Ghazaghi et al., 2021	1
Attramadal et al., 2015	1
Chung et al., 2018	2
Pedregal-Mallo et al., 2020	2
Avincsal et al., 2017	2
Jiang et al., 2022	3
Michifuri et al., 2012	4

1) Não reporta HR; 2) outra localização; 3) publicado em chinês; 4) investigou outros desfechos

4 CONCLUSÃO GERAL

O corpo de conhecimento em torno da plasticidade das CSCs e seu papel na fisiopatologia do câncer está se expandindo rapidamente. Nessa perspectiva o presente estudo avaliou a expressão da proteína SOX2 no prognóstico e sobrevida no CCEO, na tentativa de identificar biomarcadores da carcinogênese oral. Foi evidenciado que a via de sinalização SOX2 possui um papel dual, visto que a mesma pode apresentar efeitos tanto protumorais quanto antitumorais, dependendo do contexto e interação com outras vias de sinalização. Além disso, não foi possível elucidar o verdadeiro papel da expressão de SOX2 na sobrevida do CCEO.

Destarte, mais pesquisas são necessárias para elucidar completamente os mecanismos de ação envolvidos nessa via de sinalização e o seu potencial terapêutico. Ademais, estudos prospectivos usando técnicas de interpretação imunistoquímica padronizadas e análise combinada para possíveis fatores de confusão ajudariam a fortalecer as evidências atuais.

REFERÊNCIAS

- ADNAN, Yumna et al. High CD44 immunoexpression correlates with poor overall survival: Assessing the role of cancer stem cell markers in oral squamous cell carcinoma patients from the high-risk population of Pakistan. **International journal of surgical oncology**, v. 2022, 2022.
- ALDAPE, Kenneth et al. Challenges to curing primary brain tumours. **Nature reviews Clinical oncology**, v. 16, n. 8, p. 509-520, 2019.
- ALI, Johar et al. Genetic etiology of oral cancer. **Oral oncology**, v. 70, p. 23-28, 2017.
- ALVES, Alessandro et al. Tumor microenvironment and Oral Squamous Cell Carcinoma: A crosstalk between the inflammatory state and tumor cell migration. **Oral Oncology**, v. 112, p. 105038, 2021.
- ARGIRIS, A.; KARAMOUZIS, M. V.; RABEN, D. dan Ferris, RL 2008. **Head and neck cancer. Lancet**, v. 371, n. 9625, p. 1695-1709.
- ARAZARENA, Imanol; WELLBROCK, Claudia. Phenotype plasticity as enabler of melanoma progression and therapy resistance. **Nature Reviews Cancer**, v. 19, n. 7, p. 377-391, 2019.
- BADWELAN, Mohammed et al. Oral Squamous Cell Carcinoma and Concomitant Primary Tumors, What Do We Know? A Review of the Literature. **Current Oncology**, v. 30, n. 4, p. 3721-3734, 2023.
- BALBINOT, Karolyny Martins et al. Immunoexpression of stem cell markers SOX-2, NANOG AND OCT4 in ameloblastoma. **PeerJ**, v. 11, p. e14349, 2023.
- BAUMEISTER, Philipp et al. High expression of EpCAM and Sox2 is a positive prognosticator of clinical outcome for head and neck carcinoma. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 14582, 2018.
- BOXBERG, Melanie et al. Immunohistochemical expression of CD44 in oral squamous cell carcinoma in relation to histomorphological parameters and clinicopathological factors. **Histopathology**, v. 73, n. 4, p. 559-572, 2018.
- BRAY, Freddie et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 68, n. 6, p. 394-424, 2018.
- CÂMARA, P. R. et al. A comparative study using WHO and binary oral epithelial dysplasia grading systems in actinic cheilitis. **Oral diseases**, v. 22, n. 6, p. 523-529, 2016.
- CAMPBELL, Katie M. et al. Oral cavity squamous cell carcinoma xenografts retain complex genotypes and intertumor molecular heterogeneity. **Cell reports**, v. 24, n. 8, p. 2167-2178, 2018.

CANNING, Madison et al. Heterogeneity of the head and neck squamous cell carcinoma immune landscape and its impact on immunotherapy. **Frontiers in cell and developmental biology**, v. 7, p. 52, 2019.

CHAMOLI, Ambika et al. Overview of oral cavity squamous cell carcinoma: Risk factors, mechanisms, and diagnostics. **Oral oncology**, v. 121, p. 105451, 2021.

CHAUDHURY, Sayantane et al. Can Immunoexpression of Cancer Stem Cell Markers Prognosticate Tongue Squamous Cell Carcinoma? A Systematic Review and Meta-Analysis. **Journal of Clinical Medicine**, v. 12, n. 8, p. 2753, 2023.

CHEN, Yun et al. A novel immune-related gene signature to identify the tumor microenvironment and prognose disease among patients with oral squamous cell carcinoma patients using ssGSEA: a bioinformatics and biological validation study. **Frontiers in Immunology**, v. 13, p. 922195, 2022.

CHI, Angela C.; DAY, Terry A.; NEVILLE, Brad W. Oral cavity and oropharyngeal squamous cell carcinoma—an update. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 65, n. 5, p. 401-421, 2015.

CHOW, Laura QM. Head and neck cancer. **New England Journal of Medicine**, v. 382, n. 1, p. 60-72, 2020.

COCA-PELAZ, A. et al. Head and Neck Cancer: A Review of the Impact of Treatment Delay on Outcome. **Adv Ther**, v. 35, n. 2, p. 153-160, 2018.

COLEVAS, A. Dimitrios et al. NCCN guidelines insights: head and neck cancers, version 1.2018. **Journal of the National Comprehensive Cancer Network**, v. 16, n. 5, p. 479-490, 2018.

DE MORAES, Flávia Paiva Prudente et al. Expression of stem cell markers in oral cavity and oropharynx squamous cell carcinoma. **Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology**, v. 123, n. 1, p. 113-122, 2017.

DE VICENTE, Juan C. et al. SOX2 expression is an independent predictor of oral cancer progression. **Journal of clinical medicine**, v. 8, n. 10, p. 1744, 2019.

DING, L. N. et al. SOX2-associated signaling pathways regulate biological phenotypes of cancers. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 160, p. 114336, 2023.

DU, Lutao et al. Sox2 nuclear expression is closely associated with poor prognosis in patients with histologically node-negative oral tongue squamous cell carcinoma. **Oral oncology**, v. 47, n. 8, p. 709-713, 2011.

FERLAY, J. et al. Global cancer Observatory: cancer today. Lyon, France: international agency for research on cancer. 2018.

FU, Ting-Ying et al. Association of OCT 4, SOX 2, and NANOG expression with oral squamous cell carcinoma progression. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, v. 45, n. 2, p. 89-95, 2016.

GLOBOCAN (2020). Cancer today. Data visualization tools for exploring the global cancer burden in 2020. **IARC**. Disponível em: <https://gco.iarc.fr/today/home>.

GONZALEZ, Mario et al. Tongue cancer In **StatPearls Publishing**, 2023.

GUNDUZ, Mehmet et al. Cancer stem cells in oropharyngeal cancer. **Cancers**, v. 13, n. 15, p. 3878, 2021.

GUO, Linlin et al. Targeting ITGB4/SOX2-driven lung cancer stem cells using proteasome inhibitors. **Iscience**, v. 26, n. 8, 2023.

GUYATT, Gordon et al. GRADE guidelines: 1. Introduction—GRADE evidence profiles and summary of findings tables. **Journal of clinical epidemiology**, v. 64, n. 4, p. 383-394, 2011.

HASHIBE, Mia et al. Interaction between tobacco and alcohol use and the risk of head and neck cancer: pooled analysis in the International Head and Neck Cancer Epidemiology Consortium. **Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention**, v. 18, n. 2, p. 541-550, 2009.

HINGSAMMER, L. et al. The influence of lymph node ratio on survival and disease recurrence in squamous cell carcinoma of the tongue. **International journal of oral and maxillofacial surgery**, v. 48, n. 7, p. 851-856, 2019.

HOU, Chen et al. Development and validation of autophagy-related gene signature and nomogram for predicting survival in oral squamous cell carcinoma. **Frontiers in Oncology**, v. 10, p. 558596, 2020.

HUANG, Cong-Fa et al. Correlation of ALDH 1, CD 44, OCT 4 and SOX 2 in tongue squamous cell carcinoma and their association with disease progression and prognosis. **Journal of oral pathology & medicine**, v. 43, n. 7, p. 492-498, 2014.

HÜSER, Laura et al. Targeting SOX2 in anticancer therapy. **Expert opinion on therapeutic targets**, v. 22, n. 12, p. 983-991, 2018.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (Brasil). Câncer. Números. **Estimativa**. Rio de Janeiro: INCA, 2022a. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/numeros/estimativa>.

JI, Jiao et al. XIAP limits autophagic degradation of Sox2 and is a therapeutic target in nasopharyngeal carcinoma stem cells. **Theranostics**, v. 8, n. 6, p. 1494, 2018.

JIANG, Mingjing; LI, Bo. STAT3 and its targeting inhibitors in oral squamous cell carcinoma. **Cells**, v. 11, n. 19, p. 3131, 2022.

JOHNSON, Daniel E. et al. Head and neck squamous cell carcinoma. **Nature reviews Disease primers**, v. 6, n. 1, p. 92, 2020.

LEEMANS, C. René; SNIJDERS, Peter JF; BRAKENHOFF, Ruud H. The molecular landscape of head and neck cancer. **Nature Reviews Cancer**, v. 18, n. 5, p. 269-282, 2018.

LEIS, O. et al. Sox2 expression in breast tumours and activation in breast cancer stem cells. **Oncogene**, v. 31, n. 11, p. 1354-1365, 2012.

LI, Bo; CHEN, Mei; PAN, Meng-Xiong. Sex determining region Y-box 2 is a prognostic factor for head and neck squamous cell carcinoma: Evidence from 11 published investigations. **Journal of Cancer Research and Therapeutics**, v. 16, n. 3, p. 434-439, 2020.

LI, Xueqin et al. Accelerated Aging Mediates the Associations of Unhealthy Lifestyles with Cardiovascular Disease, Cancer, and Mortality: Two Large Prospective Cohort Studies. **medRxiv**, p. 2022.05. 18.22275184, 2022.

LIU, Kuanan et al. The multiple roles for Sox2 in stem cell maintenance and tumorigenesis. **Cellular signalling**, v. 25, n. 5, p. 1264-1271, 2013.

LIU, Xingguang et al. Sox2 promotes tumor aggressiveness and epithelial-mesenchymal transition in tongue squamous cell carcinoma. **International journal of molecular medicine**, v. 42, n. 3, p. 1418-1426, 2018.

LU, Jun et al. Lymphatic metastasis-related TBL1XR1 enhances stemness and metastasis in gastric cancer stem-like cells by activating ERK1/2-SOX2 signaling. **Oncogene**, v. 40, n. 5, p. 922-936, 2021.

MIRZAEI, Sepideh et al. SOX2 function in cancers: Association with growth, invasion, stemness and therapy response. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 156, p. 113860, 2022.

MOHARIL, Rohit Balwant et al. Cancer stem cells: An insight. **Journal of oral and maxillofacial pathology: JOMFP**, v. 21, n. 3, p. 463, 2017.

MOLLAOGLU, Gurkan et al. The lineage-defining transcription factors SOX2 and NKX2-1 determine lung cancer cell fate and shape the tumor immune microenvironment. **Immunity**, v. 49, n. 4, p. 764-779. e9, 2018.

MOOLA, S. et al. Chapter 7: Systematic reviews of etiology and risk. Em: **JBIManual for Evidence Synthesis**. [s.l.] JBI, 2020.

MUKOHARA, Toru. PI3K mutations in breast cancer: prognostic and therapeutic implications. **Breast Cancer: Targets and Therapy**, p. 111-123, 2015.

MULLER & TILAKARATNE. Update from the 5th Edition of the World Health Organization Classification of Head and Neck Tumors: Tumours of the Oral Cavity and Mobile Tongue. **Head Neck Pathol**, 2022.

NIETO, M. Angela et al. EMT: 2016. **Cell**, v. 166, n. 1, p. 21-45, 2016.

OLIVEIRA, J. M. D. et al. Prevalence of orofacial injuries in wheeled non-motor sports athletes: A systematic review and meta-analysis. **Dental Traumatology**, v. 37, n. 4, p. 546–556, ago. 2021.

OMS, 2022. Relatório Regional Europeu de Obesidade da OMS da Organização Mundial da Saúde 2022. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/353747/9789289057738-eng.pdf>.

ORRAPIN, Santhasiri et al. Clinical Implication of Circulating Tumor Cells Expressing Epithelial Mesenchymal Transition (EMT) and Cancer Stem Cell (CSC) Markers and Their Perspective in HCC: A Systematic Review. **Cancers**, v. 14, n. 14, p. 3373, 2022.

OUZZANI, M. et al. Rayyan—a web and mobile app for systematic reviews. **Systematic Reviews**, v. 5, n. 1, p. 210, dez. 2016.

PAGE, M. J. et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. **BMJ**, p. n71, 29 mar. 2021.

PRADHAN, Sonali; GUDDATTU, Vasudeva; SOLOMON, Monica Charlotte. Association of the co-expression of SOX2 and Podoplanin in the progression of oral squamous cell carcinomas—an immunohistochemical study. **Journal of Applied Oral Science**, v. 27, 2019.

PRINCE, M. E. et al. Identification of a subpopulation of cells with cancer stem cell properties in head and neck squamous cell carcinoma. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 3, p. 973-978, 2007.

QIN, Caipeng et al. Cancer-driven IgG promotes the development of prostate cancer through the SOX2-CIgG pathway. **The Prostate**, v. 80, n. 13, p. 1134-1144, 2020.

REN, Chongmin et al. Inhibition of SOX2 induces cell apoptosis and G1/S arrest in Ewing's sarcoma through the PI3K/Akt pathway. **Journal of Experimental & Clinical Cancer Research**, v. 35, p. 1-14, 2016.

RÉUS, J. C. et al. Association between primary headaches and temporomandibular disorders. **The Journal of the American Dental Association**, v. 153, n. 2, p. 120- 131.e6, fev. 2022.

ROBINSON, Mikella et al. Characterization of SOX2, OCT4 and NANOG in ovarian cancer tumor-initiating cells. **Cancers**, v. 13, n. 2, p. 262, 2021.

RODRIGUES, Maria Fernanda Setúbal Destro et al. Prognostic implications of CD44, NANOG, OCT4, and BMI1 expression in tongue squamous cell carcinoma. **Head & neck**, v. 40, n. 8, p. 1759-1773, 2018.

SHONIBARE, Zainab et al. Reciprocal SOX2 regulation by SMAD1-SMAD3 is critical for anoikis resistance and metastasis in cancer. **Cell reports**, v. 40, n. 4, 2022.

SUNG, Hyuna et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 71, n. 3, p. 209-249, 2021.

TANG, Kaifeng et al. SOX2 contributes to invasion and poor prognosis of gastric cancer: A meta-analysis. **Medicine**, v. 101, n. 36, p. e30559, 2022.

TANG, Yaqi et al. EMT-inducing transcription factors, drivers of melanoma phenotype switching, and resistance to treatment. **Cancers**, v. 12, n. 8, p. 2154, 2020.

THIERAUF, Julia; VEIT, Johannes Adrian; HESS, Jochen. Epithelial-to-mesenchymal transition in the pathogenesis and therapy of head and neck cancer. **Cancers**, v. 9, n. 7, p. 76, 2017.

VENUGOPAL, Divyambika Catakapatri et al. Clinicopathological Significance of Cancer Stem Cell Markers (OCT-3/4 and SOX-2) in Oral Submucous Fibrosis and Oral Squamous Cell Carcinoma. **Biomedicines**, v. 11, n. 4, p. 1040, 2023.

VIDHALE, Rutuja G. et al. Qualitative Expression of Sox2 and Oct4 in Oral Submucous Fibrosis: An Immunohistochemical Study. **Journal of Pharmaceutical Research International**, v. 34, n. 37A, p. 34-42, 2022.

WANG, Shengjie et al. The role of SOX2 overexpression in prognosis of patients with solid tumors: A meta-analysis and system review. **Medicine**, v. 99, n. 13, 2020.

XIAO, Mintao et al. Complex interaction and heterogeneity among cancer stem cells in head and neck squamous cell carcinoma revealed by single-cell sequencing. **Frontiers in Immunology**, v. 13, p. 1050951, 2022.

YANG, Ying-Gui et al. Interferon-induced transmembrane protein 1-mediated EGFR/SOX2 signaling axis is essential for progression of non-small cell lung cancer. **International journal of cancer**, v. 144, n. 8, p. 2020-2032, 2019.

YUAN, Dandan et al. SOX2 as a prognostic marker and a potential molecular target in cervical cancer: A meta-analysis. **The International Journal of Biological Markers**, v. 36, n. 4, p. 45-53, 2021.

ZHAO, Gang et al. The clinical and molecular characteristics of sex-determining region Y-box 2 and its prognostic value in breast cancer: a systematic meta-analysis. **Breast Care**, v. 16, n. 1, p. 16-26, 2021.