



SOBERANA FACULDADE DE SAÚDE DE PETROLINA
CURSO DE ODONTOLOGIA

ROMAINY KATRINY ALVES PEREIRA MAIA

**O DIAGNÓSTICO DO CÂNCER ORAL ATRAVÉS DA
ANÁLISE MOLECULAR EXPRESSA NA SALIVA: UM
MODELO ALTERNATIVO PARA O DIAGNÓSTICO.**

Petrolina – PE
2022

ROMAINY KATRINY ALVES PEREIRA MAIA

**O DIAGNÓSTICO DO CÂNCER ORAL ATRAVÉS DA
ANÁLISE MOLECULAR EXPRESSA NA SALIVA: UM
MODELO ALTERNATIVO PARA O DIAGNÓSTICO.**

Trabalho de Conclusão de Curso, no formato de artigo científico, apresentado ao colegiado do curso de Odontologia da SOBERANA Faculdade de Saúde de Petrolina, como requisito para aprovação.

Orientador: Fábio Carmona Tirintan

PETROLINA -PE
2022

Maia, Romainy Katriny Alves Pereira.

O diagnóstico do câncer oral através da análise molecular expressa na saliva: um modelo alternativo para o diagnóstico / Romainy Katriny Alves Pereira Maia – Petrolina - PE: SOBERANA, 2022.

29 p.

Orientadora: Fábio Carmona Tirintan.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Soberana Faculdade de Saúde de Petrolina, Odontologia – Bacharelado, 2022.

1. Câncer oral. 2. Citocinas. 3. Diagnóstico. I. Título.

CDU: 616.314.1

ROMAINY KATRINY ALVES PEREIRA MAIA

**O DIAGNÓSTICO DO CÂNCER ORAL ATRAVÉS DA
ANÁLISE MOLECULAR EXPRESSA NA SALIVA: UM
MODELO ALTERNATIVO PARA O DIAGNÓSTICO
PRECOCE.**

**Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Colegiado de
Odontologia.**

Aprovado (a) com média: _____

**Prof. Dr. Fábio Carmona Tirintan
SOBERANA FACULDADE DE SAÚDE DE PETROLINA
Orientador**

**Prof. Dr. Ricardo Amorim
FACULDADE
Membro da banca (Externo)**

**Prof. Dr. Cleidiane Coelho Granja
FACULDADE
Membro da banca (Interno)**

Petrolina, 8 de junho de 2022

AGRADECIMENTOS

Como tudo na vida depende em acreditar em algo maior. Acreditei que esse momento chegaria e foi um caminho difícil e longo, devido as situações impostas pela vida, mas posso dizer que foi uma experiência incrível e inesquecível.

Dedico este trabalho a Deus por sempre fortalecer a minha fé e me segurar diante das dificuldades. Posso dizer que fiz amigos e conheci grandes mestres e reconheço que sozinha não teria conseguido. Pessoas importantes me ajudaram durante essa caminhada.

Quero agradecer, com todo amor, a minha mãe Maria José Maia e dizer que palavras não são suficientes para demonstrar toda a minha gratidão.

A minha filha Sofia Sanchez Maia, por me motivar e compreender os momentos em que estive ausente, sei que estou realizando mais um sonho da minha vida, ao meu irmão Romerito César Maia.

Em especial a Fábio Carmona, Murilo Neres, Ricardo Pedrosa e Ricardo Amorim, a vocês dou minha gratidão por todo conhecimento compartilhado, foi essencial esse abraço intelectual e amigável de vocês durante a minha trajetória acadêmica.

Aos meus amigos de estágios e pacientes, dedico o meu muito obrigado por tudo, também sei que essa vitória representa muitas das conquistas que virão depois a todos nós, sendo o início de uma longa caminhada, onde futuras realizações estão por vir, por isso peço a Deus sabedoria e determinação para desenvolver com eficiência, ética e amor a nossa profissão.

O DIAGNÓSTICO DO CÂNCER ORAL ATRAVÉS DA ANÁLISE MOLECULAR EXPRESSA NA SALIVA: UM MODELO ALTERNATIVO PARA O DIAGNÓSTICO.

ROMAINY KATRINY ALVES PEREIRA MAIA¹

FÁBIO CARMONA TIRITAN ²

RESUMO

O presente artigo é um trabalho de revisão literatura sobre o diagnóstico do câncer oral através da análise molecular na saliva, observando um modelo alternativo de diagnóstico na literatura científica. A presente pesquisa utilizou como fonte de dados à literatura científica existente sobre os biomarcadores na saliva e os diagnósticos de câncer oral, entre 2016 e 2021. O objetivo do estudo foi analisar como a utilização de biomarcadores na saliva no diagnóstico do câncer oral tem sido abordada na literatura científica, e o tipo de utilização enquanto ferramenta na detecção precoce de neoplasias orais, sendo um método de menor invasão e de menor custo, possibilitando a sua utilização em larga escala. O resultado da investigação, observou que há um relativo consenso na utilização dos biomarcadores na saliva enquanto mecanismo capaz de realizar prognóstico e diagnóstico em relação ao câncer oral, porém com relativa limitação devido à dificuldade de detecção e preservação de nanopartículas, como Interleucina-6 (IL-6), Interleucina-8 (IL-8) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α).

Palavras-chave: Biomarcadores na saliva. Citocinas. Câncer oral .

¹ Aluna do curso de odontologia da Soberana: Faculdade de Saúde de Petrolina.

² Coordenador do curso de Odontologia e Professor Doutor da Soberana: Faculdade de Saúde de Petrolina.

THE DIAGNOSIS OF ORAL CANCER THROUGH MOLECULAR ANALYSIS EXPRESSED IN SALIVA: AN ALTERNATIVE MODEL DIAGNOSIS.

ROMAINY KATRINY ALVES PEREIRA MAIA³

FÁBIO CARMONA TIRITAN ⁴

ABSTRACT

This article is a review of the literature on the diagnosis of oral cancer through molecular analysis in saliva observing an alternative model of diagnosis in the scientific literature. The present research used as a data source the existing scientific literature on salivary biomarkers and oral cancer diagnoses, between 2016 and 2021. The objective of the study was to analyze how the use of salivary biomarkers in the diagnosis of oral cancer has been addressed in the literature scientific, and how its use as a tool in the early detection of oral neoplasms is a method of lower invasion and lower cost, enabling its use on a large scale. The result of the investigation observed that there is a relative consensus on the use of salivary biomarkers as a mechanism capable of performing prognosis and diagnosis of oral cancer, but with relative limitation due to the difficulty in detecting and preserving nanoparticles such as Interleukin-6 (IL-6), Interleukin-8 (IL-8) and tumor necrosis factor-alpha (TNF- α).

Keywords: Salivary biomarkers. Cytokines. oral cancer.

³ Aluna do curso de odontologia da Soberana: Faculdade de Saúde de Petrolina.

⁴ Coordenador do curso de Odontologia e Professor Doutor da Soberana: Faculdade de Saúde de Petrolina.

LISTA DE QUADROS.

QUADRO 1 - Cadeia de busca e resultados totalizantes.....14

QUADRO 2- Distribuição das referências por autor, ano, título e resultados encontrados.....24

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS.

AUC	Área sob a Curva
°C	Graus Celsius
CD44	Grupo de diferenciação 44
CD59	Grupo de diferenciação 59
CI	Critério de Inclusão
CE	Critério de Exclusão
CEC	Carcinoma espinocelular
CXCR1	Receptor CXCR1 para quimiocinas
CXCR2	Receptor CXCR2 para quimiocinas
DNA	Ácido desoxirribonucléico
DUSP1	Fosfatase de especificidade dupla
g	Gramas
H3F3A	Histona H3/família3A
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
IL -1	Interleucina 1
IL-1 α ,	Interleucina 1 alfa
IL-1 β	Interleucina 1 beta
IL -2	Interleucina 2
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
IRB	Institutional Review Board
LDH	Lactato Desidrogenase Salivar
MEDLINE	Medical Literature Analysis and Retrieval System Online
MicroRNA	RNA monocatenário
miR-125a	MicroRNA 125
miR-200a	MicroRNA 200 ^a
ml	Mililitro

mRNA	RNA mensageiro
μl	Microlitro
OSCC	Carcinoma espinocelular oral
OSMF	Fibrose submucosa oral
PMOD	Distúrbios orais potencialmente malignos
PubMed	US National Library of Medicine
RNA	Ácido Ribonucleico
S100A9	S100 calcium binding protein A9
SCIELO	Scientific Eletronic Library online
S100P	Proteína P de ligação ao cálcio S100
SRM	Monitoramento de Reação Seleccionada
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa

SUMÁRIO

RESUMO.....	04
ABSTRACT.....	05
1. INTRODUÇÃO.....	11
2. METODOLOGIA.....	13
2.1. Apresentação dos resultados da seleção dos artigos.....	13
3. REVISÃO DE LITERATURA	16
4. DISCUSSÕES E RESULTADOS.....	17
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	28
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	29

1 INTRODUÇÃO

Segundo o instituto nacional do câncer (2019), câncer é o nome dado a um conjunto de doenças que possuem em comum o crescimento desordenado das células agressivas, determinando a formação de tumores malignos com a consequente proliferação pelos tecidos e órgãos do corpo, sendo considerado um problema de saúde no Brasil.

O câncer oral pode ser definido, em linhas gerais, como uma neoplasia, podendo ser benigna ou maligna, atingindo estruturas da boca e da orofaringe, como língua (principalmente a base e as bordas), amígdalas, garganta, lábios, bochechas, palato mole e o céu da boca em geral (ISHIKAWA *et al.*, 2016; GLEBER-NETTO *et al.*, 2016).

Algumas neoplasias e alterações estruturais podem começar na cavidade oral e na orofaringe, a exemplo do granuloma periférico de células gigantes, tumor de células granulares, neurofibromas, granuloma piogênico e hemangioma oral e o carcinoma espinocelular oral. Esse último tipo de neoplasia, também conhecido como carcinoma de células escamosas oral, representa cerca de 90% do tipo de câncer na cavidade oral, sendo uma neoplasia do tipo maligna, ligada a relevante taxa de mortalidade (ISHIKAWA *et al.*, 2016; GLEBER-NETTO *et al.*, 2016).

O câncer oral representa no século XXI, o quinto tipo de câncer com maior incidência entre seres humanos, estando ligado tanto a fatores genéticos, como a fatores comportamentais, a exemplo do tabagismo, drogas ilícitas e alimentação, tornando-se uma questão de saúde pública em alguns países (SAHIBZADA *et al.*, 2017).

Segundo Cristaldi *et al.* (2019), o câncer oral manifesta-se a partir de diversos tipos de alterações genéticas, sendo classificadas com base nos efeitos causados na estrutura do DNA, a exemplo de alterações genéticas em pequena escala, como as mutações ou substituições pontuais da base do DNA, ou ainda as alterações em larga escala, como o rearranjo genético por meio da duplicação celular, inversões cromossômicas, deleções de genes e a perda de heterozigidade em populações.

O INCA (2019), ressalta que os fatores externos determinantes para o incremento de uma neoplasia na cavidade oral incluem o fumo, o alcoolismo,

higiene bucal deficiente, dieta inadequada, exposição à radiação solar, poluentes, questões ocupacionais e irritação física causada por próteses dentárias desajustadas e alguns vírus. Entre os fatores internos estão a predisposição genética, anormalidades hormonais do sistema imunológico e o envelhecimento.

Segundo o Instituto Nacional de Câncer (2021), estima-se que no Brasil, em 2020, tenham sido diagnosticados cerca de 15.190 novos casos de câncer oral e da orofaringe, no qual 11.180 casos tenham ocorrido em homens e 4.010 casos em mulheres. Em 2019, o número de óbitos notificados relacionados ao câncer da cavidade oral foi de 6.605 pessoas.

A substituição de métodos invasivos, como a investigação histológica, a partir da biópsia de tecido das lesões suspeitas, pelo método da biópsia líquida, tem sido considerada em uma série de investigações no meio científico atual. A utilização dos biomarcadores na saliva, enquanto método alternativo, tem sido um dos principais objeto de estudo no campo da saúde bucal (SAHIBZADA *et al.*, 2017).

Segundo a literatura, a biópsia líquida, por meio de biomarcadores na saliva, enquanto ferramenta na detecção precoce de neoplasias orais, pode estabelecer maior adesão dos pacientes em relação ao processo de diagnóstico da doença, sendo esse um método pouco invasivo e de menor custo, possibilitando a utilização em larga escala (CSÓSZ *et al.*, 2017; ISHIKAWA *et al.*, 2016; GLEBER-NETTO *et al.*, 2016; SAHIBZADA *et al.*, 2017).

O objetivo geral do presente estudo, foi analisar como a utilização de biomarcadores salivares no diagnóstico do câncer oral tem sido abordada na literatura científica, tendo em vista as suas vantagens no diagnóstico do câncer. Assim, quando observado os fatores de risco e as patogêneses que levam um indivíduo a ter câncer oral, o presente estudo teve como objetivo específico apresentar alguns biomarcadores na saliva utilizados para detecção de câncer oral, com base em dados científicos, analisando e descrevendo principalmente o papel desempenhado pela presença da Interleucina-6 (IL-6), Interleucina-8 (IL-8) e do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), na saliva como meio de diagnóstico.

Procurando somar esforços para a melhoria da assistência odontológica, propôs-se a presente investigação com o intuito de descrever as evidências disponíveis na literatura recente sobre o uso dos biomarcadores na saliva para detecção de câncer oral, tendo em vista contribuir para o campo da saúde bucal como um dos pilares para a manutenção da saúde humana.

2 METODOLOGIA

A presente pesquisa se fez por meio de revisão de literatura com caráter descritivo-analítico, sobre o diagnóstico do câncer oral através da análise de moléculas da saliva, utilizando como fonte de dados à literatura científica em língua portuguesa, espanhola e inglesa, existente sobre os biomarcadores presentes na saliva e o diagnóstico de câncer oral. O recorte temporal da pesquisa analisa artigos publicados entre 2016 e 2021. As fontes para a seleção das publicações foram bases de dados eletrônicas, sendo estas: *Scientific Eletronic Library online* (SCIELO); *Medical Literature Analysis and Retrieval System Online* (Medline) e *US National Library of Medicine* (PubMed).

Após o emprego dos critérios de inclusão e exclusão dos artigos, foram selecionados 10 artigos relacionados ao tema para o processo de revisão, considerando que os autores Waugh e Wilson (2008), não entraram nesta seleção, por não se encaixarem no recorte temporal de análise, porém foram mencionados por se tratar de um dos primeiros estudos no campo do diagnóstico do câncer oral através da análise de moléculas da saliva, tendo assim relevância científica, contribuindo para o objetivo do presente trabalho.

Dessa maneira, o presente artigo visa contribuir para investigação do estado atual dos estudos sobre os biomarcadores na saliva, enquanto mecanismo utilizado no rastreio e diagnóstico do câncer oral no campo da saúde bucal, a fim de detectar a prevalência desse método de diagnóstico no cenário atual, tendo em vista não esgotar o tema aqui abordado.

2.1 Apresentação dos resultados da seleção dos artigos.

A busca dos dados foi realizada em duas etapas de acordo com os seguintes descritores: Biomarcadores na saliva; citocinas; câncer oral. A

primeira etapa foi no portal de periódicos SCIELO, MEDLINE e PubMed no ano de 2022. Foram adotados os operadores booleanos (AND, OR, AND NOT) para uma melhor performance nos resultados de busca e seleção dos textos científicos, foram considerados somente artigos que buscavam analisar as possíveis aplicações dos biomarcadores na saliva para o diagnóstico e rastreamento do câncer oral. (e.g., “Biomarcadores na saliva” AND “Citocinas” AND “Câncer oral”).

Quadro 1 – Cadeia de busca e resultados totalizantes.

Palavras – chaves	MEDLINE	SCIELO	PUBMED	TOTAL
biomarcadores na saliva AND citocinas (salivary biomarkers AND cytokines)	18	4	19	41
biomarcadores na saliva AND câncer oral (salivary biomarkers AND oral câncer)	27	3	36	66
Câncer oral AND citocinas (Oral cancer AND cytokines)	12	6	13	31
Total	57	13	68	138

Fonte: Elaborado pelo próprio autor do artigo.

Foram utilizados para a seleção dos estudos alguns critérios de inclusão e exclusão. Para a inclusão de um artigo no estudo foi considerada sua relevância em relação às questões de investigação, determinada pela análise do título, palavras-chave e resumo. Especificamente, foram definidos três critérios de inclusão:

CI.1 – Os diferentes potenciais dos biomarcadores na saliva, em especial a citocinas e sua aplicabilidade para o rastreamento do câncer oral;

CI.2 - O trabalho apresentou análise teórica, metodológica e as estratégias adotadas para uso dos biomarcadores na saliva e suas técnicas de coleta no diagnóstico de doenças sistêmicas e orais;

CI.3 - O trabalho discute os recentes desenvolvimentos na área de dispositivos de coleta de amostras de biomarcadores na saliva e suas aplicações no campo da análise das moléculas para o rastreamento e diagnóstico do câncer oral e bucal.

A seguir, foram excluídos os estudos que se enquadraram em algum dos seguintes critérios:

CE.1 - Estudos sem acesso livre para visualização ou download do trabalho completo;

CE.2 - Estudos duplicados (derivados da pesquisa ou resultantes em mais de uma fonte de busca em banco de dados);

CE.3 - Estudos cujo tema de pesquisa não esteja restrito a relação entre biomarcadores na saliva e o diagnóstico de câncer oral e bucal;

CE.4 - Publicações não revisadas por pares. Considerou-se para o presente estudo apenas os artigos científicos publicados na íntegra em revistas acadêmicas;

CE.5 - Estudos com conteúdo destoante aos objetivos da pesquisa;

Após a utilização dos critérios de inclusão e exclusão dos artigos do período, foram considerados para a discussão e descrição dos resultados os trabalhos publicados entre 2016 e 2021, publicados em língua portuguesa, espanhola e inglesa. Tendo em vista os critérios aqui abordados e atualidade das pesquisas, foram selecionados 10 artigos de maior relevância, relacionados aos objetivos do presente estudo, dentre os 138 artigos resultantes da busca em bancos de dados, desconsiderando os artigos que não proporcionavam a análise sobre o tema aqui abordado.

3 REVISÃO DE LITERATURA.

A descoberta de biomoléculas específicas na saliva, que podem ser utilizadas como biomarcadores no diagnóstico, desde doenças cardiovasculares, metabólicas até diferentes tipos de câncer, abriu um campo de investigação científica e do emprego de técnicas de rastreio e diagnósticos ligados ao *Salivaomics* (ISHIKAWA *et al.*, 2016).

O termo *Salivaomics* foi introduzido em 2008, fazendo referência a descoberta de biomoléculas específicas expressas na saliva como o DNA, mRNA, microRNA, proteínas, metabólitos e extrações da microbiótica oral, possibilitando o surgimento de novos biomarcadores para diagnóstico e monitoramento do câncer e de doenças sistêmicas. Os biomarcadores na saliva, como as citocinas, podem ser usados para prever o risco de doença, identificar malignidade, determinar o prognóstico assertivo e rastrear a progressão da neoplasia (ISHIKAWA *et al.*, 2016; GLEBER-NETTO *et al.*, 2016; SAHIBZADA *et al.*, 2017).

O diagnóstico a partir da saliva é um campo em desenvolvimento nas duas primeiras décadas do século XXI, sendo utilizado na investigação do estado hormonal, estados neurológicos, influência nutricional, estado metabólico e estado imunológico dos indivíduos (ISHIKAWA *et al.*, 2016; GLEBER-NETTO *et al.*, 2016; SAHIBZADA *et al.*, 2017).

Em relação aos biomarcadores na saliva, Sahibzada *et al.* (2017), afirma que as citocinas pró-inflamatórias IL-6, e TNF- α , são detectadas constantemente em pessoas com câncer oral. As citocinas pró-inflamatórias IL-1, IL-2, IL-6, e TNF- α , são membros de uma cadeia de proteínas relacionadas as reações inflamatórias, tendo efeito sobre a propagação celular, o crescimento e a diferenciação de células cancerosas.

Waugh e Wilson *et al.* (2008), descreveram a interleucina-8 como um potencial biomarcador para o câncer oral. A IL-8 se caracteriza sendo uma citocina pré-inflamatória, associada à quimiotaxia e a degranulação de neutrófilose, que atua sobre os receptores CXCR1 e CXCR2. As altas concentrações de IL-8 nos receptores de células cancerosas, células endoteliais, neutrófilos e macrófagos de massas tumorais, interferem na expressão gênica e fatores de transcrição, modulando o proteoma celular ao nível da tradução, atuando sobre a regulação pós-traducional de proteínas reguladoras, promovendo assim respostas angiogênicas junto a migração de células cancerosas, células endoteliais e neutrófilos infiltrantes, observando um potencial metastásico das neoplasias.

Alguns estudos observaram em indivíduos diagnosticados com câncer oral, o aumento exponencial dos níveis de IL-6 na saliva, sugerindo que a citocina pleiotrópica interleucina 6 (IL-6) pode ser utilizada como um

biomarcador preditivo de neoplasias orais (ISHIKAWA *et al.*, 2016; GLEBER-NETTO *et al.*, 2016; SAHIBZADA *et al.*, 2017).

As citocinas salivares pró-inflamatórias estão associadas ao diagnóstico de doenças orais e não orais, tornando este um método altamente informativo sobre o desenvolvimento de neoplasias. A pesquisa com biomarcadores na saliva está progredindo a fim de identificar diferentes biomarcadores e suas aplicações para o diagnóstico e prognóstico do câncer oral (KHAN *et al.*, 2016).

Os biomarcadores na saliva nos ajudam a obter um diagnóstico assertivo e não-invasivo. Esses biomarcadores podem ajudar o paciente a identificar uma neoplasia em seu estágio inicial. O exame é rápido, fácil e indolor, e os dados coletados são simples de serem preservados e com alto poder informativo (ISHIKAWA *et al.*, 2016; GLEBER-NETTO *et al.*, 2016; SAHIBZADA *et al.*, 2017).

4 DISCUSSÕES E RESULTADOS.

Para a análise dos estudos, procedeu-se a descrição destes, considerando: autor, amostra, escopo, desenho metodológico e desfecho, os quais serão apresentados posteriormente. Houve 67 autores no total, com média de 6,7 autores por artigo. Quanto ao tipo de estudos, 6 revisões de literatura, 1 Coorte prospectivo, 3 estudos clínicos controlados; contando com um total de 1632 pacientes descritos nos estudos abordados. Os estudos utilizados foram publicados em 9 diferentes periódicos internacionais.

Cheng *et al.* (2019), em uma revisão de literatura sobre a utilização de nanopartículas observada na saliva humana, em especial do exossomo salivar, com origem na vesícula extracelular, uma possível identificação do exossomo salivar como uma nanovesícula com alta capacidade informativa e clinicamente relevante. A nanopartícula demonstrou, em estudos clínicos, como sendo um mecanismo assertivo de identificação de biomarcadores carcinogênicos através do transporte sistêmico na cavidade oral.

As vesículas extracelulares incluem três subgrupos: exossomos, microvesículas e corpos apoptóticos (CHENG *et al.*, 2019).

Segundo Cheng *et al.* (2019), a utilização de detecção eletroquímica, com liberação e medição induzida por campo elétrico, possibilita uma

caracterização de nanoestruturas dos exossomos salivares em indivíduos fornecendo dados críticos para a compreensão de sua condição fisiopatológica e potencial diagnóstico. Assim tal método de análise avança enquanto instrumento de biópsia líquida de saliva, ampliando o cenário atual de testes de saliva para a detecção de neoplasias orais.

Segundo Cheng *et al.* (2019), a criação de métodos para a detecção de nanopartículas na saliva se constitui como elemento vital para o desenvolvimento de novos modelos de biópsia por meio da utilização de biomarcadores na saliva, possibilitando a construção de diagnóstico e tratamento do câncer oral com maior adesão pelo paciente. Os estudos destacaram que os biomarcadores na saliva que apresentam maior confiabilidade são: DUSP1; H3F3A; IL-1; IL- 8; OAZ1; S100P; miR-125a; miR-200a.

Cristaldi *et al.* (2019), em uma revisão de literatura, aponta para o desenvolvimento da biópsia líquida, como um modelo alternativo e pouco invasivo para o diagnóstico do câncer oral. O autor observou que a utilização de moléculas da saliva para uso clínico tem como vantagens: ser indolor, acessível e de baixo custo. Representado, assim, um modelo útil na detecção de biomarcadores na saliva para o diagnóstico e rastreio do câncer oral.

De acordo com Cristaldi *et al.* (2019), mesmo se observando a limitação imposta pelos protocolos padronizados de isolamento, caracterização e avaliação, os dados clínicos sugerem que a saliva pode ser incluída assertivamente no desenvolvimento de diagnóstico clínico sobre o câncer oral. As nanopartículas encontradas na saliva como as citocinas, moléculas de DNA e RNA, células circulantes tumorais e as vesículas extracelulares são os biomarcadores destacados pelos estudos clínicos como de maior assertividade no rastreio e diagnóstico do câncer oral.

No caso, das nanopartículas originadas das vesículas extracelulares, a detecção de biomarcadores de baixa expressão, e os seus níveis morfológicos, a exemplo dos lipídios, proteínas e ácidos nucleicos, permitiu achados altamente informativos para o diagnóstico e prognóstico do câncer bucal. No entanto, existem limitações relacionadas às tecnologias complexas e caras de isolamento, caracterização e análise. Entre todos os métodos para isolar os biomarcadores das vesículas extracelulares, a ultracentrifugação e o ExoQuick-

TC, um tipo de kit de agente químico usado para precipitar as nanopartículas, representam os métodos de base física mais utilizadas e de custo considerável (CRISTALDI *et al.*, 2019).

Khan *et al.* (2018), em um estudo de revisão de literatura sobre a utilização de biomarcadores na saliva no diagnóstico do câncer oral, observou que número de marcadores proteicos, expressos na saliva, que sofrem alterações durante o desenvolvimento de lesões pré-malignas e malignas de câncer oral, é muito elevado. Nessa perspectiva, Khan *et al.* (2018), destaca que as citocinas salivares pró-inflamatórias estão associadas ao diagnóstico de doenças orais e não orais, tornando este um método seguro com resultados confiáveis demonstrados na literatura. Assim, o diagnóstico e a pesquisa de prognóstico do câncer oral estão progredindo, a fim de identificar diferentes biomarcadores e suas aplicações no trato da doença.

Segundo Sahibzada *et al.* (2017), a coloração vital, detecção por quimioluminescente, biópsias de varredura por imagens de faixa estreita, microscopia confocal e espectroscopia de alta fluorescência são algumas das técnicas que estão sendo utilizadas para a prevenção e rastreamento do câncer oral. Uma limitação de algumas destas técnicas citadas é o acesso ao equipamento de alta tecnologia e o tipo de natureza invasiva junto aos protocolos de segurança quando comparados com diagnóstico através da saliva, que faz uso de moléculas biológicas referidas como biomarcadores gerados pela glândula parótida, glândula submandibular e glândula sublingual.

Nessa perspectiva, algumas evidências científicas sugerem que a interleucina-8 (IL-8) pode ser usada de forma segura enquanto biomarcador salivar para detectar o câncer oral. Os níveis deste biomarcador estão diretamente relacionados ao estilo de vida e a genética do paciente. Baixos níveis desta interleucina estão relacionados com a gengivite e a periodontite, no entanto, altas quantidades de IL-8 na saliva têm sido relacionadas ao câncer oral com aspecto maligno (SAHIBZADA *et al.*, 2017).

Segundo Sahibzada *et al.* (2017), entre os achados, analisados na revisão da literatura científica, estaria a observação da detecção de citocinas na saliva de pacientes com neoplasia, no qual a alta concentração de quimiocinas seriam responsáveis por induzir o câncer bucal em seres humanos, em desataque estaria a interleucina-8.

Csósz *et al.* (2017), em seu estudo de corte prospectivo clínico, tendo em vista investigar a prevalência do carcinoma espinocelular oral, enquanto um tipo de câncer oral, na população húngara, buscou investigar 14 proteínas, previamente relatadas como significativamente elevadas na saliva de pacientes com câncer oral. Para a detecção das citocinas IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , fora utilizado um kit multiplex baseado em Luminex através do qual foram demarcadas as concentrações salivares. No caso de catalase, profilina-1, S100A9, CD59, proteína de ligação galectina-3, CD44, tioredoxina e queratina-19, foi delimitado um método proteômica direcionado baseado em SRM e a quantidade relativa das proteínas foi determinada na saliva dos pacientes com carcinoma espinocelular oral enquanto grupo de controle.

Os resultados demonstram que as proteínas investigadas como biomarcadores para Carcinoma espinocelular oral, aplicadas ao redor do globo tem alcance limitado no rastreio do câncer oral na população húngara. Notou-se que os níveis de proteína apresentam discrepâncias entre os diferentes grupos estudados, destacando a importância de estudos de fundo proteômica adaptados à população para encontrar técnicas de análise e extração de biomarcadores na saliva com baixo custo para a aplicação em grandes populações (CSÓSZ *et al.*, 2017).

O estudo de Csósz *et al.* (2017), apresenta uma perspectiva diversa dos outros até o momento apresentados, observando que determinantes genéticos e comportamentais de uma população devem ser mais investigados para o prognóstico e diagnóstico do câncer oral.

Em seu estudo de revisão, Salvatierra *et al.* (2017), observou que os pacientes com câncer oral têm níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias, como IL-6 (Interleucina-6), IL-1 (Interleucina-1) e TNF- α (fator de necrose tumoral alfa). A função das citocinas depende do tipo de inflamação, os tipos de respostas hematológicas, imunológicas e o tipo de resistência do hospedeiro. As citocinas pró-inflamatórias são um grupo de proteínas envolvidas em reações inflamatórias, demonstrando influenciar o desenvolvimento, a propagação, a distinção celular e a carcinogênese.

As citocinas IL-6 e IL-8, foram frequentemente detectadas na saliva de pessoas com carcinoma espinocelular oral, de acordo com os estudos analisados. As interleucinas 6 e 8 são altamente diagnosticadas para o

carcinoma espinocelular oral e proporcionam ao paciente um método não-invasivo é confiável para o diagnóstico do câncer em seus estágios iniciais (SALVATIERRA *et al.*, 2017).

Entre os achados da pesquisa de Salvatierra *et al.* (2017), destaca-se que a maioria dos estudos analisados sugere IL-6 e IL-8 como potenciais biomarcadores na saliva para diagnosticar precocemente o carcinoma espinocelular oral, devido à sua participação ativa na carcinogênese, observando aumento significativo na saliva e com altos valores de sensibilidade e especificidade para o diagnóstico de câncer. Porém, os estudos apontam para a necessidade de novas pesquisas, abrangendo um tamanho maior de amostras, para validar as interleucinas como marcadores salivares assertivos, para tal devesse incluir indicadores estatísticos de sensibilidade, especificidade e valor preditivo, que aumentem a confiabilidade dos testes desses biomarcadores na saliva.

Santosh *et al.* (2016), em um estudo de revisão de literatura destacou que os biomarcadores na saliva detectados em líquen plano, leucoplasia oral e fibrose submucosa oral, enquanto mecanismo assertivo para a detecção lesões malignas, sugerem que um número elevado de citocinas IL-6 e IL-8 foram detectadas na saliva de pessoas com carcinoma espinocelular. A detecção das interleucinas 6 e 8 é um mecanismo confiável para o rastreamento do carcinoma espinocelular, se estabelecendo como um método seguro para o diagnóstico das neoplasias orais em seus estágios iniciais. Assim estas interleucinas (IL-6; IL-8) podem ser utilizadas enquanto biomarcadores preditivos para o câncer oral.

Santosh *et al.* (2016), observa que compreender as etapas, metodologias e protocolos e relatórios de avaliação da biópsia líquida, auxiliará os pesquisadores a reduzir as lacunas na pesquisa com biomarcadores na saliva na detecção do câncer oral. O autor observa o aumento no número de pesquisa sobre biomarcadores são recomendados para entender melhor a população de células heterogêneas do tecido canceroso e a resposta imune dos pacientes à população de células cancerígenas. O desenvolvimento de biomarcadores clinicamente válidos, com maiores valores de utilidade clínica, para o rastreamento do câncer bucal é altamente recomendado, pois a

identificação precoce do câncer oral terá impacto direto nas taxas de cuidado e mortalidade do paciente.

Kallalli *et al.* (2016), em um estudo clínico controlado com cerca de 60 pacientes observou a pertinência do uso da saliva enquanto biomarcador tumoral. Foram selecionados pacientes na faixa etária entre 20 e 70 anos, divididos em três grupos: O primeiro grupo, com vinte e cinco indivíduos foi diagnosticado com fibrose da submucosa oral, o segundo grupo, com vinte e cinco indivíduos foi diagnosticado histopatologicamente com câncer oral e o terceiro grupo de controle com dez indivíduos sem nenhum diagnóstico. Foram coletados cinco mililitros de saliva de forma não estimulada. Em seguida, a saliva coletada foi centrifugada e analisada pelo semiauto-analisador ERBA-CHEM 5. Os valores obtidos foram analisados estatisticamente por meio de estatística descritiva e teste t pareado utilizando o software SPSS.

Segundo Kallalli *et al.* (2016), a observação dos níveis de Lactato Desidrogenase Salivar (LDH) recolhidos na saliva, tem utilização potencial como mecanismo de triagem para o diagnóstico clínico do câncer oral. Os níveis salivares de Lactato desidrogenase salivar também podem servir como fonte de monitoramento dos resultados do tratamento em pacientes com fibrose da submucosa oral.

Entre os achados Kallali *et al.* (2016), observa-se que na análise comparativa entre os três grupos delimitados de indivíduos, notou-se uma alta na taxa do Lactato Desidrogenase Salivar (LDH) entre os indivíduos diagnosticados com câncer oral em relação aos demais grupos.

Seguindo a perspectiva de observação do potencial das interleucinas como biomarcadores na saliva na detecção do câncer oral, Ishikawa *et al.* (2016), em estudo clínico, analisa as vantagens e limitações do uso de moléculas salivares para a detecção do câncer oral. O autor recrutou pacientes saudáveis e com câncer oral, entre 2012 e 2014, que forneceram tecidos tumorais e amostras de saliva, cada paciente enxaguou a boca com água e a saliva foi coletada em um tubo Falcon de 50 ml e em seguida as amostras de saliva foram imediatamente armazenadas. Foram retirados tecidos saudáveis e doente que apresentavam perfil de neoplasia maligna, ambos foram respectivamente ressecados e armazenados imediatamente a -80°C . (ISHIKAWA *et al.*, 2016).

Entre os achados científicos, observou-se que os perfis metabólicos dos tecidos tumorais foram significativamente diferentes dos tecidos saudáveis. No entanto, eles foram semelhantes aos metabólitos salivares, que foram significativamente diferentes entre os indivíduos com câncer oral e o grupo de controle de indivíduos saudáveis. Apesar da capacidade dos biomarcadores identificados para o rastreamento do câncer oral está restrito aos grupos recrutados, a pesquisa demonstrou não haver diferença significativa nos biomarcadores em relação aos estágios da doença, o que limita a utilização dos biomarcadores na saliva como ferramenta única de triagem para avaliar os diversos tipos de câncer oral (ISHIKAWA *et al.*, 2016).

No estudo clínico de base experimental realizado por Gleber-Netto *et al.* (2016), analisou-se os marcadores proteômicos tiveram melhor desempenho do que marcadores transcriptômicos na distinção de casos de câncer bucal de distúrbios orais potencialmente malignos e os grupos de controles quando considerados individualmente. O modelo de detecção salivar da IL-8 sozinho teve o melhor desempenho entre os modelos, sempre fornecendo os valores de AUC mais altos do que outros marcadores individuais. A metodologia de análise do estudo de Gleber- Netto *et al.* (2016) é apresentada a seguir: Foram analisadas 180 amostras, no qual 60 pacientes com carcinoma espinocelular oral, 60 pacientes com distúrbios orais potencialmente malignos, com evidência de displasia e 60 pacientes de grupo de controle sem sinais clínicos de nenhuma doença ou alteração na cavidade oral.

O protocolo de controle para a composição da amostra do estudo foi realizado por meio de questionário e histórico médico, sendo realizados exames físicos de rotina, observando sexo e idade, sendo excluídos antecipadamente pacientes com histórico de câncer, diabetes, doenças autoimunes, hepatite ou infecção por HIV (GLEBER – NETTO *et al.*, 2016). A coleta da saliva se deu por meio de não estimulação, sendo o RNA e as proteínas processadas separadamente. No processo de coleta de saliva, os doadores evitaram comer, beber, fumar e usar produtos de higiene bucal por pelo menos uma hora antes da coleta. As amostras foram centrifugadas a 3.000 × g por quinze minutos a 4°C. Os sobrenadantes foram prontamente tratados com uma mistura de inibidor de protease (Roche; número cat.: 11836145001) e inibidor de RNase (Invitrogen, 10777-019) (GLEBER – NETTO *et al.*, 2016). As amostras foram

aliquotadas em volumes pequenos e guardadas em refrigerador a -80°C. A fim de evitar a deterioração das proteínas, as amostras de saliva descongeladas foram utilizadas somente uma vez. A saliva foi coletada no momento do diagnóstico para pacientes com OSCC e PMOD, e antes de qualquer procedimento cirúrgico (GLEBER – NETTO *et al.*, 2016).

Segundo Gleber-Netto *et al.* (2016), os resultados encontrados demonstram, a utilização das interleucinas IL-8 e IL-1 β como potenciais biomarcadores na saliva para detecção de câncer oral, mostrando sensibilidade e especificidade variando de 70% a 80% e um valor de AUC em torno de 0,7. O IL-1 β salivar não foi considerado um bom marcador para a detecção do Carcinoma espinocelular oral, enquanto o IL-8 mostrou valor de AUC (0,73) semelhante a outros estudos, confirmando a reprodutibilidade deste marcador em diferentes populações com câncer oral.

A seguir apresentamos as publicações abordadas no presente artigo, a fim de estabelecer um quadro comparativo das pesquisas e seus diferentes autores.

Quadro 2 - Distribuição das referências por autor, ano, título e resultados encontrados.

AUTOR/ANO	TÍTULO DO TRABALHO	RESULTADOS.
Cheng <i>et al.</i> (2019)	Salivary Exosomes as Nanocarriers for Cancer Biomarker Delivery	A criação de métodos de detecção de nanopartículas na saliva se constitui como elemento vital para o desenvolvimento de novas plataformas para utilização de biomarcadores na saliva na construção de diagnóstico e tratamento do câncer oral . Os estudos destacaram que os biomarcadores na saliva que apresentam maior confiabilidade, são DUSP1, H3F3A, IL-1, IL- 8, OAZ1, S100P, miR-125a, miR-200a.
Cristaldi <i>et al.</i> (2019)	Salivary Biomarkers for Oral Squamous Cell Carcinoma Diagnosis and Follow-Up: Current Status and perspectives	Dados clínicos sugerem que a saliva pode ser incluída assertivamente no desenvolvimento de diagnóstico clínico sobre o câncer oral . As nanopartículas encontradas na saliva como as citocinas,

		moléculas de DNA e RNA, células circulantes tumorais e as vesículas extracelulares são os biomarcadores destacados pelos estudos clínicos como de maior assertividade no rastreio e diagnóstico do câncer oral .
Khan <i>et al.</i> (2018)	Diagnosing oral squamous cell carcinoma using salivary biomarkers	As citocinas salivares pró-inflamatórias (IL-1, IL-6 e TNF- α) estão associadas ao diagnóstico de doenças orais e não orais, tornando este um método seguro com resultados confiáveis demonstrados na literatura.
Sahibzada <i>et al.</i> (2017)	Salivary IL-8, IL-6 and TNF- α as Potential Diagnostic Biomarkers for Oral Cancer	Entre os achados, analisados na revisão da literatura científica, estaria a observação da detecção de citocinas (IL-8, IL-6, TNF- α) na saliva de pacientes com neoplasia, no qual a alta concentração de quimiocinas seriam responsáveis por induzir o câncer bucal em seres humanos
Csósz <i>et al.</i> (2017)	Proteomics investigation of OSCC-specific salivary biomarkers in a Hungarian population highlights the importance of identification of population-tailored biomarkers	Os resultados demonstram que as proteínas investigadas como biomarcadores para Carcinoma espinocelular oral, aplicadas ao redor do globo tem alcance limitado no rastreio do câncer oral na população húngara. Notou-se que os níveis de proteína apresentam discrepâncias entre os diferentes grupos estudados, destacando a importância de estudos de fundo proteômica adaptados à população para encontrar técnicas de análise e extração de biomarcadores na saliva com baixo custo para a aplicação em grandes populações.
Salvatierra <i>et al.</i> (2017)	Capacidad diagnóstica de los biomarcadores salivales interleucinas 6 y 8 para el diagnóstico de carcinoma de células escamosas de cavidad oral	As citocinas IL-6 e IL-8 foram frequentemente detectadas na saliva de pessoas com carcinoma espinocelular oral, de acordo com os estudos analisados. As interleucinas 6 e 8 são altamente diagnosticadas para o carcinoma espinocelular oral e proporcionam ao paciente um método não-invasivo é confiável para o diagnóstico

		do câncer em seus estágios iniciais.
Santosh <i>et al.</i> (2016)	A review on oral cancer biomarkers: Understanding the past and learning from the present.	Compreender as etapas, metodologias e protocolos e relatórios de avaliação da biópsia líquida, auxiliará os pesquisadores a reduzir as lacunas na pesquisa com biomarcadores na saliva na detecção do câncer oral . O autor observa o aumento no número de pesquisa sobre biomarcadores são recomendados para entender melhor a população de células heterogêneas do tecido canceroso e a resposta imune dos pacientes à população de células cancerígenas. O desenvolvimento de biomarcadores clinicamente válidos, com maiores valores de utilidade clínica, para o rastreamento do câncer bucal é altamente recomendado, pois a identificação precoce do câncer oral terá impacto direto nas taxas de morbidade e mortalidade do paciente.
Kallalli <i>et al.</i> (2016)	Lactate dehydrogenase as a biomarker in oral cancer and oral submucous fibrosis	A análise comparativa entre os três grupos delimitados de indivíduos, notou-se uma alta na taxa do Lactato Desidrogenase Salivar (LDH) entre os indivíduos diagnosticados com câncer oral em relação ao demais grupos.
Ishikawa <i>et al.</i> (2016)	Identification of salivary metabolomic biomarkers for oral cancer screening	Entre os achados científicos, observou-se que os perfis metabólicos dos tecidos tumorais foram significativamente diferentes dos tecidos saudáveis. No entanto, eles foram semelhantes aos metabólitos salivares, que foram significativamente diferentes entre os indivíduos com cancer oral e o grupo de controle de indivíduos saudáveis. Apesar da capacidade dos biomarcadores identificados para o rastreamento do câncer oral está restrito aos grupos recrutados, a

		pesquisa demonstrou não haver diferença significativa nos biomarcadores em relação aos estágios da doença, o que limita a utilização dos biomarcadores na saliva como ferramenta única de triagem para avaliar os diversos tipos de câncer oral.
Gleber-Netto <i>et al.</i> (2016)	Salivary Biomarkers for Detection of Oral Squamous Cell Carcinoma in a Taiwanese Population	Os marcadores proteômicos obtiveram melhor desempenho do que os transcriptômicos na distinção de casos de câncer e distúrbios orais. Os resultados encontrados demonstram, a utilização das interleucinas IL-8 e IL-1 β como potenciais biomarcadores na saliva para detecção de câncer oral, mostrando sensibilidade e especificidade variando de 70% a 80% e um valor de AUC em torno de 0,7. O IL-1 β salivar não foi considerado um bom marcador para a detecção do Carcinoma espinocelular oral, enquanto o IL-8 mostrou valor de AUC (0,73) semelhante a outros estudos, confirmando a reprodutibilidade deste marcador em diferentes populações com câncer oral.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor do artigo.

O quadro 2, demonstra que há resultados dispersos no emprego de biomarcadores na saliva como mecanismo de diagnóstico para o câncer oral, porém, os estudos analisados apontam para a utilização da biópsia líquida enquanto um instrumento com aplicação potencialmente assertiva na detecção do câncer oral.

Os resultados dos estudos indicam a necessidade do desenvolvimento de um número maior de estudos clínicos relacionados a saliva, a fim de estabelecer um mecanismo de alta fidedignidade na detecção do câncer oral por meio de biomarcadores salivares. Não se observou, em nenhum estudo abordado, a recomendação da substituição total da biópsia de tecido tumoral da cavidade oral enquanto padrão ouro de detecção de neoplasias.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.

O presente estudo, observou que há um relativo consenso na utilização dos biomarcadores salivares como um mecanismo assertivo para a realização de prognóstico e diagnóstico do câncer oral, porém com relativa limitação relacionada à dificuldade de detecção e preservação de nanopartículas, como a interleucina 1 de precursor beta (IL-1 β), Interleucina-6 (IL-6), Interleucina-8 (IL-8) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α).

Os artigos apresentados apontam a necessidade de mais estudos sobre os biomarcadores e o aperfeiçoamento dos sistemas de detecção do câncer oral através da saliva, observando como vantagem uma maior adesão dos pacientes a um método de detecção de câncer oral não invasivo, além de reduzidos custos, quando comparado com o método usual da biópsia por extração de tecido.

Destaca-se ainda a possibilidade de aplicação de técnicas de extração e análise de biomarcadores na saliva em populações mais abrangentes, possibilitando a construção de mapas complexos, levando em consideração idade, hábitos, herança genética, aspectos morfológicos, tendo em vista o impacto do câncer oral tanto em indivíduos como em grupos populacionais.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CHENG, Jordan, *et al.* "Salivary Exosomes as Nanocarriers for Cancer Biomarker Delivery." **Materials (Basel, Switzerland)** vol. 12,4 654. 21 Feb. 2019.

CRISTALDI, Marta *et al.* Salivary biomarkers for oral squamous cell carcinoma diagnosis and follow-up: current status and perspectives. *Frontiers in physiology*, v. 10, p. 1476, 2019.

CSŐSZ, E. *et al.* proteomics investigation of oscc-specific salivary biomarkers in a Hungarian population highlights the importance of identification of population-tailored biomarkers. **PloS one**, [s.1.], v.12, n.5, p. 1-21, mai. 2017.

GLEBER-NETTO, F.O. *et al.* Salivary Biomarkers for Detection of Oral Squamous Cell Carcinoma in a Taiwanese Population. **Clinical Cancer Research**, [S.1.], v.22, n.13, p. 3340-3347, Jul. 2016.

INCA - INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. abc do câncer: abordagens básicas para o controle do câncer ; organização Mario Jorge Sobreira da Silva. –5. ed. **Rev. atual. ampl.** – Rio de Janeiro: Inca, 2019.

INCA - INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. estimativa 2020: incidência de câncer no brasil. rio de janeiro: INCA, 2021.

ISHIKAWA, S. *et al.* Identification of salivary metabolomic biomarkers for oral cancerscreening. **Scientific Reports**, [S.1.], v.6, n.31520, p.1-7, ago.2016.

KHAN, M.R.S., *et al.* Diagnosing oral squamous cell carcinoma using salivary biomarkers. **Bangabandhu Sheikh Mujib Medical University**, n.11, p.1-10, 2018

KALLALLI, B.N. *et al.* Lactate dehydrogenase as a biomarker in oral cancer and oral submucous fibrosis. **Journal of oral pathology & medicine**, [s.1.], v.45, n.9, p.687-90, out.2016.

SALVATIERRA, C.E. *et al.* diagnostic capability of the salivary biomarkers interleukin 6and 8 for diagnosis of oral squamous cell carcinoma. **avancesenodontoestomatología**, [s.1.], v.33, n.2, p. 1-9, mar-abr. 2017.

SAHIBZADA, H.A. *et al.* Salivary il-8, il-6, and TNF- α as potential diagnostic biomarkers for oral cancer. **Diagnostics**, [s.1.], v.7, n.2, p.1-10, abr. 2017.

SANTOSH, A.B.R. *et al.* A review on oral cancer biomarkers: Understanding the past and learning from the present. **Journal of Cancer Research and Therapeutics**, [S.1.], v.12, n.2, p.486-92, abr-jun. 2016.

WAUGH, DAVID J.J; WILSON, CATHERINE. The interleukin-8 pathway in cancer. **Clinical cancer research**, v. 14, n. 21, p. 6735-6741, 2008.