

UNIVERSIDADE DO SAGRADO CORAÇÃO

JAQUELINE MARSON DE MORAES

A SALIVA É UM POTENCIAL BIOMARCADOR PARA O DIAGNÓSTICO PRECOCE  
DO CÂNCER BUCAL? REVISÃO DE LITERATURA

BAURU

2019

JAQUELINE MARSON DE MORAES

A SALIVA É UM POTENCIAL BIOMARCADOR PARA O DIAGNÓSTICO PRECOCE  
DO CÂNCER BUCAL? REVISÃO DE LITERATURA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado  
como parte dos requisitos para obtenção do  
título de bacharel em Odontologia -  
Universidade do Sagrado Coração.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Mirella Lindoso  
Gomes Campos

BAURU

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo  
com ISBD

M827s	<p>Moraes, Jaqueline Marson de</p> <p>A saliva é um potencial biomarcador para o diagnóstico precoce do câncer bucal? Revisão de literatura / Jaqueline Marson de Moraes. -- 2019. 25f. : il.</p> <p>Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Mirella Lindoso Gomes Campos Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Andreia Aparecida da Silva</p> <p>Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) - Universidade do Sagrado Coração - Bauru - SP</p> <p>1. Biomarcadores. 2. Saliva. 3. Neoplasias Bucais. I. Campos, Mirella Lindoso Gomes. II. Silva, Andreia Aparecida da. III. Título.</p>
-------	--

JAQUELINE MARSON DE MORAES

A SALIVA É UM POTENCIAL BIOMARCADOR PARA O DIAGNÓSTICO PRECOCE  
DO CÂNCER BUCAL? REVISÃO DE LITERATURA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado  
como parte dos requisitos para obtenção do  
título de bacharel em Odontologia -  
Universidade do Sagrado Coração.

Aprovado em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_.

Banca examinadora:

---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Mirella Lindoso Gomes Campos (Orientadora)  
Universidade do Sagrado Coração

---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Elcia Maria Varize Silveira  
Universidade do Sagrado Coração

---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Danieli Colaço Ribeiro Siqueira  
Universidade do Sagrado Coração

Dedico este trabalho aos meus pais Andrea Marson de Moraes e Eduardo Vieira de Moraes que ao longo desses quatro anos se dedicaram incansavelmente para que eu pudesse me tornar uma cirurgiã-dentista.

## AGRADECIMENTOS

Primordialmente meus agradecimentos se estenderão a Deus, pela oportunidade de viver, por me capacitar até aqui para atingir meus objetivos, por me sustentar em cada dificuldade que com Ele, eu pude vencer; antecipo meus agradecimentos a Universidade do Sagrado Coração que além de fornecer uma infraestrutura e corpo docente de excelência, me permitiu maior conhecimento e aproximação com Deus através da Catequese para Adultos (incrivelmente ministrada pela Irmã Marcia Lassis, á quem muito admiro e tenho enorme carinho) Primeira Comunhão e Crisma.

Gratidão, respeito e admiração a todos os Professores Doutores que fizeram parte de minha graduação, onde nomeio a Professora Dra. Andreia Aparecida da Silva que foi uma mãe na pesquisa de iniciação científica, sempre acreditando em meu potencial e me dando coragem e a Professora Dra. Mirella Lindoso Gomes Campos que me abraçou como sua orientada e me ensinou desde as clínicas de periodontia o que é uma odontologia feita com o coração, de ser humano para ser humano e essa não é uma matéria curricular, mas sim reflexo de seu caráter e coração.

Creio que o difícil foi me acostumar a viver longe da minha Família, sou privilegiada por possuir pais, irmão, avós, tias, primos tão perto e tão presentes em minha vida, prontos a me ajudarem, meus sinceros agradecimentos a todos, pois reconheço o esforço de cada um de vocês, em especial cito meus pais, dizendo novamente que agradecer por tudo ainda seria muito pouco, o que vocês tiveram que enfrentar todos os dias para que essa conquista acontecesse só vocês sabem e tenham certeza minha admiração e gratidão serão eternas; meu irmão Pedro, dizendo mais uma vez que enquanto eu existir você nunca estará só, saiba que em muitos momentos você foi a minha motivação e inspiração para levantar a cabeça e continuar; Felipe por incentivar todas as minhas decisões e por confiar em mim quando eu não mais confiava, por estar comigo a onde for e ser além de tudo, um grande amigo; Agatha mesmo tão pequena por deixar meu coração muitas vezes bem quentinho.

Amigos da família e amigos próximos, agradeço pela torcida de sempre, pelo entusiasmo e apoio que sempre deram a mim e meus familiares, cito em especial Milena Silva por estar presente há tantos anos me incentivando, acreditando e me guiando muitas vezes para retornar a atenção ao que de fato importava; Daniela Moraes Pelares, minha dupla nesses quatro anos de faculdade que se tornou uma grande amiga, não medindo esforços para me ajudar no que houvesse, sou grata por tudo que pudemos aprender juntas e por esse coração enorme; por fim, agradeço a turma XXXVI pelo companheirismo nestes quatro anos.

“a saliva é um espelho da saúde oral e sistêmica.” Rahim *et al.*, (2015).

## RESUMO

A sobrevivência do câncer pode ser influenciada pelos diagnósticos tardios. A saliva apresenta várias funções fisiológicas, podendo ser examinada para identificar saúde ou doença e nos últimos anos tem sido extensamente estudada como fonte diagnóstica de enfermidades e monitoramento de doenças, entre elas, o câncer. Poucos estudos na literatura mostram os biomarcadores presentes na saliva que podem ser utilizados no diagnóstico de câncer bucal, frente a isso o objetivo desse trabalho será realizar uma revisão sistemática da literatura sobre os biomarcadores presentes na saliva para o diagnóstico precoce da doença. As bases de dados PubMed/Medline, Cochrane Collaboration e SciELO foram analisadas com o intuito de selecionar os estudos publicados em periódicos da área utilizando os descritores: "oral cancer" AND "Biomarker" AND "Saliva". Após a aplicação dos critérios de elegibilidade, 6 artigos foram selecionados para análise. Os biomarcadores mais frequentemente encontrados foram o mRNA e as proteínas IL-8, CD44, MMP-1 e MMP-3 além de novos biomarcadores como Cyfra 21-1 e ZNF510, onde apenas um estudo mostrou sensibilidade e especificidade para o marcador ZNF510. A partir dessas informações, conclui-se que não há evidências científicas suficientes para apoiar o uso de biomarcadores da saliva no diagnóstico precoce de câncer de boca nos estágios subclínicos da enfermidade. Novos estudos se fazem necessário para melhores esclarecimentos de como a saliva pode ser utilizada com essa finalidade.

Palavras-chave: Biomarcadores. Saliva. Neoplasias bucais.

## ABSTRACT

Cancer survival may be influenced by late diagnoses. Saliva has several physiological functions and can be examined to identify health or disease and in recent years has been extensively studied as a diagnostic source of disease and disease monitoring, including cancer. Few studies in the literature show the biomarkers present in saliva that can be used in the diagnosis of oral cancer. Therefore, the objective of this work will be to perform a systematic review of the literature about biomarkers present in saliva for the early diagnosis of oral cancer. The PubMed / Medline, Cochrane Collaboration and SciELO databases were analyzed in order to select studies published in journals in the area using the descriptors: "oral cancer" AND "Biomarker" AND "Saliva". After applying the eligibility criteria, 6 articles were selected for analysis. The most frequently found biomarkers were mRNA and IL-8, CD44, MMP-1 and MMP-3 proteins and new biomarkers such as Cyfra 21-1 and ZNF510, where only one study showed sensitivity and specificity for the ZNF510 marker. From this information, it is concluded that there is not enough scientific evidence to support the use of saliva biomarkers in the early diagnosis of oral cancer in the subclinical stages of the disease. Further studies are needed to clarify how saliva can be used for this purpose.

Keywords: Biomarker. Saliva. Mouth neoplasms.

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Trabalhos selecionados .....	16
Quadro 2 – - Eficácia dos Biomarcadores salivares e métodos de detecção.....	17

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA.....	10
2	METODOLOGIA.....	12
2.1	PROCESSO DE COLETA DE DADOS .....	12
2.2	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO/EXCLUSÃO E TAMANHO DA AMOSTRA.....	12
2.3	ESTRATÉGIA DE BUSCA DOS ESTUDOS.....	12
2.4	BUSCA .....	12
2.5	ITENS DE DADOS EXTRAÍDOS .....	13
3	RESULTADOS .....	14
4	DISCUSSÃO.....	18
5	CONCLUSÃO.....	20
	REFERÊNCIAS .....	21

## 1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

O câncer se refere genericamente a uma vasta quantidade de doenças que tem como característica principal a proliferação irregular e desenfreada de células em diferentes localizações. (INCA, 2018a) O câncer inicia-se a partir de mutações genéticas, onde o DNA das células sofre alterações e começam a ativar os proto-oncogenes, que se transformam em oncogenes e iniciam a proliferação cancerosa. Essa dinâmica pode levar anos para acontecer, geralmente vários eventos que acabam desencadeando essa alteração no ácido desoxirribonucléico das células. Segundo pesquisas do Ministério da Saúde cerca de 80 a 90% dos casos de câncer estão ligadas a hábitos alimentares deletérios, falta de exercício físico, poluição, exposição a produtos químicos e entre outros fatores, apenas uma pequena parcela da população é atingida pela doença estritamente genética. (INCA, 2018a) Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), ocorreram 18,1 milhões de casos novos de câncer, sendo que 9,6 milhões vieram a óbito em todo o mundo no ano de 2018. (OMS, 2018)

O câncer de boca está entre as 10 neoplasias mais frequentes em todo o mundo. Esse tipo de lesão possui predileção por homens a partir da quarta década de vida, de baixo poder aquisitivo; que geralmente possuem hábitos como tabagismo e etilismo. Outros fatores de risco incluem má higiene bucal, dieta pobre em vitaminas A e C e exposição prolongada ao sol. (APPLEBAUM. *et al.*, 2009; LEITE; SILVA; MELO, 2005; SCULLY, PORTER, 2000) A região mais acometida pela doença é a língua, mas podem aparecer lesões no palato, mucosa jugal, gengivas e soalho de boca; no ano de 2018 foram registrados 11.200 casos em homens e 3.500 casos em mulheres, que geralmente tem o diagnóstico tardio; a cavidade bucal possui uma anatomia que facilita o exame intra e extra-oral para detecção precoce da neoplasia, porém a falta de conhecimento da população para realizar o auto-exame é grande, e a deficiência na formação dos profissionais vem sendo apontado como a grande causadora dos diagnósticos tardios. (INCA, 2018b; SPIELMANN, WONG, 2011) Sabe-se que o câncer em suas fases iniciais, se detectado, a cura se torna mais próxima. (INCA, 2018c)

A saliva vem sendo amplamente estudada para análise da situação saúde-doença nos indivíduos, não só na Odontologia, mas também na Medicina, para diagnóstico de diabetes mellitus, doenças autoimunes e também o câncer; devido sua facilidade na coleta e extração indolor, e para detectar todas essas doenças, primeiro foi necessário mapear o proteoma salivar humano em condições normais. (PFAFFE *et al.*, 2018; ELASHOFF *et al.*, 2012; FRANZMANN *et al.*, 2012) Quando realizamos a coleta de saliva, junto com os componentes já citados acima, vemos também a presença de compostos presentes na cavidade bucal, como:

células derivadas da descamação epitelial oral, produtos microbianos e proteínas presentes no sangue que chegam por meio da difusão, transporte ativo e filtração. (HUMPHREY SP WILLIAMSON RT, 2001)

As novas tecnologias permitiram um grande avanço na espectrometria em massas, possibilitando o sequenciamento das proteínas e levando os pesquisadores a acreditarem que essas proteínas encontradas na saliva humana poderiam ser consequência do processo saúde-doença que ocorre no organismo daquele indivíduo, possibilitando assim um tempo mais curto para diagnóstico e conseqüentemente o tratamento desses pacientes. (ZHANG *et al.*, 2013; DENNY *et al.*, 2008)

Biomarcadores são moléculas presentes nos fluidos dos seres humanos que podem indicar uma doença ou condição biológica normal. (SOO-QUEE, CHOON-HUAT, 2007) Vários biomarcadores podem ser encontrados na saliva humana, de metais pesados até proteínas, que nós últimos anos tem gerado um grande numero de pesquisas para o diagnóstico de diversas doenças, despertando a curiosidade de pesquisadores científicos. (DENNY *et al.*, 2008; CHIMENOS-KUSTNER; FONT-COSTA; LÓPEZ-LÓPEZ, 2004)

Espera-se que algumas proteínas salivares sirvam de biomarcadores para detecção de câncer bucal, o que poderia resultar em um rápido diagnóstico e melhor prognóstico para o paciente; deste modo o presente trabalho tem como objetivo executar uma revisão sistemática a fim de identificar biomarcadores presentes na saliva para o diagnóstico de câncer de boca, promovendo um quadro de biomarcadores salivares envolvidos com diagnóstico precoce de câncer de boca, bem como identificar se existe um biomarcador para o diagnóstico de câncer de boca.

## 2 METODOLOGIA

A seguir apresenta-se o delineamento da revisão sistemática:

### 2.1 PROCESSO DE COLETA DE DADOS

Este projeto foi delineado seguindo os critérios estabelecidos pela colaboração Cochrane (Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions - Handbook 5.1.0) para elaboração de revisão sistemática.

### 2.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO/EXCLUSÃO E TAMANHO DA AMOSTRA

Os estudos foram selecionados de acordo com a estratégia de busca respeitando os critérios de inclusão particulares para a revisão sistemática. Os critérios de inclusão serão estudos: 1) Língua Inglesa; 2) Estudos de acompanhamento clínico de pelo menos 6 meses do tipo: retrospectivos, prospectivos e ensaios controlados e randomizados (ECRs) e casos controles. Os critérios de exclusão foram: 1) descrição de casos clínicos; 2) indivíduos com neoplasias malignas em outras regiões concomitantemente; 3) Lesões com potencial de malignização; 4) Sítios extra-orais; como vermelhão de lábio, faringe, laringe, seio maxilar; 5) estudos que não estiverem claros os locais das lesões; 6) estudos relacionados com metodologia in vitro, animais, casos clínicos não controlados ou com dados incompletos que não permitam a coleta de informações. Será organizada uma tabela dos estudos excluídos.

### 2.3 ESTRATÉGIA DE BUSCA DOS ESTUDOS

As bases de dados utilizadas serão: PubMed/Medline; Cochrane Collaboration; e Scopus. Estas pesquisas serão realizadas para artigos publicados até agosto de 2017. Será realizado contato adicional com autores quando não for possível realizar a coleta do artigo via sistema nacional on-line ou COMUT.

### 2.4 BUSCA

Os operadores booleanos, com base no MeSH/PubMed utilizados serão: “Oral câncer” e “saliva” e “biomarker”. A busca relacionada dentro do PubMed será: "oral cancer" [All Fields] AND "Biomarker"[All Fields] AND "Saliva" [All Fields].

Após a seleção dos artigos nas bases de dados, os títulos dos artigos foram organizados em ordem alfabética e eliminado os artigos de outras línguas que não a inglesa. O próximo passo foi a remoção dos títulos em duplicatas nas diferentes bases de dados.

## 2.5 ITENS DE DADOS EXTRAÍDOS

Os dados extraídos de cada estudo foram analisados ordenadamente sendo que as principais informações foram obtidas de forma padronizada: 1) Autor; 2) ano de publicação; 3) País de origem do estudo; 4) Número de pacientes; 5) Biomarcadores. A forma de coleta de dados foi por meio de um formulário padronizado, com o intuito de facilitar a leitura e obtenção dos dados pelo grupo de pesquisa.

### 3 RESULTADOS

Após a busca dos operadores booleanos, nas bases MeSH/PubMed, Scopus e Cochrane, foi obtido um total de 331 títulos. Após uma minuciosa busca, todos os títulos repetidos foram excluídos. Após essa exclusão um total de 236 títulos foram selecionados. Após a leitura de títulos e resumos e aplicados os critérios de elegibilidade, 6 artigos foram selecionados e estratificados (Quadro 1).

De uma maneira geral, em todos os estudos selecionados, antes da coleta da saliva, os indivíduos participantes não podiam comer, ingerir álcool, fumar ou escovar os dentes. Uma solução salina 0,9% foi utilizada para enxágue da cavidade oral. A saliva coletada sempre era centrifugada a temperatura de 4°C e o sobrenadante armazenado em tubo limpo com inibidores de proteases ou RNases, dependendo se a análise era para proteína ou RNA.

De acordo com os estágios clínicos da doença relacionados à expressão de biomarcadores salivares, em nenhum caso, a doença se encontrava nos estágios iniciais da doença. Apenas no estudo de Jou *et al.* (2011), foi encontrado um aumento do biomarcador salivar ZNF510 em pacientes T1+T2 e T3+T4 comparado com a população controle onde sua expressão foi baixa.

Em relação aos biomarcadores e métodos moleculares para detecção na saliva, o mRNA e as proteínas citoquinas, quioatratores e metaloproteinases foram detectados usando as técnicas de proteômica, ELISA e qPCR (quadro 2). Desta forma, as IL-8, CD44, MMP-1 e MMP-3 foram os biomarcadores mais frequentes. Novos biomarcadores (Cyfra21-1 e ZNF510) também foram encontrados. O estudo de Elashoff *et al.* (2012), mostrou maior valor preditivo de mRNA para IL-8 e SAT em 5 coortes, no grupo com CEC (n=196) e no grupo de pacientes controles (n=226). A tabela 02 mostra também um resumo dos dados estratificados.

No trabalho de Li Y *et al.*, (2004), verificou-se que o mRNA para IL-8, IL-1B, OAZ1, S100P, H3F3A e SAT foram expressos diferencialmente entre pacientes com CEC (n=32) e pacientes saudáveis (n=32). IL-8 mostrou expressão aumentada 24,3 vezes mais nos casos de CEC, sendo, de acordo com os autores, o melhor biomarcador para CEC.

Stott-Miller M *et al.*, (2012), detectaram através das técnicas de qPCR e ELISA que a presença de MMP1 foi de 6,2 vezes maior em pacientes com CEC quando comparados ao grupo controle. MMP-3 foi 14,8 vezes maior no grupo de pacientes com CEC quando comparados com o grupo saudável. O estudo de Franzmann *et al.*, (2012), através da técnica de ELISA, mostrou diferença na expressão de CD44 solúvel na saliva nos dois grupos do

estudo. Através da técnica de ELISA, Zhong *et al.*, (2007), mostraram que a proteína Cyfra 21-1 era maior no grupo com CEC do que no grupo controle ( $p = 0,048$ ). Jou *et al.*, (2011), encontraram, através da proteômico, que o peptídeo ZNF510 foi difundido diferencialmente entre a população diagnosticado com CEC ( $n = 47$ ) e o grupo controle ( $n=30$ ). O peptídeo mostrou níveis mais altos em amostras de saliva de pacientes com neoplasias T1 + T2 e T3 + T4, o qual foi maior do que nos pacientes controles, sendo essas diferenças estatisticamente significativas ( $p = 0,001$ ).

Quadro 1 - Trabalhos selecionados

Referencia	Tipo de população do estudo	Técnica utilizada para detecção
Elashoff, <i>et al.</i> , (2012)	Casos (n=169) e controles (n=26) 5 coorts independentes	Saliva não estimulada. O sobrenadante foi estocado com inibidor de protease. Foi analisado os mRNA (IL-8, IL-1B, SAT, OAZ1) e as proteínas (IL-8, M2BP, IL-1B).
Franzmann <i>et al.</i> ,(2012)	Casos (n=102) e controle (n=84).	Coleta de amostras por lavagem bucal com solução salina. A saliva foi armazenada a $\geq 80^{\circ}\text{C}$ até análise da proteína total e solCD44.
Jou <i>et al.</i> , (2011)	Análise Observacional: Pacientes com CEC (n=47) e pacientes saudáveis (n=30)	Expectoração da saliva, pré- enxágue da cavidade oral com solução salina. O sobrenadante foi armazenado com inibidor de protease. Análise de proteômica e ELISA.
Li <i>et al.</i> , (2014)	Análise observacional: Pacientes com CEC (n=32) e pacientes saudáveis 32.	Saliva não estimulada. Sobrenadante tratado com inibidor de RNase para análise molecular por Microarray e mRNA (IL-8, IL-1b, USP1, HA3, OAZ1, S100P e SAT).
Stott-Millet <i>et al.</i> , (2012)	Análise observacional: CEC (n=59) e saudáveis (n=25).	Saliva total, separação do sobrenadante para análise das proteínas MMP1 e MMP3.
Zhong <i>et al.</i> , (2014)	Análise observacional: CEC (n=30) e pacientes saudáveis (n=30)	Coleta de saliva foi realizada antes de instituir o tratamento para análise da proteína Cyfra 21-1.

Fonte: Elaborado pela autora.

Quadro 2 - Eficácia dos Biomarcadores salivares e métodos de detecção

Referencia	Biomarcador (tipo)	Nível de Expressão	Metodologia	Eficiência Diagnóstica
Elashoff D <i>et al.</i> , (2012)	mRNA para IL-8, SAT S100P, OAZ	Os biomarcadores IL-8 e SAT mostraram maior valor preditivo em 5 coortes.	RT-PCR, q PCR →IL-8, IL-1B e M2BP foram dosados com Kit de ELISA comercial	IL-8: Sensibilidade = 0,68; Especificidade = 0,64 IL-1B: Sensibilidade = 0,65; Especificidade = 0,60 SAT: Sensibilidade = 0,68; Especificidade = 0,63
Franzmann <i>et al.</i> (2012)	Proteína total e CD44 solúvel na saliva	CD44 (>14,56 ng/dL); proteína (>0,4325).	Kit comercial para ELISA e para proteína total.	Análise Bi variável: OR: 24,9; AUC 0,786; Sensibilidade = 68,6% e especificidade 74,4%.
Jou <i>et al.</i> , (2011)	Peptídeo ZNF510	T1+T2 (Abs = 405 nm: 0,368); T3+T4 (Abs= 0,445); Grupo Controle (Abs= 0,208) p=0,001	Elisa indireta e competitiva	T1+T2: AUC = 0,95; T3+T4: AUC = 0,98
Li <i>et al.</i> , (2014)	mRNA para IL-8, IL-1B, OAZ1, S100P, H3F3A e SAT	IL-8 foi expresso 24,3 vezes a mais que outros biomarcadores	qPCR	IL-8: AUC =0,85. IL-8+SAT+H3F3A: AUC=0,95; Sensibilidade = 90,6%; Especificidade 90,6%
Stott-Millet <i>et al.</i> , (2012)	mRNA e proteínas MMP-1 e MMP-3	MMP-1 foi 6,2 vezes mais expresso nos casos de CEC quando comparado com grupo controle (p<0,001)	qPCR. Proteínas salivares foram quantificadas por ELISA multiplex.	MMP-1: AUC=84,5%; MMP-3: AUC 87,66%
Zhong <i>et al.</i> , (2014)	Fragmentos da proteína Cyfra 21-1	CEC (85,9 µg/L); grupo controle (42,2 µg/L) p=0,048	Kit comercial para ELISA	Sensibilidade = 0,50; Especificidade = 0,86

Fonte: Elaborado pela autora.

## 4 DISCUSSÃO

O objetivo deste estudo foi estabelecer o potencial uso de saliva como biomarcador no diagnóstico precoce do CEC. Para alcançar o objetivo, realizamos uma revisão sistemática da literatura nas diferentes bases de dados.

Os estudos selecionados para essa revisão mostraram que o mRNA e as proteínas IL-8, CD44, MMP-1 e MMP-3 são os biomarcadores salivares mais encontrados nos CEC orais. A proteína ZNF510 foi a única como biomarcador que aumentou nos estágios T1+t2 e T3+t4 da doença.

Muitos estudos têm testado a IL-8 como biomarcador para a detecção de CEC, observando um aumento dos níveis dessa interleucina na saliva quando comparada com indivíduos que não apresentam o CEC. (ARELLANO-GARCIA *et al.*, 2008). Nestes estudos, a expressão da IL-8 não se correlaciona com a detecção precoce do câncer bucal. Estes os resultados são consistentes com o estudo de Elashoff *et al.* (2012), que mostraram que os níveis de IL-8 no nível de mRNA não estão associados com estágio tumoral (I – IV).

A IL-8 parece não ser um bom biomarcador para a avaliação da progressão da doença. No entanto, pode ser considerado um bom "marcador substituto" que mede aspectos da doença sem estar diretamente envolvido no processo da doença (BRINKMAN, WONG, 2006). Nesse sentido, foi recentemente demonstrado que IL-8 salivar poderia distinguir entre indivíduos saudáveis, aqueles com lesões potencialmente malignas e pacientes com CEC. (SANTIAGO *et al.*, 2016)

As metaloproteinases de matriz (MMP) têm sido usadas como alvos para uso como biomarcadores de CECs e foram associados a invasão tumoral e metástase (KURAHARA *et al.*, 1999). Níveis aumentados de mRNA de MMP-1 em saliva demonstrou diferenças entre pacientes com CEC quando comparados com pacientes saudáveis. No estudo de Stott-Miller *et al.*, (2012) foi observado que mRNA presentes nos tecidos tumorais e as proteínas MMP-1 e MMP-3 presentes na saliva estavam aumentados nos casos de CEC.

O CD44 é um receptor expresso na superfície do epitélio do trato aerodigestivo. Quando surge uma displasia, este receptor é expresso em todas as camadas do epitélio. Vários estudos têm avaliado o potencial do CD44 solúvel na saliva como biomarcador para CEC (FRANZMANN *et al.*, 2012; FRANZMANN *et al.*, 2005). Embora o CD44 seja um marcador tumoral, as evidências mais atuais não suportam seu uso como um biomarcador salivar para o diagnóstico precoce de CEC de cabeça e pescoço.

Novos biomarcadores como aqueles que pertencem família de proteínas (ZNF), como ZNF510 e Cyfra 21-1 estão sendo estudados. Este último é um fragmento solúvel da citoqueratina 19 (CK19), uma proteína do citoesqueleto, que se correlaciona bem com CEC. Zhong *et al.*, (2014) notaram uma boa correlação entre níveis de Cyfra 21-1 presentes na saliva e CK19 presentes no tecidos de CECs. As proteínas ZNF contêm domínios de ligação ao DNA e estão envolvidos com o crescimento celular, proliferação, diferenciação e apoptose. ZNF510 é uma proteína derivada de tumor inicialmente descrito na detecção precoce do câncer de mama (ANDERSON *et al.*, 2011). Apesar da frequência de expressão desses dois biomarcadores, os níveis evidenciados não demonstram sua capacidade de detecção precoce do CEC uma vez que sua presença é observada desde os primeiros estágios sintomáticos da doença (T1, T2) (ZHONG *et al.*, 2014; JOU *et al.*, 2011).

Atualmente, a saliva está sendo amplamente empregada para o diagnóstico e monitoramento dessas patologias, uma vez que é seguro, não invasivo e disponível (BRINKMAN, WONG, 2006). No entanto, deve ser usado com precaução porque é instável. Certos parâmetros, como a padronização do processo de congelamento, evitando a fragmentação de proteínas quanto o aumento do peptídeo entre as amostra coletada (BRINKMAN, WONG, 2006). Embora o uso de inibidores de protease reduz proteólise, alguma degradação de proteína ainda ocorre, demonstrando a complexidade deste fluido para análise de biomarcadores (BRINKMAN, WONG, 2006). As amostras de saliva devem ser centrifugadas e armazenadas sob condições de baixa temperatura. Alguns pesquisadores acreditam que armazenar as amostras a  $-80^{\circ}\text{C}$  não afeta a análise proteômica da saliva. Nos casos em que a presença de inibidores não é um fator crítico para biomarcadores detecção, recomenda-se a adição de inibidores de protease de origem bacteriana, a fim de evitar a degradação do potencial biomarcador devido à presença de bactérias relacionadas com a saúde e doença (BRINKMAN, WONG, 2006).

## **5 CONCLUSÃO**

Esta revisão sistemática demonstra que não há evidências científicas para apoiar o uso de biomarcadores salivares para diagnóstico precoce do CEC, embora os biomarcadores salivares possam ser empregados para distinguir entre pacientes saudáveis e câncer oral.

A grande maioria dos biomarcadores salivares identificados para este estudo está em desenvolvimento e portanto, não disponível para uso clínico.

Contudo, torna-se necessário que futuros estudos forneçam métodos de validação para o uso de biomarcadores que poderiam ser utilizados para a detecção precoce de Câncer.

## REFERÊNCIAS

- ANDERSON K, *et al.* Protein microarray signature of autoantibody biomarkers for the early detection of breast cancer. **J Proteome Res.**, Washington, v.10, n.1, p.85–96, Jan. 2011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3158028/>. Acesso em: 01 Oct. 2019
- APPLEBAUM E. *et al.* Oral Cancer knowledge, attitudes and practices: a survey of dentist and primary care physicians in Massachusetts. **J Am Dent Assoc.**, London, v. 140, n. 4, p. 461-462, Apr . 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0002817714620997?via%3Dihub>. Acesso em: 12 fev. 2018.
- ARELLANO-GARCIA ME, *et al.* Multiplexed immunobead-based assay for detection of oral cancer protein biomarkers in saliva. **Oral Dis**, Denmark, v.14, n.8, p.705–712, Nov. 2008. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2675698/> Acesso em: 01 Oct. 2019.
- BRINKMAN BM, WONG DT. Disease mechanism and biomarkers of oral squamous cell carcinoma. **Curr Opin Oncol**, United States, v.18, n.3, p.228–233, May. 2006.
- CHIMENOS-KUSTNER E, FONT-COSTA I, LÓPEZ-LÓPEZ J. Oral cancer risk and molecular markers. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal.**, Barcelona, v.9, n.5, p.77-80, nov. 2004. Disponível em: [http://www.medicinaoral.com/pubmed/medoralv9\\_i5\\_p381.pdf](http://www.medicinaoral.com/pubmed/medoralv9_i5_p381.pdf). Acesso em: 11 jun.2018
- DENNY P, *et al.* The proteomes of human parotid and submandibular/sublingual gland salivas collected as the ductal secretions. **J Proteome Res.**, United States, v.7, n.5, p.1994-2006, 25 mar. 2008. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2839126/> Acesso em: 23 apr.2018
- ELASHOFF D, *et al.* Prevalidation of salivary biomarkers for oral cancer detection. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**. Philadelphia, v.21, n.4, p.664–672, Apr. 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3319329/> Acesso em: 10 apr.2018
- FRANZMANN EJ, *et al.* Salivary soluble CD44: a potential molecular marker for head and neck cancer. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, United States, v.14, n.3, p.735–739, Mar. 2005. Disponível em: <https://cebp.aacrjournals.org/content/14/3/735.long> Acesso em: 01 Oct. 2019
- FRANZMANN EJ, *et al.* Salivary protein and solCD44 levels as a potential screening tool for early detection of head and neck squamous cell carcinoma. **Head Neck**, United States, v.34, n.5, p.687–695, may. 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3323768/> Acesso em: 15 apr. 2018
- HUMPHREY SP, WILLIAMSON RT. A review of saliva: normal composition, flow, and function. **J Prosthet Dent**, United States v.85, n.2, p.162-169, feb.2001. Disponível em: [https://www.thejpd.org/article/S0022-3913\(01\)54032-9/fulltext](https://www.thejpd.org/article/S0022-3913(01)54032-9/fulltext) Acesso em: 20 sep. 2019.

INCA. O que causa o câncer? . **Inca.gov.**, Brasília, DF, 24 out. 2018a. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/causas-e-prevencao/o-que-cao-causa-cancer> Acesso em: 16 fev. 2019.

INCA. Câncer de Boca. **Inca.gov.**, Brasília, DF, 2018b. Disponível em : <https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-de-boca> Acesso em: 16 fev. 2018.

INCA. Detecção Precoce. **Inca.gov.**, Brasília, DF, 2018c. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/controle-do-cancer-do-colo-do-utero/acoes-de-controle/deteccao-precoce> Acesso em: 16 de fevereiro de 2019.

JOU, Y. J. *et al.* Salivary zinc finger protein 510 peptide as a novel biomarker for detection of oral squamous cell carcinoma in early stages. **Clin Chim Acta**, Netherlands v.412, n. 15-16, p.1357–1365, 15 jul. 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0009898111001987?via%3Dihub> Acesso em: 5 sep. 2018.

KURAHARA S, *et al.* Expression of MMPS, MT-MMP, and TIMPs in squamous cell carcinoma of the oral cavity: correlations with tumor invasion and metastasis. **Head Neck**, United States, v.21, n.7, p.627–638, Oct. 1999.

LEITE ACE, DA SILVA EM, DE MELO NS. Fatores de risco relacionados com o desenvolvimento do câncer bucal: Revisão. **Rev. de Clín. Pesq. Odontol.**, Brasília: v. 1, n. 3, p. 31-36, Mar. 2015. Disponível em: [http://repositorio.unb.br/bitstream/10482/14934/1/ARTIGO\\_FatoresRiscoRelacionados.pdf](http://repositorio.unb.br/bitstream/10482/14934/1/ARTIGO_FatoresRiscoRelacionados.pdf) Acesso em: 14 fev. 2018.

LI Y, *et al.*, Salivary transcriptome diagnostics for oral cancer detection. **Clin Cancer Res**, United States, v.10, p.8442–50, dec. 2014. Disponível em: <https://clincancerres.aacrjournals.org/content/10/24/8442.long> Acesso em: 5 sep. 2018

OMS. Cancer burden rises to 18.1 million new cases and 9.6 million cancer deaths in 2018. Geneva, 12 sep. 2018. Disponível em: <https://www.who.int/cancer/PRGlobocanFinal.pdf> Acesso em: 11 sep. 2019

PFAFFE T, *et al.* Diagnostic potential of saliva: current state and future applications. **Clinical chemistry**. Washington, v.57, n.5, p.675-687, Apr. 2011. Disponível em: <http://clinchem.aaccjnl.org/content/57/5/675.short> Acesso em: 20 fev. 2018

RAHIM MAA, *et al.* Can Saliva Proteins Be Used to Predict the Onset of Acute Myocardial Infarction among High-Risk Patients? **Int. J. Med. Sci.**, Australia, v.12, n.4, p.329-335, Apr. 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4402436/> Acesso em: 20 fev. 2018

SANTIAGO JFJ, *et al.* Platform-switching implants and bone preservation: a systematic review and meta-analysis. **Int J Oral Maxillofac Surg.**, Denmark, v.45, n.3, p.332-345, Mar. 2016.

STOTT-MILLER M, *et al.* Tumor and salivary matrix metalloproteinase levels are strong diagnostic markers of oral squamous cell carcinoma. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, United States, v.20, n.12, p.2628–36, 1 dec. 2012. Disponível em: Acesso em: 5 sep. 2018

SCULLY C, PORTER S. Oral cancer **ABC of oral health BMJ.**, London: v. 321 n. 7260, p. 97-100, Jul. 2000. Disponível em:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1127769/> Acesso em: 14 fev. 2018.

SOO-QUEE KOH D, CHOON-HUAT KOH G. The use of salivary biomarkers in occupational and environmental medicine. **Occupational and environmental medicine.** Australia,: v.64, n.3, p.202-210, mar. 2007. Disponível em:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2092532/> Acesso em: 5 jun.2018

SPIELMANN N, WONG D. Saliva: diagnostics and therapeutic perspectives. **Oral diseases.**, Denmark, v. 17, n. 4, p. 345-354, May. 2011. Disponível em:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3056919/> Acesso em:16 fev. 2018.

ZHANG A, *et al.* Salivary proteomics in biomedical research. **Clinica Chimica Acta.**, Netherlands, v.415, p.261-265, 16 jan. 2013. Disponível em:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0009898112005190?via%3Dihub>  
Acesso em: 20 apr. 2018

ZHONG LP, *et al.* Increased Cyfra 21-1 concentration in saliva from primary oral squamous cell carcinoma patients. **Arch Oral Biol**, England, v.52, n.11, p.1079–87, nov. 2014. Disponível em:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003996907001379?via%3Dihub> Acesso em: 5 sep.2018