

MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO DO CÂNCER ORAL: Enfoque nos biomarcadores salivares e o que esperar de um cenário futuro

Letícia Mota Garcia Morilla¹; Isadora Prado Cano^{2*}

¹ Cirurgiã-dentista – FITL/AEMS; ² Cirurgiã-Dentista – USP, doutora em Reabilitação Oral – FOB/USP, esp. em Prótese Dentária – HRAC/USP, docente das Faculdades Integradas de Três Lagoas – FITL/AEMS.

* autor correspondente: isadoracano@gmail.com

RESUMO

Novos métodos de diagnóstico e padrões de análises de doenças são pesquisados em prol do diagnóstico precoce e, sobretudo, da melhoria da qualidade de vida da população. O câncer da cavidade oral ocupa, atualmente, a oitava posição no ranking de tipos de cânceres mais frequente. Estudos revelam que biomarcadores encontrados na saliva podem auxiliar no reconhecimento desta patologia. A busca por meios de diagnósticos primários, padrões de investigação e monitoramento de patologias bucais, como o câncer bucal, juntamente com a necessidade de capacitação de profissionais da saúde, exercem papel importante desde o auxílio em processos de diagnose e pesquisas epidemiológicas, até uma abertura para potenciais ferramentas diagnósticas futuras. Há um caminho de estudos, focado na padronização e automatização de procedimentos de coleta, porém é imprescindível salientar que a análise da saliva, ainda que pouco utilizada no dia a dia pelo seu custo e necessidade de validação, tem chances de aprimoramento por se tratar de um procedimento não invasivo, de coleta rápida e indolor, de fácil armazenamento e transporte.

PALAVRAS-CHAVE: biomarcadores de câncer; biópsia líquida; saliva; carcinoma espinocelular; carcinoma escamoso.

1 INTRODUÇÃO

O carcinoma de células escamosas, um dos tipos de câncer bucal, pode desenvolver-se em diferentes partes da cavidade oral, como lábios, gengivas, língua, mucosa jugal, mucosa labial, palato duro e assoalho da boca, apresentando diferentes manifestações e sintomas dependendo do local afetado (NEVILLE et al., 2009).

Os principais fatores de risco extrínsecos incluem o uso do tabaco, consumo excessivo de álcool, exposição prolongada ao sol sem proteção nos lábios, enquanto o destaque entre os fatores intrínsecos é a imunossupressão (HOWARD; AGRAWAL; GOOI, 2021; NEVILLE et al., 2009).

Segundo a União Internacional para o Controle do Câncer, a classificação do câncer bucal se divide em

estágios, de acordo com a sua extensão. É importante ressaltar que essa classificação é baseada na dimensão do tumor e na sua localização, tipo histológico, grau de diferenciação celular e presença de metástases (BRASIL, 2004). A partir dessa classificação, a conduta clínica quanto ao tratamento, até o desenvolvimento de pesquisas podem ser definidos (HOWARD; AGRAWAL; GOOI, 2021).

Atualmente, o câncer da cavidade oral ocupa a oitava posição no *ranking* de tipos de cânceres mais frequentes, e os homens são mais afetados que as mulheres (INCA, 2022). No período de 2020, no Brasil, ocorrem mais de 6.100 óbitos por essa doença (BRASIL, 2022; INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA), 2020). Mesmo que se trata de um dos menores índices entre as regiões brasileiras, quando comparada a outros tipos de neoplasias, ainda há casos consideráveis (INCA, 2022).

Quanto ao diagnóstico das lesões, pesquisas recentes evidenciam variações nos valores de mortalidade, incidência e o tempo entre o diagnóstico e o início do tratamento entre diversas regiões brasileiras. Atualmente, há uma tendência crescente de diagnóstico entre regiões do país, principalmente no Sudeste e Sul do Brasil. Entre 2018 e 2019, verifica-se que o período entre o diagnóstico e o início do tratamento é superior a 60 dias em regiões como Norte, Nordeste e Sudeste, dados esses que agravam o prognóstico (INCA, 2020). Por isso, novos métodos de diagnóstico nas fases iniciais da doença estão sendo pesquisados e desenvolvidos para trazer maior celeridade ao tratamento com aumento da expectativa de vida desses pacientes. De forma didática, as fases de diagnóstico são divididas em três etapas, triagem, diagnóstico clínico e diagnóstico patológico (WARNAKULASURIYA; KERR, 2020).

A triagem é uma etapa importante para a identificação precoce da doença

em pessoas que não apresentam sintomas ou lesões visíveis na boca; pode ser realizada também por meio do auto-exame da boca (Figura 1; WARNAKULASURIYA; KERR, 2020).

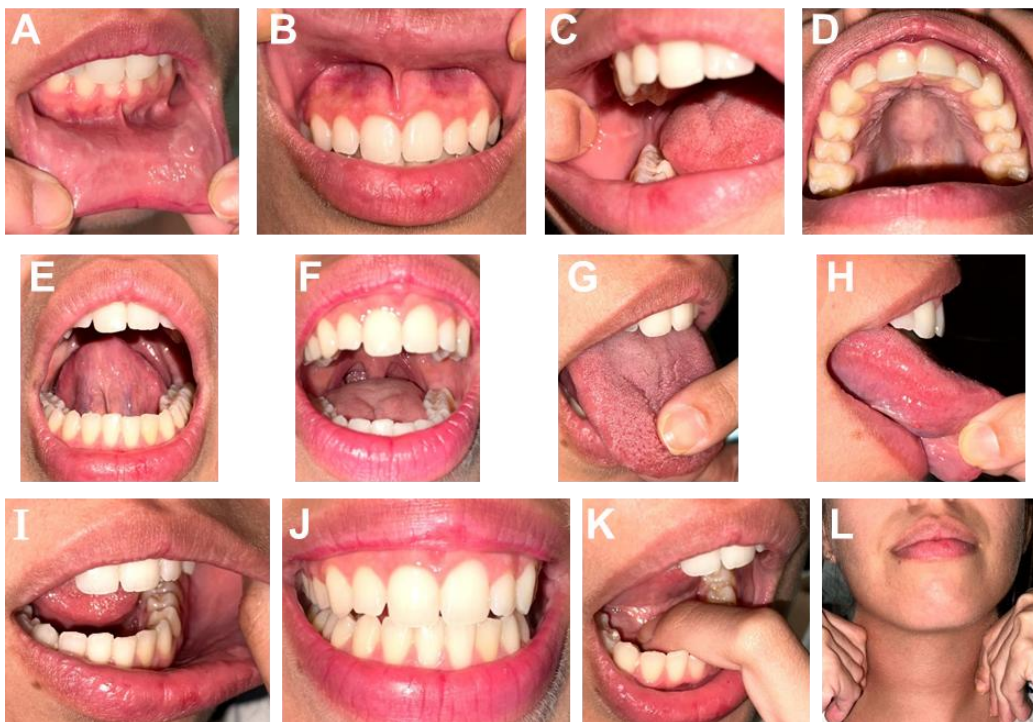
A investigação clínica é realizada por meio da avaliação das lesões orais e complementada por exames de imagem, sangue ou saliva. Já o patológico é realizado por meio da análise de biópsias, para confirmar o diagnóstico de câncer bucal e determinar o tipo e a extensão da doença (WARNAKULASURIYA; KERR, 2020). Qualquer lesão ulcerativa que não se cicatrize dentro do tempo esperado, nos lábios ou na cavidade bucal, deve ser direcionada para análise histopatológica (HOWARD; AGRAWAL; GOOI, 2021).

Atualmente, o padrão ouro mais aceito para a detecção de neoplasias é a biópsia, porém os estudos sobre biomarcadores abrem um novo horizonte (RAPADO-GONZÁLEZ et al., 2019).

Os biomarcadores, presentes na saliva, surgem como uma proposta de auxílio semelhante à triagem, como meio de identificação de oncogenes (genes promotores de neoplasia) antes mesmo dos sintomas surgirem (WARNAKULASURIYA; KERR, 2020).

Outro fator está ligado à compreensão dos papéis dos componentes orgânicos da saliva, um dogma central para o estudo dos biomarcadores. Conhece-se as funções básicas da saliva, como lubrificação, reservatório de íons, ações antimicrobianas, formação de película protetora, digestão, balanço hídrico e excreção (EDGAR; DAWES; O'MULLANE, 2012). No entanto, atualmente, algumas reflexões adicionais sobre a importância da saliva para além de seus efeitos locais são estudadas. Pois além de apresentar papel significativo para o correto funcionamento do sistema estomatognático, também se caracteriza por um fluido fomentador do diagnóstico de inúmeras doenças e evolução das mesmas (CASTAGNOLA et al., 2017).

Figura 1. Sequência (A→L) dos locais a serem examinados no autoexame bucal. A. Lábios. B. Gengiva frente. C. Bochecha. D. Céu da boca. E. Embaixo da língua. F. Garganta. G. Apalpação da língua. H. Lateral da língua. I. Lateral da bochecha. J. Dentes. K. Assoalho. L. Pescoço.



Fonte: Elaborado pelos autores.

O objetivo deste trabalho é descrever a relevância dos biomarcadores salivares detectados no diagnóstico precoce/triagem de câncer bucal, tais como (i) citocinas utilizadas como base de estudo, (ii) benefícios e barreiras na capacitação profissional e no uso dos marcadores e (iii) suas implicações em pesquisas futuras.

Este estudo baseou-se em uma revisão da literatura recente, de artigos publicados em um intervalo dos últimos 20 anos, ou artigos de relevância histórica, nas principais bases de dados (SciELO, PUBMED, Google acadêmico) com a utilização das palavras-chave câncer oral, biomarcadores de câncer, biópsia líquida, saliva, marcadores biológicos, carcinoma espinocelular e carcinoma escamoso.

2 SALIVA

Entre as funções da saliva, pode-se citar lubrificação, reserva de íons, ações

antimicrobianas, formação de película protetora, digestão, balanço hídrico e excreção (CASTAGNOLA et al., 2017). A saliva pode não só auxiliar a estabilizar, proteger e transportar nutrientes, como pode por meio dos biomarcadores, indicar marcadores em excesso e auxiliar no diagnóstico prévio de patologias (FIGUEIRA et al., 2016).

A composição da saliva total é afetada por diversos fatores, como a análise entre as diferentes glândulas salivares, vazão, duração da estimulação, natureza do estímulo e ritmos circadianos (EDGAR; DAWES; O'MULLANE, 2012).

Nos últimos tempos, tem havido um crescente interesse e apoio à utilização da saliva como um diagnóstico fluido, para o rastreamento de condições bucais e o risco de condições patológicas, como cárie, doenças periodontais ou câncer bucal como também para outras condições sistêmicas, como câncer de mama e pâncreas (EDGAR; DAWES; O'MULLANE, 2012).

3 MARCADORES BIOLÓGICOS

Em 1848, Henri Bence-Jones marca a história ao publicar um artigo sobre a presença de proteínas anormais na urina de pessoas com mieloma múltiplo, precedendo o estudo dos atuais marcadores tumorais (JONES, 1848). Já na década de 60 do século XIX, a medicina assiste a uma grande evolução devido ao desenvolvimento do conhecimento a nível celular, molecular e bioquímico e fornece estrutura para pesquisas atuais nesses ramos (MERRIL, 2010).

Os biomarcadores são definidos como alterações celulares, bioquímicas e/ou moleculares mensuráveis em matrizes biológicas, sejam células, fluidos humanos, ou tecidos (HULKA et al., 1991). Esta definição é complementada pela adição do conceito de que biomarcadores são moléculas encontradas no sangue e fluidos, que servem de parâmetro para a análise de uma condição normal ou doença presente no organismo (GARDNER; CARPENTER; SO, 2020). Essas moléculas podem ser secretadas por um tumor e se alojarem na saliva e facilitar sua descoberta precoce por meio da coleta desse líquido (LEE; GARON; WONG, 2009).

Segundo Kaur et al. (2018), uma ferramenta de rastreio para aprimorar a identificação precoce e a precisão no diagnóstico de lesões precursoras e de câncer oral está na utilização de biomarcadores (ou marcadores biológicos). Estes têm a capacidade de analisar a predisposição individual e o prognóstico da doença. No entanto, devido ao fato de que alguns biomarcadores encontrados na saliva não serem exclusivos de uma única condição, é essencial contemplar uma combinação de múltiplos biomarcadores em dosagem específica para obter um diagnóstico mais específico (RODRÍGUEZ et al., 2020). A facilidade do método de obtenção dos biomarcadores e o estudo de sua especificidade, tornam-na uma ferramenta clínica crucial como

meio de diagnóstico (PEREIRA DE LIMA et al., 2020).

3.1 Identificação dos biomarcadores salivares

A realização de uma biópsia cirúrgica pode ser de difícil execução em tumores situados em local de difícil acesso, como o câncer de faringe. Uma alternativa de acesso a essas regiões é realizar a biópsia líquida que, nesses casos, tem o poder de fornecer informações imunológicas e bioquímicas da região tumoral de modo menos invasivo e com a possibilidade de repetição do exame, caso necessário acompanhamento (IZZOTTI et al., 2016).

A biópsia líquida pode ser realizada por meio de fluidos corporais, como a saliva, urina ou sangue e permitir a análise de fragmentos de DNA tumoral livre circulante (ctDNA), células tumorais circulantes (CTCs), micro-RNA circulante (MiRNA) e microvesículas extracelulares (exossomos), liberados por células tumorais (CASTRO-GINER et al., 2018).

Componentes presentes na saliva, como DNAs, RNAs, metabólitos, proteínas e microbiota apresentam alterações de concentração na presença de neoplasias malignas locais. Por meio da biópsia líquida, esses componentes são utilizados como biomarcadores que podem detectar o câncer em estágio inicial e a título de verificação de resposta ao tratamento (LEE; GARON; WONG, 2009).

Como meio de demonstrar que esses dados podem auxiliar quanto ao prognóstico do tratamento (positivo ou negativo), há relatos de amostras de saliva com um aumento considerável no receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR), coletadas 6 meses após a cirurgia em comparação com os dados pré-cirúrgicos (BERNARDES et al., 2010). Isso demonstra a possibilidade do envolvimento dos biomarcadores em estudos longitudinais.

Atualmente, há tecnologias distintas que estudam diversas moléculas

encontradas na saliva, a “salivaômica”. Os níveis salivares de biomarcadores alteram de acordo com a presença de doenças orais, porém muitas vezes não são específicos para apenas uma determinada patologia, então é necessária a continuidade de pesquisas e avaliação de diferentes marcadores (WONG, 2012).

No diagnóstico do carcinoma espinocelular oral, as interleucinas (IL)-10 (AZIZ; AHMED; ALI et al., 2015), (IL)-6, (IL)-8 e o fator de necrose tumoral (TNF)- α (DEEPTHI; NANDAN; KULKARNI, 2019), estão presentes em maiores concentrações diante o exame salivar. Essas citocinas estão intimamente ligadas à resposta pró-inflamatória sistêmica, e quando produzidas em excesso, podem manifestar-se como um distúrbio, favorecer a invasão do tumor, crescimento e proliferação celular e promover lesões cancerígenas (DEEPTHI; NANDAN; KULKARNI, 2019).

As citocinas têm um papel fundamental no sistema imunológico, assim como na regulação da resposta inflamatória, pois influencia no equilíbrio e homeostase do organismo. Elas têm a capacidade de afetar várias funções das células imunológicas, incluindo sua atividade (o modo como funcionam), diferenciação (o processo de se tornarem células especializadas), a reprodução celular e o tempo de vida das células (DRANOFF, 2004; CURFS; MEIS; HOO-GKAMP, 1997).

A citocina pode ser classificada em dois grupos principais, pró-inflamatórias e anti-inflamatórias. As primeiras são responsáveis por acelerar o processo inflamatório com o intuito de lidar com infecções e as anti-inflamatórias atenuam a resposta inflamatória ao auxiliar no controle da inflamação para prevenir danos excessivos no tecido (DRANOFF, 2004).

A IL-10 é uma molécula composta por cadeias de aminoácidos que pode afetar diversas vias biológicas e

influenciar no comportamento de células cancerígenas e supressão da atividade do sistema imunológico ao promover a proliferação ou inibição dessas células. Isso é relevante no contexto do câncer, pois auxilia as células tumorais a evitar a detecção e destruição pelo sistema imunológico; podem ser encontradas em excesso na presença do carcinoma de células escamosas (AZIZ et al., 2015).

Um estudo realizado por Katakura et al. (2007) mostra que na saliva de pacientes com câncer são descobertas expressões de IL-6, enquanto no grupo sem câncer não é encontrado. A IL-6 estimula a produção de neutrófilos e a síntese de proteínas de fase aguda, ou seja, tem o papel de desencadear respostas inflamatórias quando o organismo é exposto a infecções/lesões.

Assim como a citocina IL-6, a IL-8 tem um papel na atração e ativação de células imunológicas, pode ser produzida em resposta a inflamação crônica no microambiente tumoral, e seus níveis são ressaltados quando comparados a um grupo sem neoplasias malignas (KATAKURA et al., 2007).

Em situações de alterações no corpo (traumas, infecções ou cirurgias) são desencadeadas respostas inflamatórias no organismo e o fator de necrose tumoral (TNF) se destaca por um papel importante na detecção de patógenos e por ser umas das primeiras citocinas a serem liberadas, e tem relação com sua elevação diante uma molécula tumoral (CURFS; MEIS; HOO-GKAMP, 1997).

Níveis elevados de TNF é um prognóstico mais desfavorável em pacientes com câncer, pois quando presente em altos níveis podem produzir moléculas reativas de oxigênio que podem causar alterações na sequência de DNA, incluindo a progressão do câncer (TANNO; MATSUI, 2011). Seguindo essa tendência, estudos de níveis de cortisol salivar são avaliados. Nos pacientes com carcinoma de células escamosas, observa-se que o nível médio de cortisol salivar é

cerca de 2× superior ao do grupo sem câncer e amplia o campo de estudo dos marcadores salivares (BERNABÉ et al., 2012).

Há vários marcadores tumorais diferentes para um determinado tipo de câncer devido a alteração das sinalizações celulares (capacidade de percepção e resposta da célula) pelo tumor, pois ocasiona liberação de diferentes produtos que podem ser utilizados como biomarcadores (NAOUM; NAOUM, 2018).

Atualmente, tem havido muito interesse na investigação de alterações no microbioma e sua associação com diferentes estágios de desenvolvimento do câncer, pelo uso dados metatranscriptômicos (estudo dos genes e expressões gênicas por meio da análise do RNA dos micro-organismos) (BANAVAR et al., 2021).

A empresa de biotecnologia americana Viome tem realizado estudos e publicações sobre o uso de biomarcadores microbianos associados ao câncer bucal. São avaliados classificadores de aprendizado de tecnologia IA (inteligência artificial) pelo uso de amostras de saliva de grupos controles normais, com doenças pré-malignas orais e pacientes com câncer oral. O estudo avalia se a abordagem estudada realmente funcionaria, por meio de testes de sensibilidade e especificidade de pacientes de alto risco, ou seja, são selecionados para essa triagem pacientes com 50 anos ou mais/ou histórico de tabagismo e pacientes com doenças orais pré-malignas com o intuito de descobrir marcadores tumorais/classificadores de risco específicos para o câncer oral e treinar uma máquina para reconhecê-las. Também avaliam, em uma população de baixo risco, se fatores de interferência externos, como mascar chiclete/tabaco ou escovar os dentes, influencia na análise salivar. Porém, é comprovado que essa teoria não é sustentada, pois não há mudanças na análise com base na presença de uma

substância interferente ou no gênero do paciente avaliado. Em conclusão, o estudo mostra que o classificador de diagnóstico de IA é eficaz na identificação de pacientes com alto risco de desenvolver câncer oral, mesmo quando apresenta somente lesões pré-malignas. Com uma sensibilidade de 83% (sendo 92,3% para câncer em estágio 1) e especificidade de 97,9%, demonstra a utilidade de um modelo de IA diante o diagnóstico precoce e contribuição dos estudos sobre funções microbianas e abre espaço para uma nova era de diagnósticos não invasivos (BANAVAR et al., 2021).

A sensibilidade é definida pela capacidade de detecção precoce de um tumor e identificação das alterações causadas por ele, ou seja, quanto mais sensível, menos resultados falso-negativos. Já a especificidade se caracteriza pela capacidade de mostrar-se negativo diante de um determinado tipo de tumor (NAOUM; NAOUM, 2018). Desse modo, a sua nova descoberta é incluída no mercado; o primeiro teste salivar caseiro para detectar biomarcadores associados ao câncer oral e de garganta ainda em estágio inicial, chamado CancerDetect™ – Oral & Throat. Porém, mesmo revolucionando o mercado e sendo designado como dispositivo inovador para revisão acelerada pela *Food and Drug Administration* (FDA), ainda não é aprovado pelo Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos da América (BANAVAR et al., 2023).

4 CAPACITAÇÃO DE PROFISSIONAIS, BENEFÍCIOS E BARREIRAS

Em virtude da necessidade de uma adequação de triagem, detecção em estágios iniciais e monitoramento do câncer, outra questão necessita de muita atenção, a capacitação dos profissionais de saúde. O rastreamento de pacientes com perfil de risco e a padronização da coleta de saliva são um ponto de partida essencial para a utilização desse tipo de

exame (WARNAKULASURIYA; KERR, 2020).

A Figura 2 evidencia um exemplo de carcinoma espinocelular oral em mucosa bucal direita de paciente com 50 anos, sexo feminino. Como a lesão é assintomática, a paciente não procura precocemente consulta médica e o câncer é diagnosticado em consulta regular de *check-up*. Isso evidencia a importância da aptidão profissional em reconhecer lesões benignas, devido à tendência do tumor se espalhar (WONG et al., 2017). Portanto, os cirurgiões-dentistas desempenham papel importante na detecção precoce de condições malignas e pré-malignas e devem examinar todos os pacientes em risco (TOMO et al., 2015).

Figura 2. Carcinoma espinocelular oral.



Fonte: Extraído de Wong et al., 2017.

De fato, o diagnóstico precoce de tumores malignos pode beneficiar a recuperação da qualidade de vida, com prognóstico mais favorável pelo tratamento inicial da doença (HOWARD; AGRAWAL; GOOI, 2021). Em países de média e baixa renda, com recursos limitados, a triagem de câncer oral pode contar com profissionais de saúde primários (DOWNER et al., 2004). Essa triagem pode ser utilizada em redes privadas e na rede pública; quando implementada na saúde pública, investimentos em treinamentos de capacitação e calibração para o reconhecimento dessas patologias podem colaborar com o rastreamento do câncer bucal em consultas iniciais com boa precisão, no

caminho de uma aptidão similar ao de um especialista (WARNAKULASURIYA; KERR, 2020). No entanto, há diferenças na mão de obra empregada e no desafio de habilitar os rastreadores a distinguir entre condições bucais benignas ou malignas, que podem muitas vezes serem semelhantes. Deste modo, necessita-se supervisão, treinamentos contínuos e compensação adequada de acordo com suas novas funções (HELLER et al., 2019). Convênios com laboratórios de análises clínicas que também trabalham com métodos de coleta salivar, podem auxiliar na detecção precoce de câncer, identificação de determinantes genéticos para terapia mais direcionada, monitoramento da doença residual ou avaliação da evolução da resistência e até mesmo estudos sobre a heterogeneidade molecular da doença (DIAZ; JR; BARDELLI, 2014).

5 CENÁRIO FUTURO

A análise da saliva, ainda que pouco utilizada atualmente pelo seu custo e necessidade de validação, tem chances de crescimento por se tratar de um procedimento não invasivo, de coleta rápida e indolor, de fácil armazenamento e transporte, além de ser adequada para pesquisas epidemiológicas. Da mesma forma, é uma excelente opção para crianças e idosos, bem como em situações em que a coleta convencional apresenta desafios; outra vantagem notável é a dispensa de jejum para a biópsia líquida (BUCZKO; ZALEWSKA; SZARMACH, 2015).

Há testes que permitem a identificação no tecido tumoral de variantes de sensibilidade ou resistência ao tratamento, de acordo com o tumor avaliado. Assim, pode-se relacionar as características genéticas com a condição clínica, juntamente com o médico, e proporcionar tratamento adequado e indicação de medicamentos que podem auxiliar na terapêutica. Porém, infelizmente esses

testes são mais voltados para câncer de mama, próstata, gastrointestinal ou pulmonar, e mais estudos com enfoque no câncer bucal são necessários (FLEURY GENÔMICA, 2021).

O estudo de biomarcadores salivares é promissor, pois possibilita diagnosticar carcinomas orais de modo não invasivo, a fim de obter dados consistentes como as biópsias ou amostras de sangue. No entanto, é importante aprimorar sua sensibilidade e especificidade para torná-lo um método de diagnóstico precoce e acessível a fim de melhorar a sobrevivência da doença. Há um caminho de estudos futuros, com padronização e automatização de procedimentos de coleta, assim como a busca do uso de biomarcadores em ferramentas mais sofisticadas (LIN; CALVANO; LOWRY, 2000).

Figura 3. Finalidade dos marcadores biológicos encontrados na saliva.



Fonte: Elaborado pelos autores.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A importância dos biomarcadores salivares na detecção precoce do câncer bucal e a necessidade de aprimoramento contínuo dos métodos de diagnóstico são enfatizadas ao longo do artigo. O diagnóstico precoce não só contribui para a melhoria da qualidade de vida, mas também aumenta as chances de prognóstico favorável devido ao tratamento inicial da doença. Consequentemente, estão sendo investigados e desenvolvidos novos métodos de diagnóstico nas fases iniciais da doença para agilizar o tratamento e aumentar a expectativa de vida dos pacientes.

Justifica-se a utilização do material salivar pelo fato dos marcadores tumorais serem liberados próximos ao tumor e em sequência entrarem em contato com os fluidos corporais. Ao mesmo tempo, é importante destacar que a análise da saliva, embora subutilizada em situações cotidianas devido ao seu custo e a necessidade de validação, apresenta potencial para expansão devido à sua natureza não invasiva, facilidade de coleta rápida e indolor, simplicidade no armazenamento e transporte, além de ser adequado para fins de pesquisas epidemiológicas futuras.

Com maior divulgação sobre a questão estudada nesse artigo, consequentemente possibilita a implantação de mais laboratórios especializados em análise salivar. Pois na área da saúde, esse assunto sobre biomarcadores na saliva ainda é pouco difundido.

Há um horizonte de investigações futuras que incluem a padronização e automatização dos procedimentos de coleta, bem como a exploração do potencial de biomarcadores em ferramentas mais avançadas.

REFERÊNCIAS

AZIZ, S. et al. As citocinas imunossupressoras salivares IL-10 e IL-13 estão

significativamente elevadas em pacientes com carcinoma epidermóide oral. *Câncer Investir*, n. 33, p. 318-328, 2015.

BANAVAR G. et al. Detecting salivary host and microbiome RNA signature for aiding diagnosis of oral and throat cancer. *Oral Oncol.* 2023 Oct;145:106480. doi: 10.1016/j.oraloncol.2023.106480. Epub 2023 Jul 14. PMID: 37454545.

BANAVAR G. et al. The salivary metatranscriptome as an accurate diagnostic indicator of oral cancer. *NPJ Genom Med.* v. 8, n. 6, n. 5, p. 105, dez. 2021. doi: 10.1038/s41525-021-00257-x. PMID: 34880265; PMCID: PMC8654845.

BERNABÉ, D. G. et al. Aumento dos níveis de cortisol plasmático e salivar em pacientes com câncer bucal e sua associação com o estágio clínico. *J Clin Pathol*, n. 65, p. 934-939, 2012.

BERNARDES V.F. et al. Significado clínico de EGFR, Her-2 e EGF no carcinoma epidermóide oral: um estudo caso-controle. *J Exp Clin Cancer Res*, n. 29, p. 40, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. TNM: classificação de tumores malignos / traduzido por Ana Lúcia Amaral Eisenberg. 6. ed. - Rio de Janeiro: INCA, p. 254, 2004.

BUCZKO, P.; ZALEWSKA, A.; SZARMACH, I. Saliva and oxidative stress in oral cavity and in some systemic disorders. *J Physiol Pharmacol.*, v. 66, p. 3-9, 2012.

CALAZANS, M. Dia Mundial de Combate ao Câncer: Qual reflexo da pandemia no diagnóstico tardio do câncer bucal?. *In: CFO. CRO-SE*, 4 fev. 2021. Disponível em: <[https://crose.org.br/noticia/362/dia-](https://crose.org.br/noticia/362/dia-mundial-de-combate-ao-cancer-qual-reflexo-da-pandemia-no-diagnostico-tardio-do-cancer-bucal)

[mundial-de-combate-ao-cancer-qual-reflexo-da-pandemia-no-diagnostico-tardio-do-cancer-bucal](#)>. Acesso em: 20 out. 2023.

CASTAGNOLA, M. et al. Salivary biomarkers and proteomics: future diagnostic and clinical utilities. *Acta Otorhinolaryngol Ital.* n. 37, n. 2, p. 94-101, abr. 2017. doi: 10.14639/0392-100X-1598. PMID: 28516971; PMCID: PMC5463528.

CASTRO-GINER, F. et al. Cancer Diagnosis Using a Liquid Biopsy: Challenges and Expectations. *Diagnostics.* v. 8, n. 2, p. 31, 2018. doi: 10.3390/diagnostics8020031.

CURFS, J. H.; MEIS, J. F.; HOOGKAMP-KORSTANJE J. A. A primer on cytokines: sources, receptors, effects, and inducers. *Clin Microbiol Rev.* v. 10, n. 4, p. 742-780, out. 1997. doi: 10.1128/CMR.10.4.742.

DEEPTHI, G.; NANDAN, S. R. K.; KULKARNI, P. G. Salivary Tumour Necrosis Factor α as a Biomarker in Oral Leukoplakia and Oral Squamous Cell Carcinoma. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* v. 20, p. 2087-2093, 2019. doi: 10.31557/APJCP.2019.20.7.2087.

DIAZ, L. A JR; BARDELLI, A. Liquid biopsies: genotyping circulating tumor DNA. *J Clin Oncol.* v. 32, p. 579-86, 2014.

DOWNER, M. C. et al. Uma revisão sistemática de desempenho do teste na triagem de câncer oral e pré-câncer. *Oral Oncol*, v 40, n. 3, p.264-273, 2004.

DRANOFF, G. Cytokines in cancer pathogenesis and cancer therapy. *Nat Rev Cancer*, v. 4, n. 1, p. 11-22, jan. 2004. doi: 10.1038/nrc1252. PMID: 14708024.

EDGAR, M.; DAWES, C.; O'MULLANE,

D. Saliva and oral health, 4th edition. p. 1-37, 115-131, *Br Dent J* 214, 425, 2012.

FIGUEIRA, J. et al. NMR analysis of the human saliva metabolome distinguishes dementia patients from matched controls. *Mol Biosyst.*, v. 12, n. 8, p. 2562-2571, jul. 2016. doi: 10.1039/c6mb00233a.

FLEURY GENÔMICA. Minipainel tumoral. [S. l.], 2021. Disponível em: <<https://www.fleurygenomica.com.br/exames/minipainel-tumoral/>>. Acesso em: 27 out. 2023.

GARDNER, A.; CARPENTER, G.; SO, P. W. Salivary metabolomics: From diagnostic biomarker discovery to investigating biological function. *Metabolites*, v. 10, n. 2, p. 47, jan. 2020. doi: 10.3390/metabo10020047.

HELLER et al. Avaliação de barreiras e facilitadores para a prestação de cuidados para doenças não transmissíveis por profissionais de saúde não médicos em países de baixa e média renda: uma revisão sistemática e análise qualitativa. *Jama Netw Open*. v. 2, n. 12, 2019.

HOWARD, A.; AGRAWAL, N.; GOOI, Z. Lip and Oral Cavity Squamous Cell Carcinoma. *Hematol Oncol Clin North Am*. n. 35, n. 5, p. 895-911, out. 2021. doi: 10.1016/j.hoc.2021.05.003. Epub 2021 Jul 14. PMID: 34274176.

HULKA, B. S. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. v. 1, n. 13, 1991.

IZZOTTI, A. et al. Extracellular MicroRNA in liquid biopsy: applicability in cancer diagnosis and prevention. *Am J Cancer Res*. n. 6, n. 7, p. 1461-93, jul. 2016. PMID: 27508091; PMCID: PMC4969398.

JONES, H. B. On a new substance occurring in the urine of a patient with

mollities ossium. *Philosophical Transactions of the Royal Society*, V. 138, p. 56-62, 1848.

KATAKURA, A. et al. Comparison of salivary cytokine levels in oral cancer patients and healthy subjects. *The Bulletin of Tokyo Dental College*. v. 48, p. 199-203, dez. 2007. doi: 10.2209/tdcpubliation.48.199.

KAUR, J. et al. Salivary biomarkers for oral cancer and pre-cancer screening: a review. *Clin Oral Investig*. v. 22, n. 2, p. 633-640. doi: 10.1007/s00784-018-2337-x. Epub 2018 Jan 17. PMID: 29344805.

LEE, J. M.; GARON, E.; WONG, D. T. Diagnóstico salivar. *Orthod Craniofac Res*, v. 12, p. 206-211, 2009.

LIN, E.; CALVANO, S. E.; LOWRY, S. F. Inflammatory cytokines and cell response in surgery. *Surgery*, 2000.

MERRIL, R. Introduction to Epidemiology (5th ed.). Sudbury MA, USA: Jones and Bartlett Publishers, 2010.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Intervalo de tempo entre o diagnóstico e o início do tratamento oncológico dos casos de câncer de lábio e cavidade oral: Painel Oncologia. 2020. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//relatoriocancer-de-boca-2020.pdf>>. Acesso em: 27 mar. 2023.

NAOUM, P. C.; NAOUM, F. A. Marcadores tumorais: uma revisão até 2018. Academia de Ciência e Tecnologia, 2018.

NEVILLE, B. et al. Patologia epitelial in Patologia oral & maxilofacial /Rio de Janeiro: Elsevier, p. 919, 2009.

PEREIRA DE LIMA et al. Biomarcadores salivares no diagnóstico e no

monitoramento de patologias orais e sistêmicas. *Revista Cubana de Estomatologia*. n. 57, n. 1, p. 1-15, 2020. ISSN: 0034-7507.

RAPADO GONZÁLEZ O. et al. Cell-Free microRNAs as Potential Oral Cancer Biomarkers: From Diagnosis to Therapy. *Cells*, v. 8, n. 12, p.1653, dez 2019. doi: 10.3390/cells8121653. PMID: 31861130; PMCID: PMC6952938.

RODRÍGUEZ L. et al. Salivary Biomarkers and Their Application in the Diagnosis and Monitoring of the Most Common Oral Pathologies. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 14, p. 5173, 2020.

TANNO, T.; MATSUI, W. Development and maintenance of cancer stem cells under chronic inflammation. *J Nippon Med Sch.*, v. 78, n. 3, p. 138-145, 2011. doi: 10.1272/jnms.78.138. PMID:

21720087; PMCID: PMC3380605.

TOMO, S. et al. Conhecimento dos cirurgiões dentistas em relação ao câncer de boca. *Rev Arq Cienc Saúde*, v. 22, n. 2, p. 46, 2015.

WARNAKULASURIYA, S.; KERR, A. R. Triagem de Câncer Bucal: Passado, presente e futuro. *Revisões Críticas em Biologia e Medicina Oral, Journal of Dental Research*, v. 100, n.12, p. 1313-1320, 2021.

WONG, D. T. Salivaomics. *J Am Dent Assoc*. v. 143, p. 19S-24, 2012.

WONG, D. T. et al. Saliva diagnostics - Current views and directions. *Exp Biol Med (Maywood)*. Mar; v. 242, n. 5, p. 459-472, 2017. doi: 10.1177/1535370216681550. PMID: 27903834; PMCID: PMC5367650.