



## **Diagnóstico de câncer oral através de biomarcadores, uma proposta não invasiva**

### **Diagnosis of oral cancer using biomarkers, a non invasive proposal**

DOI: 10.56238/isevjhv3n1-031

Recebimento dos originais: 07/02/2024

Aceitação para publicação: 27/02/2024

**Luana Tiffany Lima Silva**

Orcid: 0000-0002-5118-0748

**Clarice Alves Nicolau**

Orcid: 0000-0002-0974-4415

**Cicera Simone Pereira Domingos Moreira**

Orcid: 0009-0006-8026-1156

**Alianderson Alexandre de Lima Silva**

Orcid: 0000-0001-9416-7263

**Gislanya Eufrásio Carvalho**

Orcid: 0009-0000-6187-6602

**Roberto Marinho Duarte Fernandes**

Orcid: 0009-0000-3881-8869

**Renata Hellen Morais Sales**

Orcid: 0000-0002-2425-8132

**Rommulo Cavalcanti Pereira Santos**

Orcid: 0009-0006-1591-2709

**Pedro Vitor Ferreira Máximo**

Orcid: 0000-0003-3288-6275

**Guilherme Otoni Inácio Leite Silva**

Orcid: 0009-0003-2468-7492

**Sandryelle de Andrade Rodrigues**

Orcid: 0000-0002-0878-3885

**Catarina Tainá Mascarenhas Lôbo**

Orcid: 0009-0007-1098-8998

#### **RESUMO**

O presente estudo teve como objetivo identificar, através da literatura científica, a utilização de biomarcadores que auxiliam no diagnóstico do câncer na cavidade oral. Trata-se de um estudo do tipo revisão narrativa com abordagem qualitativa e descritiva. Para averiguação dos dados, foram utilizados os bancos de dados do Periódicos Capes, PubMed e Sciencedirect, sobre a utilização de



artigos científicos, publicados durante o corte temporal de 2019 a 2023, nos idiomas português, inglês e espanhol, disponíveis online e gratuitamente. Após a aplicação dos filtros, seleção dos descritores e inclusão de estudos de revisão, meta-análise, teste controlado e aleatório, 52 artigos foi identificado, dentre os quais, 27 foram da PubMed, 14 dos Periódicos Capes e 11 da Science Direct, além da consideração da adequação, apenas 17 artigos, foram registrados para revisão. Neste importante estudo, ficou evidente que apesar dos avanços na identificação dos marcadores tumorais, ainda não possuem capacidade suficiente para o diagnóstico do câncer na cavidade bucal. Contudo, destaca sua influência como ferramenta importante para o prognóstico de quadros clínicos. Ademais, surge como alternativa menos invasiva, com amostras mais acessíveis como o da saliva e obtenção de resultados promissores.

**Palavras-chave:** Câncer oral. Marcadores tumorais, Investigação.

## 1 INTRODUÇÃO

O câncer é uma das principais doenças de recorrência global, dentre o grupo de 100 doenças, sua principal característica é o crescimento desordenado de células que posteriormente atingem tecidos e órgãos. Essa patologia é conhecida por ter causas multifatoriais, assim sofre influência de fatores ambientais até mecanismos intrínsecos, como condições imunológicas e mutações genéticas (Medeiros, 2020).

A neoplasia bucal é um problema de saúde pública, que vem crescendo constantemente, sendo mais frequente em homens acima de 50 anos. Os fatores de risco para esse câncer são tabagismo, etilismo, má higiene-oral, Papilomavírus Humano e exposição solar (Dias, De Almeida Coelho, 2022; Sat'ana *et al.*, 2021). No Brasil, a ocorrência de casos é maior quando comparados com outros países, na estimativa realizada a cada treino (2020-2022) pelo Instituto Nacional do Câncer (INCA), foi estimado 15.190 novos casos, sendo 4.010 em mulheres e 11.080 em homens.

O tipo mais comum de malignidade da cavidade oral é o carcinoma epidermóide (CEB), representando 90%. Este câncer pode atingir várias estruturas anatômicas, como língua, lábios, gengivas, superfície abaixo da língua, seios paranasais, glândulas salivares, faringe e laringe e entre outros, com grande potencial de malignidade (Liouta *et al.*, 2023)

Para realizar o diagnóstico desse câncer normalmente utilizam exame clínico completo da cavidade oral, na presença de lesão é realizada uma biópsia. Entretanto, o exame oral convencional não identifica alterações iniciais, o que impede o diagnóstico precoce. A biópsia é um procedimento frequentemente utilizado, mas além de invasiva, é uma técnica de alto custo e utilidade limitada, refletindo em casos de neoplasias detectados tardiamente, resultando em metástase e conseqüentemente elevando a taxa de mortalidade (Ali *et al.*, 2021; Madhura *et al.*, 2020)



Desta forma, percebe-se a necessidade de técnicas mais específicas e sensíveis que permitam o diagnóstico precoce, principalmente de técnicas minimamente invasivas como os métodos de biópsia líquida, sistema óptico, citologia da cavidade oral, método microfluídico e inteligência artificial. Atualmente, em meio de constantes pesquisas em biomarcadores de biópsia líquida, RNAs não codificantes e DNA tumoral circulante exibem um grande potencial na detecção deste câncer (Amenábar; Da Silva; Punyadeera, 2020; Wang *et al.*, 2023).

Por outro lado, os biomarcadores são um método com inovação constante, pois possuem um resultado mais preciso sobre a situação, indicando processos normais e patológicos, respondendo a estímulos. (Aronso; Ferner, 2017; Califf, 2018, Cardoso *et al.*, 2019). Portanto, tem-se como objetivo, identificar, através da literatura científica, a utilização de biomarcadores em amostras acessíveis no diagnóstico de câncer de cavidade oral.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Trata-se de um estudo do tipo revisão narrativa com abordagem qualitativa e descritiva. Como critérios de inclusão foram definidos: artigos científicos nos idiomas português, inglês e espanhol, disponíveis online e gratuitamente, resumo expandido e em formato de texto completo, publicados durante o período de 2019 a 2023. Os critérios de exclusão definidos foram: artigos que não correspondiam ao recorte temporal, desconsideração de teses, monografias, dissertações e estudos repetidos.

Em fevereiro de 2023 iniciou-se a busca pelos artigos científicos nas seguintes bibliotecas de dados: Periódicos Capes, PubMed, e Sciencedirect. Os descritores utilizados foram extraídos do Descritores em Ciências da Saúde (DeCS), através dos seguintes cruzamentos: *Biomarkers AND Tumor, AND Mouth neoplasms*.

Após a aplicação dos filtros recorte temporal de 2019 a 2023, seleção dos descritores e inclusão de estudos de revisão, meta-análise, teste controlado e aleatório, foram filtrados 52 artigos, dentre os quais, 27 foram da PubMed, 14 dos Periódicos Capes e 11 da Science direct. Durante a busca e seleção dos artigos, foi realizada a leitura dos títulos e resumos de todos os trabalhos, excluindo-se os que não se correlacionaram com a temática do presente trabalho totalizando 40 artigos para leitura na íntegra.

Foram excluídos 35 artigos por não abordarem a temática central do presente trabalho, restando 17 artigos para compor o estudo.



### 3 DESENVOLVIMENTO

O desenvolvimento da carcinogênese do Câncer Oral (CO) é um processo com vários estágios, onde uma das características são as alterações moleculares. O nível de expressão das proteínas se altera em ambiente carcinogênico, logo, a detecção de um biomarcador é essencial para identificar o risco de desenvolver câncer. Sendo assim, as substâncias tóxicas presentes no ambiente produzem metabólitos maléficos que promovem a instabilidade genética (Pillai, 2021).

O CO é conhecido por ter o diagnóstico em estágios avançados, pois essa neoplasia não apresenta sinais e sintomas no início da patologia, consequentemente aumentando as chances de falha na terapêutica. Desta forma, foram feitos estudos com biomarcadores potenciais para o diagnóstico precoce da doença, portanto, o marcador tumoral identificado irá auxiliar no aumento da sobrevida dos pacientes, além de ser uma metodologia que reduz a morbimortalidade (Chiamulera *et al.*, 2021; Santos *et al.*, 2021).

Acredita-se que no câncer bucal pode haver secreção de DNA tumoral através da saliva, na qual essa molécula é encontrada mais facilmente, quando comparada a outros materiais como plasma ou soro. Com isso, portanto, o recolhimento de amostras salivares em pacientes com suspeita de câncer bucal possivelmente poderá servir como mais uma ferramenta para o diagnóstico, de forma não invasiva (Zhong *et al.*, 2018).

De acordo com Patil *et al.*, (2019) a utilização da saliva como parâmetro para pesquisa é significativa tanto para diagnóstico como resposta da terapêutica. Logo, através da sua revisão, descreve a presença de transcritos de RNAm salivares a partir de amostras de indivíduos saudáveis e portadores de CECO, havendo maior expressão dos genes IL8, IL1B, DUSP1, OAZ1, S100P, SAT1 nos portadores da neoplasia oral.

Paluszkiwicz e seus colaboradores em 2020, apresentaram uma pesquisa sobre câncer de glândulas salivares, sendo demonstrado por intermédio de espectroscopia ATR-FTIR, que existem mudanças significativas na estrutura secundária das proteínas de desenvolvimento, em pacientes com câncer, comparados a pessoas saudáveis. Destacaram-se biomarcadores encontrados no fluido salivar em bandas atribuídas a proteínas, carboidratos e fosfatos inorgânicos possuem potencial diagnóstico, destacando como uma metodologia a ser utilizada.

As ferramentas de detecção baseadas em proteínas são cruciais, pois identificam alterações pós-transcricionais e pós-traducionais na carcinogênese. Marcadores tumorais, substâncias no sangue que indicam câncer, são úteis para monitorar recorrências pós-tratamento. A proteína p53 desempenha um papel vital na regulação do ciclo celular e no apoptose, sendo um biomarcador estudado na cavidade oral. Mutações nesse gene ocorrem em várias formas de câncer, incluindo



CECO. Sua superexpressão pode ter implicações no prognóstico, mas os resultados variam. A expressão da p53 acima da camada basal é um evento precoce na carcinogênese oral, sugerindo sua importância no diagnóstico (Cervino *et al.*, 2019).

As proteínas AHSG e KRT6C analisadas na saliva se mostraram alteradas no CO. KRT6C tem a função de revestir o epitélio estratificado, fazendo parte das proteínas queratina tipo 2. A superexpressão da KRT6C está associada a grande proliferação celular no câncer. A AHSG tem a sua expressão na embriogênese, fazendo parte da família de proteínas cistatinas. Em adultos esta proteína fica limitada somente ao fígado e os osteoblastos, como também está associada com malignidade. A superexpressão da AHSG no CO foi observada consideravelmente, mesmo sendo uma proteína pouco explorada (Jain *et al.*, 2021).

Outro grupo de proteínas CFH, FGA e SERPINA1, demonstraram possuir um potencial para detecção precoce e na avaliação do prognóstico, através do perfil proteoma salivar, baseadas nas análises de iTRAQ e MRM. Os níveis salivares de FGA e SERPINA1 foram significativamente elevados em pacientes com tumores primários em estágio inicial, sem metástases linfonodais. Os níveis salivares de CFH nos pacientes com tumores primários em estágio inicial foram maiores do que nos controles saudáveis, oferecendo uma alternativa importante ao método atual (Chu *et al.*, 2019).

No estudo de Zhong *et al.*, (2018), foram colhidas amostras salivares de um paciente acometido pelo câncer bucal e de um outro indivíduo saudável, onde posteriormente foram analisadas por meio de imunoenensaio, obtendo-se os seguintes biomarcadores: CD59, M2BP, MRP14, catalase e profilina, que revelaram-se bastantes eficazes no diagnóstico do câncer.

As citocinas salivares mostram-se promissoras como biomarcadores para detecção precoce. Chiamulera *et al.*, (2021); Ferrari *et al.*, (2021), descrevem análises de citocinas anti-inflamatória e pró-inflamatória, sendo observado que as interleucinas IL-8, IL-6, TNF-a e IL-1 beta foram encontradas em maiores quantidades em pacientes com CO, quando comparadas a pacientes saudáveis. As citocinas com maiores concentrações foram IL-8 e IL-6, portanto com maior confiabilidade.

Outra pesquisa avaliou o desempenho da hipóxia no câncer bucal, pois há alteração desse marcador em situações relacionadas ao câncer. Além da hipóxia foi avaliado o papel de microRNAs, sendo crucial nas respostas de hipóxia. Foi possível observar que os marcadores de hipóxia não se elevam nesta neoplasia, mas em casos presentes pode indicar radioresistência. Devido à sobrevivência baixa causada pelo câncer, este é um marcador a ser considerado nesse estudo (Cardoso, 2019).



O fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) é abordado no desenvolvimento de alguns cânceres, pois o crescimento tumoral demanda maior suprimento sanguíneo. Desta forma, o mesmo está relacionado com o processo de angiogênese do CO, seguido de hipóxia que também é uma consequência da carcinogênese bucal. A presença do VEGF está intimamente ligada aos tumores bucais, além de indicar uma sobrevida baixa (Santos *et al.*, 2021).

O estudo de Cervino *et al.*, (2019), apresenta uma abordagem de técnicas moleculares onde foi detectado o gene do receptor de fator de crescimento epidérmico (EGFR), estando intimamente relacionado ao desenvolvimento do CO. Desta forma, os inibidores de EGFR são vistos como uma das oportunidades de tratamento.

Em técnicas bioquímicas detectou-se a enzima lactato desidrogenase (LDH), em elevadas concentrações no soro de pacientes com CO, diferenciando-se dos pacientes saudáveis, sendo interessante considerar a inclusão do LDH como um biomarcador essencial para triagem do CO, mesmo sendo o soro uma amostra imprecisa (Barbi; Purohit, 2022).

Outro alvo de pesquisa são os RNAs não codificantes (miRNAs), que no estudo de Shaw *et al.*, 2022, foi destacado uma especificidade e sensibilidade de 91% enquanto os mRNAs foi de 90%, estimados pela técnica Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), que considerou ser os melhores marcadores para esse tipo de neoplasia em comparação a outros já estudados para o diagnóstico do CO precoce de forma não invasiva.

De acordo com Kaunein (2021), a desregulação de miRNAs foi relatada em muitos tipos de câncer e demonstrou desempenhar um papel fundamental na iniciação, progressão, invasão e ativação da metástase da doença. No Carcinoma de Células Escamosas Oral (CECO), os microRNAs têm sido implicados na tumorigênese com a identificação de diferentes padrões de expressão dessas moléculas, o que permite caracterizar a massa neoplásica em sua fase inicial, embora alguns microRNAs possam se diferenciar independentemente entre lesões progressivas e não progressivas.

O mesmo autor destaca a importância de microRNA-21 e miRNA-31, microRNAs que podem se complementar em termos de sensibilidade e especificidade para melhorar a capacidade prognóstica. Os mesmos são expressos com maior frequência, devido a sua diferenciação. A expressão do microRNA-31 foi maior no grupo de leucoplasias orais progressivas, esses microRNAs foram examinados para a diagnose de Distúrbios Orais Potencialmente Malignos (OPMD) e predição de carcinoma oral de células escamosas, com 15 miRNAs relatados em pelo menos dois estudos e nove microRNAs identificados para carcinoma oral de células escamosas mostrado em todos os estudos.



Já de acordo com Dioguardi *et al.*, (2022) destaca-se o microRNA-21, pois sua alteração pode significar carcinogênese. Nesse estudo o microRNA-21 foi identificado em muitos artigos, sendo indicativo de prognóstico no tumor oral, assim auxiliando em um tratamento menos invasivo.

Chen *et al.*, 2021, estudando miRNAs derivados de exossomos de tecido tumoral de gengiva, fazendo um comparativo com células escamosas do epitélio oral saudável e do soro desses pacientes com CECO, pôde identificar vários miRNAs, destacando-se o miR-155 e o miR-21 com características oncogênicas, capazes de interferir negativamente na expressão dos genes supressores de tumor PTEN e Bcl-6, enquanto que o miR-126 age suprimindo o CECO através da regulação negativa do oncogene EGFL7. Para o autor o resultado da análise dos exossomos séricos permite a sua utilização como biomarcadores para o diagnóstico e estadiamento do CECO de forma não invasiva.

A glicólise por via aeróbica é o principal meio energético para o desenvolvimento e proliferação nos CECOs, estando os transportadores de glicose (GLUTs) em superexpressão devido a alta demanda energética requerida por essas células. Além disso, a expressão da GLUT está correlacionada com o mau prognóstico, como a presença da GLUT-1 que está associada à quimiorresistência e a radioresistência nas neoplasias malignas (Botha *et al.*, 2021).

Elseragy (2022), descreve, através da coloração em hematoxilina-eosina, marcadores considerados promissores para o prognóstico de carcinoma espinocelular de língua (OTSCC) em estágio inicial. Brotamento tumoral; padrão de invasão (WPOI) e proporção de estroma tumoral (TSR). O brotamento tumoral é a presença de células cancerígenas, (maior que cinco é considerado alto risco para mau prognóstico), o brotamento está associado a linfa e a metástase, sendo um prognóstico valioso para um marcador. Já o WPOI é a invasão, WPOI 4 e 5 são associadas as piores sobrevidas globais. Quanto ao TSR, que caracteriza o estroma ao entorno do tecido tumoral, sua identificação é fácil e rápida, sabe-se que o estroma atua como barreira na tumorigênese, sendo que a classificação rica em estroma foi associada ao maior risco de recorrência, enquanto o pobre em estroma apresentou prognóstico melhor.



## 5 CONCLUSÃO

Foi verificado neste estudo que os marcadores tumorais ainda não possuem capacidade suficiente para o diagnóstico do CO, mas destaca a grande influência nos quadros clínicos e prognósticos. Podendo ser analisado de forma menos invasiva com amostras mais acessíveis como saliva e soro e ainda obtendo resultados promissores. Desta forma, técnicas que utilizam essas amostras proporcionam mais conforto para os pacientes, no entanto sendo necessário mais estudos e investimentos de metodologias que garantem a especificidade e sensibilidade.



## REFERÊNCIAS

- ALI, A. *et al.* Expression of invadopodia markers can identify oral lesions with a high risk of malignant transformation. *The Journal of Pathology: Clinical Research*, v. 7, n. 1, p. 61-74, 2021.
- AMENÁBAR, J. M.; DA SILVA, B. M; PUNYADEERA, Chamindie. Salivary protein biomarkers for head and neck cancer. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, v. 20, n. 3, p. 305-313, 2020.
- ARONSON, J. K.; FERNER, R. E. Biomarkers—a general review. *Current protocols in pharmacology*, v. 76, n. 1, p. 9.23. 1-9.23. 17, 2017.
- BARBI W, PUROHIT B.M. Serum Lactate Dehydrogenase Enzyme as a Tumor Marker in Potentially Malignant Disorders: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2022 Aug 1;23(8):2553–9.
- BOTHA H, FARAH C.S, KOO K, CIRILLO N, MCCULLOUGH M, PAOLINI R, *et al.* The Role of Glucose Transporters in Oral Squamous Cell Carcinoma. *Biomolecules*. 2021 Jul 21;11(8):1070.
- CALIFF, R. M. Biomarker definitions and their applications. *Experimental Biology and Medicine*, v. 243, n. 3, p. 213-221, 2018.
- Câncer de boca. Instituto Nacional de Câncer - INCA. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/tipos/boca>
- CARDOSO, C.M *et al.* Is HIF1- $\alpha$  deregulated in malignant salivary neoplasms?. *Gene*, v. 701, p. 41-45, 2019.
- CERVINO G, *et al.* Molecular Biomarkers Related to Oral Carcinoma: Clinical Trial Outcome Evaluation in a Literature Review. *Disease Markers*. 2019 Mar 25; 2019:1–11.
- CHEN, C. M. *et al.* Exosome-derived microRNAs in oral squamous cell carcinomas impact disease prognosis. *Oral Oncology*. v. 120. 2021.
- CHIAMULERA M.M.A, *et al.* Salivary cytokines as biomarkers of oral cancer: a systematic review and meta-analysis. *BMC Cancer*. 2021 Feb
- CHU, H.W. *et al.* Identification of Salivary Biomarkers for Oral Cancer Detection with Untargeted and Targeted Quantitative Proteomics Approaches\*[S]. *Molecular & Cellular Proteomics*, v. 18, n. 9, p. 1796-1806, 2019.
- DIAS, G. A. A; DE ALMEIDA COELHO, Jéssica. Uso de antissépticos orais e sua relação com câncer de boca. *Revista Científica Unilago*, v. 1, n. 1, 2022.
- DIOGUARDI, M; *et al.* Expressão do microRNA-21 como um biomarcador prognóstico no câncer oral: revisão sistemática e meta-análise. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2022 , 19 , 3396. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijerph19063396>
- DOS SANTOS E.S, RAMOS J.C, NORMANDO A.G, LEMEA.F. Prognostic value of the immunohistochemical expression of vascular endothelial growth factors in malignant salivary gland neoplasms: a systematic review and meta-analysis. *Medicina Oral Patología Oral y Cirugía Bucal*. 2021; e126–35.



ELSERAGY, A.*et al.* Emerging histopathologic markers in early-stage oral tongue cancer: A systematic review and meta-analysis. *Head & Neck*, v. 44, n. 6, p. 1481-1491, 2022.

FERRARI, E. *et al.* Salivary Cytokines as Biomarkers for Oral Squamous Cell Carcinoma: A Systematic Review. *International Journal of Molecular Sciences*. v. 22, n. 6795, p. 1 -14. 2021.

JAIN,A, *et al.* Identification of potential salivary biomarker panels for oral squamous cell carcinoma. *Scientific Reports*. 2021 Feb 9 ;11(1):3365. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33564003/>

KAUNEIN, N.*et al.* A Systematic Review of MicroRNA Signatures Associated with the Progression of Leukoplakia with and without Epithelial Dysplasia. *Biomolecules*, v. 11, n. 12, p. 1879, 2021.

LIOUTA, G. *et al.* DNA methylation as a diagnostic, prognostic, and predictive biomarker in head and neck cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 24, n. 3, p. 2996, 2023.

MADHURA, M.G *et al.* Minimally invasive procedures for the recognition and diagnosis of oral precancer and cancer. *Disease-a-Month*, v. 66, n. 12, p. 101033, 2020.

MEDEIROS, G. C. *et al.* Fatores Associados ao Atraso entre o Diagnóstico e o Início do Tratamento de Câncer de Mama: um Estudo de Coorte com 204.130 Casos no Brasil. *Revista Brasileira de Cancerologia*, v. 66, n. 3, 2020.

PALUSZKIEWICZ, C. *et al.* Saliva como ferramenta diagnóstica de primeira linha: Um desafio espectral para identificação de biomarcadores de câncer. *Journal of Molecular Liquids* , v. 112961, 2020.

PATIL, *et al.* Role of salivary transcriptomics as potential biomarkers in oral cancer: a systematic review. *Journal of Oral Pathology and Medicine*, v. 48 (10). pág 871-879, 2019.

PILLAI, J. *et al.* A systematic review of proteomic biomarkers in oral squamous cell cancer. *World Journal of Surgical Oncology*, v. 19, p. 1-28, 2021.

SANT'ANA, L. G. *et al.* A importância do conhecimento dos fatores de risco e do diagnóstico precoce na prevenção do desenvolvimento do câncer bucal: uma revisão de literatura. *Facit Business and Technology Journal*, v. 1, n. 25, 2021.

SANTOS, A.A *et al.* Immunohistochemical comparative analysis of tumor stem cell biomarkers in pleomorphic adenoma, adenoid cystic carcinoma and mucoepidermoid carcinoma of salivary glands. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*, v. 135, n. 3, p. 396-409, 2023.

WANG, S.*et al.* Current advances in noninvasive methods for the diagnosis of oral squamous cell carcinoma: a review. *European Journal of Medical Research*, v. 28, n. 1, p. 1-12, 2023.

ZHONG, *et al.* Biomarkers: paving stones on the road towards the personalized precision medicine for oral squamous cell carcinoma. *BMC Cancer*. 2018 Sep 21;18(1).