



UNIVERSIDADE
FEDERAL
DE PERNAMBUCO

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

CURSO DE ODONTOLOGIA

CAMILA MARIA DA SILVA

**EXPRESSÃO DE BIOMARCADORES SALIVARES COMO FATORES
PREDITIVOS NO DIAGNÓSTICO DO CARCINOMA ORAL DE CÉLULAS
ESCAMOSAS: uma revisão integrativa**

Recife

2023

CAMILA MARIA DA SILVA

**EXPRESSÃO DE BIOMARCADORES SALIVARES COMO FATORES
PREDITIVOS NO DIAGNÓSTICO DO CARCINOMA ORAL DE CÉLULAS
ESCAMOSAS: Uma revisão integrativa**

Trabalho apresentado à Disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso 2 como parte dos requisitos para conclusão do Curso de Odontologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco.

Orientadora: Prof.(a) Dr.(a) Alessandra de Albuquerque Tavares Carvalho.

Co-orientadora: Prof.(a) Dr.(a) Elaine Judite de Amorim Carvalho.

Recife

2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Silva, Camila Maria da.

Expressão de biomarcadores salivares como fatores preditivos no diagnóstico do carcinoma oral de células escamosas: Uma revisão integrativa / Camila Maria da Silva. - Recife, 2023.

35p., tab.

Orientador(a): Alessandra de Albuquerque Tavares Carvalho

Coorientador(a): Elaine Judite de Amorim Carvalho

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Odontologia - Bacharelado, 2023.

Inclui referências, anexos.

1. Biomarcadores. 2. Saliva. 3. Neoplasias bucais. I. Carvalho, Alessandra de Albuquerque Tavares. (Orientação). II. Carvalho, Elaine Judite de Amorim. (Coorientação). IV. Título.

610 CDD (22.ed.)

CAMILA MARIA DA SILVA

**EXPRESSÃO DE BIOMARCADORES SALIVARES COMO FATORES
PREDITIVOS NO DIAGNÓSTICO DO CARCINOMA ORAL DE CÉLULAS
ESCAMOSAS: Uma revisão integrativa**

Trabalho apresentado à Disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso 2 como parte dos requisitos para conclusão do Curso de Odontologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco.

Aprovada em: 20/09/2023.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Jurema Freire Lisboa de Castro / UFPE

Profa. Dra. Deborah Pitta Paraíso Iglesias / UFPE

Profa. Dra. Alessandra de Albuquerque Tavares Carvalho / UFPE

AGRADECIMENTOS

“Ó, meu Senhor, Tu fizeste por mim o que ninguém poderia fazer”, agradeço imensamente a Ti, meu Deus, por tua infinita Graça e misericórdia sobre mim, por até aqui ter me sustentado e me ajudado, por nunca ter me desamparado nos momentos em que mais precisei de ti, mesmo eu sendo tão falha. Que a minha vida continue expressando o meu louvor e adoração e que cada vez mais eu diminua para que o Senhor cresça em mim.

Agradeço à minha família, ao meu pai, minha mãe e minha irmã, Sara, por sempre me apoiarem. Ao meu pai, por fazer de tudo que podia para nos manter, principalmente na universidade, por ser um pai tão amoroso e amigo. À minha mãe, por ser tão paciente, amiga e sempre me apresentar em suas orações. À Sara, por ser a minha melhor amiga, que conversa sempre comigo e partilha dos mesmos pensamentos, também por me inspirar a escrever sobre o tema deste trabalho. Amo muito todos vocês, são a minha base.

Às minhas tinas e meus tios, por terem me ajudado em orações e financeiramente a me manter na universidade, especialmente minhas tias Edinalda, Amara, Edileuza, minha avó Lourdes e minhas primas Ana Cláudia e Aline. Vocês são muito especiais em minha vida.

Aos meus amigos de graduação, Wanessa, Talita, Jadson, Giovanna e Amanda, por estarmos juntos todo esse tempo, em momentos alegres, mas também tristes. Amo muito vocês, que Jesus os abençoe muito, apresento-os sempre em minhas orações.

Por fim, à minha orientadora, professora Alessandra Carvalho e à minha co-orientadora, professora Elaine Carvalho, por me auxiliarem na construção desse trabalho e serem pacientes comigo. Também à bibliotecária Elaine por ser tão solícita e ter tirado todas as minhas dúvidas.

RESUMO

INTRODUÇÃO: O carcinoma oral de células escamosas representa, aproximadamente, mais de 90% de todos os casos de câncer oral. Quando diagnosticados em estágio avançado, apresentam uma taxa de sobrevivência em cinco anos de 50%. Em virtude disso, técnicas mais eficazes vêm sendo estudadas visando à realização de um diagnóstico precoce de maneira confiável. Neste contexto, o campo da “biópsia líquida” mostrou-se revolucionário pelo fato de ser uma ferramenta diagnóstica não invasiva, baseada na detecção de células tumorais circulantes, DNA e/ou RNA tumoral circulante, proteínas (citocinas) e vesículas extracelulares (VEs) presentes na saliva. **OBJETIVO:** O objetivo desta revisão integrativa é analisar se o uso de biomarcadores presentes na saliva é um método de diagnóstico válido, com sensibilidade e especificidade suficientes para que sejam aplicados de forma eficiente na detecção do carcinoma oral de células escamosas. **METODOLOGIA:** Uma busca eletrônica foi realizada nas bases de dados Periódicos CAPES, PubMed, Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) e Scientific Electronic Library Online (SciELO) empregando os descritores *Biomarkers*, *Saliva* e *Mouth Neoplasms* intercalados pelo operador booleano AND. Os artigos selecionados foram publicados entre 2018 e 2023 na língua portuguesa, inglesa ou espanhola, totalizando 124 artigos. Após a eliminação dos duplicados e leitura dos resumos, chegou-se a uma amostra final de 12 artigos, esta foi avaliada por um método adaptado da Prática Baseada em Evidências. **RESULTADOS E DISCUSSÃO:** Dos 12 artigos selecionados, os miRNAs foram citados em sete artigos, e as citocinas inflamatórias salivares também foram analisadas em sete; três estudos abordaram, de forma concomitante, as duas classes de biomarcadores. Além disso, todos os trabalhos trouxeram o carcinoma oral de células escamosas como patologia a ser detectada em razão de ser o tipo de câncer oral mais comum. **CONCLUSÃO:** Os miRNAs foram os biomarcadores salivares que tiveram uma melhor precisão geral diagnóstica, com alta sensibilidade e especificidade. Apesar disso, mais estudos bem desenhados em larga escala com investigações detalhadas e acompanhamento vigoroso são necessários para validar a sensibilidade e especificidade desses biomarcadores como um método não invasivo para a detecção precoce do carcinoma oral de células escamosas.

Palavras-chave: biomarcadores; saliva; neoplasias bucais.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Oral squamous cell carcinoma represents approximately more than 90% of all cases of oral câncer. When diagnosed at an advanced stage, they have a five-year survival rate of 50%. As a result, more effective techniques have been studied in order to make an early diagnosis in a reliable way. In this context, the field of “liquid biopsy” has proved to be revolutionary because it is a non-invasive diagnostic tool, based on the detection of circulating tumor cells, circulating tumor DNA and/or RNA, proteins (cytokines) and extracellular vesicles (EVs), present in saliva. **OBJECTIVE:** The objective of this integrative review is to analyze whether the use of biomarkers present in saliva is a valid diagnostic method, with sufficient sensitivity and specificity to be efficiently applied in the detection of oral squamous cell carcinoma. **METHODOLOGY:** An electronic search was performed in the databases Periódicos CAPES, PubMed, Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) and Scientific Electronic Library Online (SciELO) using the descriptors Biomarkers, Saliva and Mouth Neoplasms interspersed by the boolean operator AND. The selected articles were published between 2018 and 2023 in portuguese, english or spanish, totaling 124 articles. After eliminating duplicates and reading the abstracts, a final sample of 12 articles was obtained, which was evaluated using a method adapted from Evidence-Based Practice. **RESULTS AND DISCUSSION:** Of the 12 selected articles, miRNAs were cited in seven articles, and salivary inflammatory cytokines were also analyzed in seven; three studies addressed, concomitantly, the two classes of biomarkers. In addition, all studies brought oral squamous cell carcinoma as a pathology to be detected, as it is the most common type of oral cancer. **CONCLUSION:** The miRNAs were the salivary biomarkers that had the best overall diagnostic accuracy, with high sensitivity and specificity. Despite this, more well-designed large-scale studies with detailed investigations and vigorous follow-up are needed to validate the sensitivity and specificity of these biomarkers as a non-invasive method for the early detection of oral squamous cell carcinoma.

Keywords: biomarkers, saliva, mouth neoplasms.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AUC	Área sobre a curva
CEC	Carcinoma oral de células escamosas
CO	Câncer oral
CYFRA 21-1	Citoqueratina 19
DUSP-1	Proteína de Dupla Especificidade 1
LGALS3BP	Proteína ligadora de galectina-3
OPMD	Lesões orais potencialmente malignas
miRNA	microRNA
MMP-9	Metaloproteinase de matriz 9
mRNA	RNA mensageiro
S100P	Proteína ligante de cálcio da família S100
TEX	Exossomos derivados de tumor
VEs	Vesículas extracelulares

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	09
2	OBJETIVOS.....	12
2.1	GERAL.....	12
2.2	ESPECÍFICOS.....	12
3	METODOLOGIA.....	13
3.1	Protocolo de pesquisa	13
3.2	Critérios de inclusão e exclusão.....	13
3.3	Seleção dos estudos.....	13
3.4	Avaliação da qualidade dos estudos.....	14
4	RESULTADOS.....	15
5	DISCUSSÃO.....	22
6	CONCLUSÃO.....	29
	REFERÊNCIAS.....	30
	ANEXOS	33

1 INTRODUÇÃO

O câncer oral (CO) é uma das formas de câncer mais prevalentes em todo o mundo, podendo acometer lábios, superfície gengival, mucosa jugal, palato duro, dois terços anteriores da língua (principalmente as bordas laterais), área retromolar e assoalho da língua. De acordo com a Agência Internacional para Pesquisa em Câncer (IARC, do inglês *International Agency for Research on Cancer*), em 2020, no mundo todo, foram estimados cerca de 431.296 novos casos de CO (CID C00-C08) e 200.535 óbitos, para ambos os sexos.^{1,2,3,4}

No Brasil, o número estimado de novos casos de CO, para cada ano do triênio de 2023 a 2025, é de 15.100 casos, correspondendo ao risco estimado de 6,99 por 100 mil habitantes, sendo 10.900 em homens e 4.200 em mulheres. Esses dados refletem um risco estimado de 10,30 novos casos a cada 100 mil homens e 3,83 a cada 100 mil mulheres.⁵

O carcinoma oral de células escamosas (CEC), que se origina a partir do epitélio de revestimento bucal, representa aproximadamente 90% de todos os casos de CO, enquanto os 10% restantes são ocupados por cânceres de glândulas salivares menores, sarcomas, melanomas e linfomas. A incidência deste tipo de câncer está associada ao sexo (masculino), idade (entre a quinta e sexta décadas de vida, porém, nos últimos anos a doença tem sido cada vez mais observada em indivíduos mais jovens), localização geográfica (maior número de casos na Índia) e a hábitos comportamentais (uso de tabaco e álcool). Quando diagnosticados em estágio avançado (estágios III e IV), pacientes com CEC apresentam uma taxa de sobrevida em cinco anos de 50%, enquanto para aqueles em estágio inicial (I e II) a taxa de sobrevida é de 85%; exigindo assim um diagnóstico precoce da patologia.^{2,6,7,8,9}

O CEC pode ser antecedido por lesões orais potencialmente malignas (OPMD, do inglês *Oral Potentially Malignant Disorders*) como leucoplasia, eritroplasia, queilite actínica e líquen plano oral, entretanto, quando essas lesões estão em estágio inicial de transformação maligna, são assintomáticas e podem passar despercebidas pelo paciente e pelo cirurgião-dentista, culminando, muitas vezes em um diagnóstico tardio com prognóstico sombrio. O diagnóstico precoce e o tratamento de OPMD são extremamente importantes para reduzir a morbidade e mortalidade, um exame clínico oral completo e uma biópsia incisional são considerados os padrões-ouro para o diagnóstico de OPMD e CEC, contudo, o método é invasivo, caro e demorado.^{7,10}

Em virtude disso, técnicas vêm sendo estudadas visando à realização de um

diagnóstico refinado e precoce de maneira confiável. Neste contexto, o campo da “biópsia líquida” mostrou-se revolucionário em diversas áreas da oncologia pelo fato de ser uma ferramenta diagnóstica não invasiva, baseada na detecção de células tumorais circulantes, DNA e/ou RNA tumoral circulante, proteínas (citocinas) e vesículas extracelulares (VEs) presentes na saliva e em alguns outros fluidos biológicos (soro, plasma e urina) que podem servir como biomarcadores para o CO. A saliva recebeu destaque em razão de possuir várias vantagens: Coleta fácil e não invasiva; não requer condições especiais de armazenamento, repetível, além de ser estável ao longo do tempo, não coagula e garante a disponibilidade de grandes quantidades de amostras. Porém, depende de análises laboratoriais complexas e dispendiosas.^{7,10}

Dentro desta perspectiva, o termo “salivaômica” visa incluir os estudos relativos ao genoma (genômica), ao RNA (transcriptômica), perfis de metabólitos (metabolômica), proteínas (proteômica) e população microbiana (microbiômica) relacionados especificamente à saliva. Para a genômica, a análise da metilação do DNA, que é uma modificação epigenética estável pode estar associada a condições sistêmicas. Quanto a transcriptômica salivar, cerca de 117 espécies de mRNA salivares e 3.000 transcritos de mRNA aparentam estar protegidos da degradação, em oposição às espécies de mRNA do sangue. Ademais, a saliva contém transcritos específicos de mRNA (RNA mensageiro) e microRNA (miRNA) que normalmente são indetectáveis no sangue.⁷

A proteômica salivar abrange o estudo das proteínas salivares como as citocinas, secretadas por determinados grupos celulares (principalmente macrófagos e células T auxiliares), com papel muito importante nos processos de imunomodulação. A desregulação nos níveis de determinadas citocinas está relacionada ao surgimento de vários tipos de câncer. A metabolômica fornece informações sobre metabólitos salivares, suas concentrações relativas e doenças associadas. Por último a microbiômica, esta é útil na investigação da relação entre saúde e doenças dependentes da microbiota, como a cavidade oral possui a segunda maior microbiota do corpo humano, o meio torna-se uma grande fonte de dados.^{1,7}

Desde então, esse avanço do conhecimento em biomarcadores salivares dependeu em grande parte de procedimentos laboratoriais complexos, como espectrometria de massa, qRT-PCR (reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa quantitativa, do inglês *Quantitative Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction*), chips de microarray (microarranjos) e sequenciamento profundo (*deep-sequencing*) por sequenciamento de próxima geração (NGS-*next-generation sequencing*), que são demorados e caros. A respeito disto, a inserção de dispositivos no local de atendimento, que sejam capazes de fazer

diagnósticos e detectar rapidamente biomarcadores salivares, pode ser útil para superar essas desvantagens e promover o diagnóstico precoce de doenças malignas.⁷

No entanto, a coleta de amostras deve ser otimizada de forma adequada, buscando a redução de erros; pois vários fatores como métodos de ensaio e padrões utilizados afetam os resultados obtidos pela avaliação do fluido salivar. A taxa de secreção de saliva varia entre indivíduos saudáveis, por isso a coleta da saliva total (fluido produzido pelas glândulas salivares maiores e menores) deve ser a não estimulada (em repouso), a estimulação da produção de saliva diminui a concentração de moléculas pequenas, como a mioglobina, e altera a composição total da saliva. Como o volume difere entre os indivíduos, a taxa de fluxo salivar e outros biomarcadores salivares também difere de pessoa para pessoa. Contudo, seguindo procedimentos adequados de coleta e manuseio de saliva, dados reprodutíveis e de alta qualidade podem ser obtidos.^{7,11}

Tendo em vista o potencial uso da saliva como biópsia líquida no diagnóstico do CEC, o objetivo desta revisão integrativa é avaliar as classes de biomarcadores salivares mais promissoras para a detecção precoce do CEC presentes na literatura e se sua aplicação é válida como ferramenta diagnóstica, bem como se possuem sensibilidade e especificidade capazes de distinguir a patologia nos estágios iniciais e conseqüentemente proporcionarem, diretamente, um aumento na taxa de sobrevivência dos pacientes que, caso venham a ser acometidos pela enfermidade.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo desta revisão integrativa é analisar se o uso de biomarcadores presentes na saliva é um método de diagnóstico válido, com sensibilidade e especificidade suficientes para que sejam aplicados de forma eficiente na detecção do carcinoma oral de células escamosas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar quais os principais biomarcadores salivares utilizados para detecção do carcinoma oral de células escamosas;
- Avaliar a sensibilidade, especificidade e precisão do método;
- Verificar as limitações da aplicação dos biomarcadores como ferramenta de diagnóstico para o carcinoma oral de células escamosas.

3 METODOLOGIA

O desenho do estudo trata-se de uma Revisão de Literatura Integrativa com as seguintes etapas: definição do tema e formulação da pergunta norteadora, definição dos descritores, pré-seleção dos artigos, estabelecimento dos critérios de inclusão e de exclusão, avaliação dos artigos a serem incluídos na revisão, interpretação dos resultados e consequente elaboração da revisão.

3.1 Protocolo de pesquisa

A seleção dos artigos ocorreu de junho a julho de 2023, norteadora pela seguinte pergunta: “O uso de biomarcadores salivares é um método válido para o diagnóstico do carcinoma oral de células escamosas?”. Foram empregados os seguintes Descritores em Ciências da Saúde (DeCs): *Biomarkers*, *Saliva* e *Mouth Neoplasms* intercalados pelo operador booleano AND por meio da ferramenta de busca avançada nas bases de dados Periódicos CAPES, PubMed, Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) e Scientific Electronic Library Online (SciELO).

3.2 Critérios de inclusão e exclusão

Os critérios de inclusão pré-estabelecidos foram: Os artigos terem sido publicados entre 2018 e 2023; estarem na língua portuguesa, inglesa ou espanhola e publicações que correlacionaram os três descritores selecionados. Os critérios de exclusão foram revisões de literatura; pesquisas feitas em animais, opiniões de especialistas, publicações que abordassem outros tipos de biomarcadores que não os de origem salivar, artigos que não respondessem à pergunta norteadora, relação de biomarcadores salivares a outros tipos de câncer, que não o carcinoma oral de células escamosas, e/ou outras patologias.

3.3 Seleção dos estudos

Os artigos duplicados nas bases de dados foram excluídos e os critérios de exclusão foram aplicados através da leitura dos títulos e resumos dos artigos, a amostra restante teve seu texto completo lido na íntegra e foi avaliada quanto à sua elegibilidade e relevância.

3.4 Avaliação da qualidade dos estudos

A amostra final foi avaliada por um método adaptado da Prática Baseada em Evidências¹², sendo os artigos classificados da seguinte forma:

- Nível I, revisão sistemática ou metanálise;
- Nível II, ensaio clínico controlado randomizado;
- Nível III, ensaio clínico controlado sem randomização;
- Nível IV, estudos de coorte ou caso-controle bem delineados;
- Nível V, revisão sistemática de estudos qualitativos e descritivos e
- Nível VI, estudos descritivos ou qualitativos.

Esta hierarquia classifica os níveis I e II como fortes, III a V como moderados e VI como fracos.

4 RESULTADOS

A partir da busca avançada nas bases de dados, aplicando-se os critérios de inclusão, foram identificados 124 artigos, sendo excluídos 34 artigos duplicados. Com base nos critérios de exclusão, após a leitura dos títulos e resumos dos 90 artigos restantes, 54 referências foram excluídas e após a leitura na íntegra mais 24 foram excluídos. Chegando-se a uma amostra final de 12 artigos (Figura 1).

Todos os artigos escolhidos foram publicados no idioma inglês, sendo um artigo publicado em 2018 (8,3%), um em 2019 (8,3%), dois em 2020 (16,6%), sete em 2021 (58,3%) e um em 2022 (8,3%). Quanto aos países dos estudos incluídos, um foi conduzido na Coreia do Sul, um no Reino Unido, um no Brasil, um nos Emirados Árabes Unidos, dois na Itália, dois na Espanha e quatro na Índia. Vale ressaltar que a Índia sozinha responde por um quinto de todos os casos notificados de CO em todo o mundo.¹³

A amostra final foi avaliada conforme o método adaptado da Prática Baseada em Evidências¹², com a classificação dos artigos por nível de evidência (NE), resultando em 10 artigos nível I (revisão sistemática e/ou metanálise), um artigo nível III (ensaio clínico controlado sem randomização) e um artigo nível IV (Tabela 1).

Dentre os biomarcadores salivares analisados para a detecção do CEC, os que mais se destacaram foram os miRNAs, citados em sete artigos, e as citocinas inflamatórias salivares, também analisadas em sete dos 12 artigos; três estudos abordaram, de forma concomitante, as duas classes de biomarcadores. Além disso, todos os trabalhos trouxeram o CEC como patologia a ser detectada em razão ser o tipo de CO mais comum.¹⁴

Figura 1: Fluxograma com representação da elegibilidade e seleção dos artigos

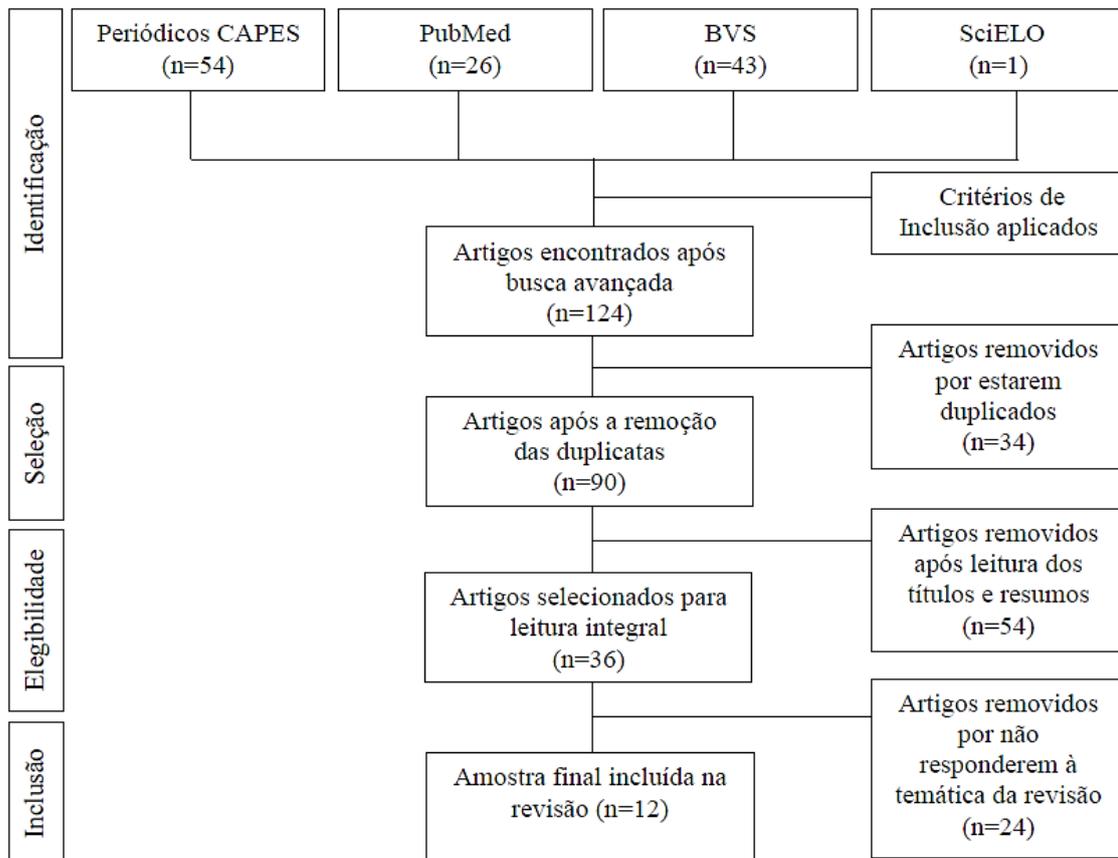


Tabela 1: Classificação dos estudos de acordo com o Nível de Evidência

Autor/Ano	Tipo de Estudo	NE
Chiamulera et al. ¹⁴ (2021)	Revisão sistemática e Metanálise	I
Ferrari et al. ¹⁵ (2021)	Revisão Sistemática	I
Gaba, Sheth, Veses ¹⁶ (2021)	Revisão sistemática e Metanálise	I
Sahu, Routray ¹⁷ (2021)	Revisão Sistemática	I
Al Rawi et al. ¹⁸ (2021)	Revisão Sistemática	I
Shaw et al. ¹⁹ (2022)	Revisão sistemática e Metanálise	I
Al Ali, Walsh, Maranzano ¹³ (2020)	Revisão Sistemática	I
Arroyo et al. ²⁰ (2021)	Revisão sistemática e Metanálise	I
Hema Shree et al. ²¹ (2019)	Revisão sistemática e Metanálise	I
Kang, Eun, Lee ²² (2021)	Revisão sistemática e Metanálise	I
Gai et al. ²³ (2018)	Ensaio clínico não-randomizado	III
Singh, Verma, Singh ²⁴ (2020)	Estudo de caso-controle bem delineado	IV

Tabela 2: Síntese da coleta dos dados

Autor/Ano	Título	País	Biomarcador	Resultados/Conclusão
Chiamulera et al. ¹⁴ (2021).	Salivary cytokines as biomarkers of oral cancer: a systematic review and metaanalysis.	Brasil	Citocinas salivares.	Na revisão sistemática, os níveis salivares das citocinas IL-6 e IL-8 foram mais elevados em pacientes com CEC quando comparados a pacientes saudáveis e aos pacientes com OPMD. Na metanálise os níveis salivares de IL-8, IL-6, TNF- α , IL-1 β e IL-10 foram expressivamente mais elevados em pacientes com CEC quando comparados aos controles saudáveis.
Ferrari et al. ¹⁵ (2021).	Salivary Cytokines as Biomarkers for Oral Squamous Cell Carcinoma: A Systematic Review.	Itália	Citocinas salivares.	Nos 27 estudos analisados as citocinas mais investigadas como possíveis biomarcadores para o CEC e que estavam em maior concentração foram IL-6, IL-8 e TNF- α , quando comparados aos controles saudáveis.
Gaba, Sheth, Veses ¹⁶ (2021).	Salivary biomarkers and their efficacies as diagnostic tools for Oral Squamous Cell Carcinoma: Systematic	Espanha	Citocinas (IL-8 e IL1- β); mRNAs (DUSP-1 e S100P) e miRNAs (miR-200a e miR-125a).	Os biomarcadores de mRNAs (DUSP-1 e S100P) se apresentaram melhor em termos de sensibilidade (0,61 e 0,67) e especificidade (0,75 e 0,73) na detecção do CEC. Todavia, tiveram uma precisão menor (0,66 e 0,78)

	review and meta-analysis.			quando comparados às citocinas (0,88 e 0,82).
Sahu, Routray ¹⁷ (2021).	Assessing the analytical efficacy of TEX in diagnosing oral cancer using a systematic review approach.	Índia	miRNAs presentes em exossomos derivados de tumor (TEX).	O uso de proteínas e miRNAs exossomais se mostraram promissores quando aplicados na detecção do CEC. Constatou-se que níveis mais baixos das proteínas anexina 1 (ANXA1) e fosfo-EGFR exossomal podem ser usados como marcadores para o CEC. Já o miRNA-486-5p pode ser utilizado como marcador único na detecção do CEC em estágio inicial, com sensibilidade no valor de 0,45 e especificidade de 0,89.
Al Rawi et al. ¹⁸ (2021).	The role of differentially expressed salivary microRNA in oral squamous cell carcinoma. A systematic review.	Emirados Árabes Unidos	miRNAs.	25 miRNAs foram apontados, 13 regulados negativamente (níveis mais baixos na saliva de pacientes com CEC quando comparados aos pacientes saudáveis) e os 12 restantes regulados positivamente (níveis mais altos na saliva de pacientes com CEC). Entretanto, ensaios clínicos controlados com uma grande amostra são necessários para legitimar os miRNAs diferencialmente expressos nesta revisão.

Shaw et al. ¹⁹ (2022).	Diagnostic Accuracy of Salivary Biomarkers in Detecting Early Oral Squamous Cell Carcinoma: A Systematic Review and Meta-Analysis.	Índia	mRNA, miRNA, proteínas DUSP-1, S100P e Citocinas (IL-8 e IL1-β).	Os biomarcadores salivares mRNA e miRNA, estimados por PCR, obtiveram melhores resultados na triagem no CEC. Entretanto, mais pesquisas com esses biomarcadores devem ser realizadas.
Al Ali, Walsh, Maranzano ¹³ (2020).	CYFRA 21-1 and MMP-9 as salivary biomarkers for the detection of oral squamous cell carcinoma: a systematic review of diagnostic test accuracy.	Reino Unido	CYFRA 21-1 e MMP-9.	A sensibilidade e especificidade para o biomarcador CYFRA 21-1 variaram de 0,84 a 0,94 e de 0,84 a 0,96, respectivamente. Para MMP-9, a sensibilidade e especificidade variaram de 0,76 a 1,00 e de 0,27 a 1,00, respectivamente. Entretanto, os estudos se apresentaram pobres em qualidade, afetando as evidências para o uso desses biomarcadores salivares na detecção do CEC.
Arroyo et al. ²⁰ (2021).	Usefulness of protein-based salivary markers in the diagnosis of oral potentially malignant disorders: a systematic	Espanha	Antígeno carcinoembrionário (CEA), CYFRA 21-1, IL-6 e IL-8.	CYFRA 21-1 e CEA mostraram-se muito promissores na diferenciação entre CEC e OPMD. Entretanto, a aplicação desses biomarcadores na diferenciação entre esses dois grupos de lesões não foi totalmente clara.

	review and meta-analysis. Cancer Biomarkers.			Ademais, o marcador CYFRA 21-1 demonstrou ser a única proteína capaz de distinguir as OPMD e pacientes saudáveis.
Hema Shree et al. ²¹ (2019).	Saliva as a diagnostic tool in oral squamous cell carcinoma—a systematic review with meta analysis.	Índia	IL-6, IL-8, TNF α , MMP-9, quemerina, CYFRA 21-1, miR-21, miR-145, miR-184, miR-27B, miR-136, N-Leucina + N- Fenilalanina, Colina + Betaína + Ácido Pipecolínico + I – Carnitina.	Os biomarcadores altamente específicos para o CEC foram MMP-9 (especificidade -100%), quemerina (especificidade-100%), miRNA-136, expresso positivamente, com especificidade de 0,88; miRNA-27B, expresso negativamente, com especificidade de 1,0. Com base nesses resultados a saliva pode ser usada como uma ferramenta de diagnóstico altamente sensível e específica.
Kang, Eun, Lee ²² (2021).	Diagnostic Value of Salivary miRNA in Head and Neck Squamous Cell Cancer: Systematic Review and Meta-Analysis.	Coreia do Sul	23 tipos de miRNA.	A análise geral demonstrou uma precisão diagnóstica moderada, com sensibilidade de 0,69, especificidade de 0,86 e AUC de 0,80 para os miRNAs quando comparado com pacientes com CEC e pacientes saudáveis. Apesar de apresentar-se como um biomarcador promissor na detecção do CEC, estudos prospectivos em larga escala com coortes

				multicêntricas, são imprescindíveis para validar sua aplicação na prática clínica.
Gai et al. ²³ (2018).	Salivary extracellular vesicle-associated miRNAs as potential biomarkers in oral squamous cell carcinoma.	Itália	miRNA.	Os principais miRNAs expressos em VEs foram miR-512-3p e miR-412-3p, superexpressos em pacientes com CEC em comparação com pacientes saudáveis. O miR-302b-3p e miR-517b-3p foram expressos apenas em pacientes com CEC, demonstrando que eles podem ter um bom poder discriminatório para o diagnóstico de CEC.
Singh, Verma, Singh ²⁴ (2020).	Validation of Salivary Markers, IL-1 β , IL-8 and Lgals3bp for Detection of Oral Squamous Cell Carcinoma in an Indian Population.	Índia	IL-1 β , IL-8 e LGALS3BP.	A IL-1 β e a IL-8 detiveram maior poder preditivo para todos os casos de CEC com valor da AUC de 0,7724 e 0,70301, respectivamente. Enquanto a LGALS3BP não gerou um poder preditivo tão significativo para o CEC em estágio avançado, no entanto, produziu alto poder preditivo para CEC e OPMD em estágios iniciais.

5 DISCUSSÃO

A maioria dos casos de câncer oral é do tipo CEC e quando os pacientes são diagnosticados precocemente podem apresentar uma taxa de sobrevida de 80%; já quando são diagnosticados tardiamente, a taxa de sobrevida do paciente em cinco anos é de 50%. O atraso no diagnóstico interfere no aumento das taxas de morbidade e mortalidade da doença. Por isso, o objetivo do uso de biomarcadores salivares para detecção do CEC é que eles possam ser usados para fins de triagem em larga escala, para que as lesões possam ser detectadas mais rapidamente, de modo fácil e sem ser de forma invasiva. Para isso, os métodos de triagem de saliva devem ter sensibilidade e especificidade suficientes.^{14,24}

Nos estudos analisados por Chiamulera et al.¹⁴ (2021), as citocinas pró-inflamatórias mais estudadas foram a IL-6 e a IL-8; juntamente a elas, o TNF- α , IL-1 β e IL-1 α apresentaram-se significativamente mais elevadas a níveis salivares nos pacientes com CEC quando comparadas a controles saudáveis, e na maioria dos casos em relação a pacientes com OPMD. Tais resultados demonstram o uso dessas citocinas como potenciais biomarcadores de diagnóstico precoce, principalmente por serem um método não invasivo. Entretanto, esses níveis elevados de citocinas não mostraram uma diferença significativa quando comparados aos níveis dos pacientes com lesões orais potencialmente malignas, salientando a importância da diferenciação das duas condições patológicas.¹⁴

A exceção foram as citocinas IL-8 e IL-6, que mantiveram suas concentrações elevadas em pacientes com CEC em comparação aos pacientes com OPMD, tornando essas duas citocinas como possíveis ferramentas confiáveis no diagnóstico. Isto também foi demonstrado por Ferrari et al.¹⁵ (2021), onde os níveis salivares das citocinas IL-6, IL-8 e TNF- α em pacientes com CEC foram mais altos do que em pacientes com OPMD e do que à população controle, respectivamente.^{14,15}

Dos 27 estudos avaliados por Ferrari et al.¹⁵ (2021), 25 deles apresentaram as citocinas IL-6, IL-8 e TNF- α em concentrações significativas na saliva de pacientes com CEC quando comparadas à saliva de pacientes saudáveis.¹⁵

Diferentemente de Chiamulera et al.¹⁴ (2021), onde a maioria dos artigos analisados não separava os pacientes conforme o estágio do câncer, Ferrari et al.¹⁵ (2021) constataram que havia uma tendência de aumento regular das citocinas salivares IL-6, IL-8, TNF- α e IL-1RA à medida que se passava gradualmente de lesões de CEC bem diferenciadas para lesões de CEC pouco diferenciadas, corroborando com a possibilidade de que podem estar

associadas ao estágio e agressividade da doença.¹⁴

As citocinas também estiveram presentes no trabalho elaborado por Singh, Verma, Singh²⁴ (2020) quando avaliaram três marcadores proteicos, IL-1 β , IL-8 e LGALS3BP (proteína ligadora de galectina-3 do inglês *Galectin-3 Binding Protein*) usando o ensaio imunoenzimático (ELISA), a partir de amostras de saliva não estimulada. Eles separaram os pacientes com CEC por estágio do câncer em iniciais (I e II) e tardios (III e IV) e os resultados obtidos demonstraram que dos três biomarcadores, a IL-1 β e a IL-8 detiveram maior poder preditivo significativo para todos os casos de CEC com valor da AUC (área sob a curva) de 0,7724 e 0,70301, respectivamente. Esta ferramenta preditiva também se abrangeu para os estágios avançados com valores da AUC correspondentes a 0,9017 e 0,7619, respectivamente.²⁴

Ao contrário das citocinas citadas, a LGALS3BP não gerou um poder preditivo tão significativo para o CEC em estágio avançado, no entanto, produziu alto poder preditivo para CEC e OPMD em estágios iniciais com AUC de 0,7296 e 0,7643, respectivamente. Contudo, a LGALS3BP pode ser uma boa indicadora na diferenciação entre OPMD e indivíduos saudáveis, por apresentar valores de AUC de 0,7643 em OPMD. Pode-se, portanto, inferir que IL-1 β e IL-8 podem ser úteis na distinção de pacientes com CEC em métodos de triagem em larga escala e a LGALS3BP pode contribuir na triagem de CEC em estágio inicial e OPMD de alto risco de malignização na população em geral.²⁴

Três classes de biomarcadores salivares mais promissoras para o CEC foram analisados por Gaba, Sheth, Veses¹⁶ (2021): citocinas (IL-8 e IL1- β); mRNAs (Proteína de Dupla Especificidade 1, DUSP-1, e a Proteína ligante de cálcio da família S100, S100P) e miRNAs (miR-200a e miR-125a). Nos estudos que avaliaram as citocinas como possíveis biomarcadores, a população incluída para a IL-8 foi de 77 pacientes, enquanto para a IL1- β foi de 61 pacientes, tendo seus valores de sensibilidade (verdadeiro positivo), 0,41 e 0,26, e especificidade (falso positivo), 0,69 e 0,47, menores para a detecção de CEC quando comparados aos mRNAs (DUSP-1 e S100P). A sensibilidade para DUSP-1 foi de 0,61 (com uma população de 88 pacientes) e para S100P foi de 0,67 (78 pacientes), já a especificidade foi de 0,75 e 0,73 respectivamente.¹⁶

Apesar de os biomarcadores de mRNAs se apresentarem melhor em termos de sensibilidade e especificidade, tiveram uma precisão de ensaio menor, de acordo com a análise de dados (AUC), quando correlacionados às citocinas salivares. Os valores da AUC para IL-8 e IL1- β foram de 0,88 e 0,82, nesta ordem. Já os valores da AUC para DUSP-1 foi de 0,66 e S100P foi igual a 0,78. Porém, nesses resultados devem ser levadas em consideração

a metodologia e técnicas utilizadas para obtenção dos dados, estágio da patologia, habilidade técnica para interpretação dos dados e dentre outros fatores do paciente que podem interferir nos resultados dos testes.¹⁶

Dos estudos que investigaram a eficácia dos microRNAs como biomarcadores para o CEC, a população foi de 74 pacientes para o miR-125a e 96 pacientes para o miR-200a. Estes estudos não mediram a sensibilidade e/ou especificidade do marcador, o valor da AUC do miR-125a foi 0,62, enquanto o valor da AUC de miR-200a foi de 0,65. Diante destes resultados Gaba, Sheth, Veses¹⁶ (2021) classificaram os mRNAs como os melhores biomarcadores para a detecção precoce do CEC, mesmo que as citocinas apresentassem uma melhor precisão para os valores da AUC; não dispensando, assim, a possibilidade de mais estudos e argumentos que ratifiquem o uso destas duas categorias de biomarcadores no diagnóstico preliminar.¹⁶

A revisão sistemática feita por Sahu, Routray¹⁷ (2021) analisou os exossomos derivados de tumor (TEX), que foram identificados na maior parte dos fluidos corporais, como saliva, soro sanguíneo, urina, líquido amniótico, leite materno, líquido cefalorraquidiano, secreção nasal e líquido ascítico. Eles carregam consigo um grande depósito de carga: Lipídios, proteínas, mRNAs, miRNAs, lncRNA (RNA não codificante longo) e DNA. Tais fatores acendem a luz para os exossomos presentes na saliva como uma fonte acessível para o diagnóstico do CEC, fornecendo informações complementares sobre as características tumorais, isso porque as proteínas presentes nos exossomos são específicas do tecido de origem, e este pode ser rastreado através das proteínas de membrana.¹⁷

Além disso, os TEX possuem uma maior resistência à degradação pelas proteases e nucleases devido a presença de proteínas e miRNAs, conferindo uma maior estabilidade na circulação e maiores concentrações dentro das vesículas encapsuladas. Usando as proteínas exossomais como marcadores salivares, foi constatado que níveis mais baixos das proteínas anexina 1 (ANXA1) e fosfo-EGFR exossomal podem ser usados como marcadores para o CEC. Outra proteína, a de choque térmico HSP90a, em frações exossomais, foi significativamente maior nas linhas celulares metastáticas do que as linhas celulares do CEC, podendo assim ser utilizada como um potencial biomarcador para metástase.¹⁷

Os miRNAs podem regular positiva e negativamente as atividades celulares e alterar o fenótipo das células normais se forem dos TEX. Com eles sendo utilizados como marcadores foi demonstrado que o miRNA-486-5p pode ser utilizado como marcador único na detecção do CEC em estágio inicial, graças a sua expressão significativa nos exossomos salivares em casos de câncer quando comparados a controles saudáveis. Com sensibilidade no

valor de 0,45 e especificidade de 0,89. O miR-24-3p exossomal salivar também apresentou níveis elevados em pacientes com CEC, podendo ser aplicado na forma de teste de triagem.¹⁷

A viabilidade dos miRNAs como biomarcadores salivares na detecção do CEC também foi avaliada por Al Rawi et al.¹⁸ (2021), estando associados aos exossomos, possuem uma maior estabilidade na saliva, além de desempenharem um papel crucial no processo da carcinogênese. Nos 14 estudos examinados 25 miRNAs foram apontados, 13 regulados negativamente (miR-125a, miR-let-7a-5p, miR-145-5p, miR-27b, miR-92a, miR-34a, miR-124-3p, miR-136, miR-139-5p, miR-146a, miR-205-5p, miR-200a e miR-375) e os 12 restantes regulados positivamente (miR-21, miR-134, miR-9, miR-122-5p, miR-184, miR-31, miR-191, miR-196a, miR-3928, miR-196b, miR-412-3p, miR-512-3p).¹⁸

O miR-31 foi o miRNA citado com mais frequência nos estudos, seu nível foi maior em pacientes oncológicos do que nos controles saudáveis. Entretanto, o uso do miR-31 como marcador único não é suficiente para detectar transformações malignas, uma vez que as diferenças entre os valores de miR-31 não foram numericamente significativas quando usados na distinção dos estágios do CEC (estágios I-IV). Ademais, a capacidade do miR-31 na distinção entre o CEC e as OPMD não foram efetivas. Já o miR-200a apresentou seus níveis mais baixos na saliva de pacientes com CEC, a superexpressão desse miRNA pode interferir na transição mesenquimal epitelial (EMT), prejudicando, assim, o desenvolvimento do tumor. Apesar disso, houve controvérsias entre os estudos analisados por Al Rawi et al.¹⁸ (2021) sobre a diferença entre os níveis do miR-200a em pacientes saudáveis quando comparados a pacientes com CEC.¹⁸

Nesta mesma revisão, os níveis de miR-125a também apresentaram-se significativamente diminuídos na saliva de pacientes com CEC, isso porque sua presença em altos níveis prejudicaria a proliferação e invasão das células cancerosas devido a redução de proteínas oncogênicas como ERBB2 e ERBB3 em células SKBR3. Embora outros miRNAs tenham identificado patologias e/ou displasias de forma bem sucedida, o miR-184 foi único a apresentar uma diferença numérica expressiva entre OPMD displásicas e o CEC, tornando-o um bom biomarcador para distinguir entre CEC e OPMD.¹⁸

No trabalho feito por Gai et al.²³ (2018) conseguiu-se com sucesso o isolamento de vesículas extracelulares (VEs) da saliva de pacientes com CEC, essas estruturas são divididas em três tipos diferentes: microvesículas, exossomos e corpos apoptóticos. Sendo secretadas por diferentes tipos de células em diversas situações, quer sejam fisiológicas quer sejam patológicas, incluindo até mesmo células tumorais, a exemplo dos TEX já citados anteriormente. As VEs podem influenciar o ambiente tumoral, contribuindo para a progressão

do câncer, angiogênese e invasão.²³

Ao analisar a expressão de miRNAs nestas VEs salivares, identificou-se dois miRNAs superexpressos positivamente em pacientes com CEC quando comparados a controles saudáveis, foram eles miR-412-3p e miR-512-3p, com alta sensibilidade, especificidade e altos valores da AUC de 0,871 e 0,847, respectivamente. Outros dois miRNAs (miR-302b-3p e miR-517b-3p) se apresentaram como expressos exclusivamente em VEs de pacientes com CEC.²³

Kang, Eun, Lee²² (2021) investigaram 21 tipos de miRNAs e em sua metanálise apresentaram como resultados gerais uma precisão diagnóstica moderada para essa classe de biomarcadores salivares, com uma sensibilidade de 0,69, especificidade de 0,86 e um valor da AUC de 0,80 quando comparou pacientes com CEC e pacientes saudáveis. Tendo a especificidade mais alta, o miRNA coloca-se numa posição de biomarcador diagnóstico relativamente promissor, ademais, os resultados foram expressivos quando comparados à sensibilidade e especificidade agrupadas de DUSP-1 e S100P. Contudo, alguns artigos revisados por Kang, Eun, Lee²² (2021) apresentaram resultados inconsistentes, prejudicando a comprovação de uma diferença significativa.²²

Shaw et al.¹⁹ (2022) revisaram sistematicamente os biomarcadores: mRNA, miRNA, IL1- β , IL-8, S100P e DUSP-1. Analisando a sensibilidade, especificidade, precisão (valores da AUC) e razão de verossimilhança positiva e negativa (RVP e RPN). A maioria desses biomarcadores obteve boa precisão diagnóstica de forma geral. Dentre eles, os que tiveram uma maior sensibilidade e especificidade foram o mRNA (0,90 e 0,91, respectivamente) e o miRNA (0,91 e 0,91) estimadas por reação em cadeia da polimerase (PCR). Em contrapartida, os menores valores de sensibilidade e especificidade foram vistos para IL1- β a partir do ELISA.¹⁹

Devido ao fato de obterem melhores valores para sensibilidade e especificidade, o mRNA e o miRNA foram considerados, por esta revisão, como os melhores biomarcadores para detecção precoce do CEC. Seus valores altos da AUC, 0,96 para mRNA e 0,95 para miRNA, corroboram com o fato de serem os mais precisos, ademais, são mais fáceis de interpretar e significativos no correto diagnóstico da patologia alvo. Entretanto, para um diagnóstico preciso, os profissionais devem ter conhecimento aprofundado sobre os valores diagnósticos de cada biomarcador salivar antes de seu uso.¹⁹

Outros biomarcadores, como a citoqueratina 19 (CYFRA 21-1) e metaloproteinase de matriz 9 (MMP-9), tiveram seu potencial analisado em duas revisões sistemáticas. Na revisão feita por Al Ali, Walsh, Maranzano¹³ (2019) a sensibilidade e especificidade do

CYFRA 21-1 variaram de 0,84 a 0,94 e de 0,84 a 0,96, respectivamente. Já para a MMP-9, a sensibilidade e especificidade variaram de 0,76 a 1,00 e de 0,27 a 1,00, respectivamente. Entretanto, os estudos incluídos nesta revisão apresentaram alto risco de viés de seleção, além de conterem outros problemas como ausência de padronização na coleta, armazenamento e processamento das amostras; população restrita e falta de detalhamento na descrição dos estudos. Tais empecilhos prejudicaram a avaliação da expressão de MMP-9 e CYFRA 21-1, que se expressaram também em outras patologias e doenças inflamatórias, comprometendo seu uso como marcador diagnóstico de CEC.¹³

Contrariando Al Ali, Walsh, Maranzano¹³ (2019), dois estudos, Arroyo et al.²⁰ (2021) e Hema Shree et al.²¹ (2019), apresentaram resultados promissores para os biomarcadores CYFRA 21-1 e MMP-9, respectivamente. O marcador para MMP-9 foi altamente específico para a detecção de CEC, com especificidade e sensibilidade de 1,00 com valor da AUC de 0,99. Já para a CYFRA 21-1, os resultados foram diferentemente significativos entre o grupo de pacientes com CEC e pacientes com OPMD, como também provou ser a única proteína capaz de distinguir as OPMD e pacientes saudáveis, com sensibilidade de 0,9 e especificidade de 0,97. A citoqueratina 19 é estrutural e constitui as subunidades dos filamentos intermediários epiteliais, logo, está ligada às células escamosas do câncer.^{20,21}

O antígeno carcinoembrionário (CEA) também foi investigado por Arroyo et al.²⁰ (2021) juntamente com outros marcadores como a IL-6 e a IL-8, porém, a eficácia na diferenciação entre OPMD e CEC não foi totalmente esclarecida.²⁰

Além de evidenciar a MMP-9, Hema Shree et al.²¹ (2019) destacou biomarcadores como a quemerina (sensibilidade e especificidade de 1,00); miR-136, expresso positivamente com sensibilidade de 0,88 e especificidade de 1,00; miR-27B, expresso negativamente com sensibilidade de 0,85 e especificidade de 1,00.²¹

A quemerina pode aumentar a proliferação das células endoteliais e induzir a angiogênese nas células tumorais; as metaloproteinases (MMP-9) degradam matriz extracelular, processo característico do desenvolvimento do câncer, bem como liberação de fatores de crescimento e citocinas. Quanto aos miRNAs, sua expressão geralmente está associada ao CEC pelo fato de serem regiões genômicas comumente propensas à alterações durante o desenvolvimento tumoral.²¹

Dentre todos os artigos analisados, os biomarcadores salivares mais estudados foram as citocinas inflamatórias, principalmente IL-8, IL-6 e IL-1 β , e os miRNAs, principalmente os associados a VEs, que apresentaram resultados promissores no diagnóstico precoce do CO,

destaque para o CEC. Entretanto, os marcadores proteicos podem sofrer grande variação em seus níveis médios, tanto em pacientes oncológicos quanto em controles saudáveis, além de que biomarcadores que foram identificados em uma população podem não ser necessariamente adequados a outra população. Outros pontos interferentes nos resultados são as chances dos níveis de citocinas alterarem devido a potenciais fatores de confusão, como hábitos comportamentais e outras doenças bucais.^{13,15,24}

Para os miRNAs, não houve padronização da fonte salivar do biomarcador, grande parte deles detectou miRNAs na saliva total, em vez de VEs salivares, isso pode levar a resultados diferentes, uma vez que os miRNAs podem ser representados diferencialmente na saliva total e VEs salivares. Tudo isto corrobora com a exigência de que estudos bem delineados sejam feitos, em larga escala, com variação populacional (etnias diversas), acompanhamento intensivo, padronização na coleta de saliva, combinação apropriada de biomarcadores para o diagnóstico e sua confiabilidade, indicação do tipo de análise (técnica para processamento da saliva) e o estadiamento do câncer.²³

6 CONCLUSÃO

A possibilidade de uma triagem salivar para o diagnóstico precoce do CEC parece bastante realista por conter biomarcadores com valores promissores, além de ser uma técnica não invasiva, fácil de produzir e armazenar. Os biomarcadores que obtiveram melhores resultados foram as citocinas salivares (IL-6, IL-8 e IL1- β) e os miRNAs, contudo os miRNAs tiveram uma melhor precisão geral diagnóstica, com alta sensibilidade e especificidade. Apesar disso, mais estudos bem desenhados em larga escala com investigações detalhadas e acompanhamento vigoroso são necessários para validar a sensibilidade e especificidade desses biomarcadores como um método não invasivo para a detecção precoce do CEC.

REFERÊNCIAS

1. Manzano-Moreno FJ, Costela-Ruiz VJ, García-Recio E, Olmedo-Gaya MV, Ruiz C, Reyes-Botella C. Role of Salivary MicroRNA and Cytokines in the Diagnosis and Prognosis of Oral Squamous Cell Carcinoma. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021 Nov 11;22(22):12215.
2. Instituto Nacional do Câncer. Diagnóstico precoce do câncer de boca [Internet]. Rio de Janeiro: 2022 [cited 2023 Aug 29] 14p. Available from: <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//livro-diagnostico-precoce-cancer-boca-2022.pdf>
3. Cancer Fact Sheets. Lip, oral cavity [Internet]. Cancer Today – International Agency for Research on Cancer. Lyon: IARC; c2020 [cited 2023 Aug 29]. Available from: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/1-Lip-oral-cavity-fact-sheet.pdf>
4. Cancer Fact Sheets. Salivary glands [Internet]. Cancer Today – International Agency for Research on Cancer. Lyon: IARC; c2020 [cited 2023 Aug 29]. Available from: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/2-Salivary-glands-fact-sheet.pdf>
5. Instituto Nacional do Câncer. Estimativa 2023: incidência de câncer no Brasil [Internet]. Rio de Janeiro: 2023 [cited 2023 Aug 29]. Available from: <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//estimativa-2023.pdf>
6. Brener S, Jeunon FA, Barbosa AA, Grandinetti HA. Carcinoma de células escamosas bucal: uma revisão de literatura entre o perfil do paciente, estadiamento clínico e tratamento proposto. *Revista Brasileira de Cancerologia*. 2007 Mar 30;53(1):63–9.
7. Goldoni R, Scolaro A, Boccalari E, Dolci C, Scarano A, Inchingolo F, et al. Malignancies and Biosensors: A Focus on Oral Cancer Detection through Salivary Biomarkers. *Biosensors* [Internet]. 2021 Oct 15 [cited 2023 Aug 29];11(10):396.
8. Santos JC, Rocha CE, Costa RE, Pinto ES, Almeida AL, Teles JB, et al. Avaliação Clínico-epidemiológica de Pacientes com Carcinoma de Células Escamosas Oral. *Revista Brasileira de Cancerologia* [Internet]. 2022 Feb 15 [cited 2023 Aug 29];68(1):e-141584.
9. Ribeiro KR, Lira Júnior C, Marinho SA, Carvalho SH, Agripino GG, Sarmiento DJ. Epidemiological profile of young patients with squamous cell carcinoma in northeast Brazil. *Journal of Investigative and Clinical Dentistry*. 2019 Jul 27 [cited 2023 Aug 29];10(4).
10. Lousada-Fernandez F, Rapado-Gonzalez O, Lopez-Cedrun JL, Lopez-Lopez R, Muinelo-Romay L, Suarez-Cunqueiro M. Liquid Biopsy in Oral Cancer. *International Journal of Molecular Sciences* [Internet]. 2018 Jun 8 [cited 2023 Aug 29];19(6):1704.
11. Chattopadhyay I, Panda M. Recent trends of saliva omics biomarkers for the diagnosis and treatment of oral cancer. *Journal of Oral Biosciences*. 2019 Jun;61(2):84–94.

12. Melnyk B, Fineout-Overholt E. Evidence-based practice in nursing & healthcare: A guide to best practice. 3. ed. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2019. 39p.
13. AlAli AM, Walsh T, Maranzano M. CYFRA 21-1 and MMP-9 as salivary biomarkers for the detection of oral squamous cell carcinoma: a systematic review of diagnostic test accuracy. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2020 Feb.
14. Chiamulera MM, Zancan CB, Remor AP, Cordeiro MF, Gleber-Netto FO, Baptistella AR. Salivary cytokines as biomarkers of oral cancer: a systematic review and meta-analysis. *BMC Cancer*. 2021 Feb 27;21(1).
15. Ferrari E, Pezzi ME, Cassi D, Pertinhez TA, Spisni A, Meleti M. Salivary Cytokines as Biomarkers for Oral Squamous Cell Carcinoma: A Systematic Review. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021 Jun 24;22(13):6795.
16. Gaba FI, Sheth CC, Veses V. Salivary biomarkers and their efficacies as diagnostic tools for Oral Squamous Cell Carcinoma: Systematic review and meta-analysis. *Journal of Oral Pathology & Medicine*. 2018 Nov 2.
17. Sahu S, Routray S. Assessing the analytical efficacy of TEX in diagnosing oral cancer using a systematic review approach. *Journal of Oral Pathology & Medicine*. 2021 Feb;50(2):123–8.
18. Al Rawi N, Elmabrouk N, Abu Kou R, Mkadmi S, Rizvi Z, Hamdoon Z. The role of differentially expressed salivary microRNA in oral squamous cell carcinoma. A systematic review. *Archives of Oral Biology*. 2021 May;125:105108.
19. Shaw A, Garcha V, Shetty V, Vinay V, Bhor K, Ambildhok K, et al. Diagnostic Accuracy of Salivary Biomarkers in Detecting Early Oral Squamous Cell Carcinoma: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2022 May 1;23(5):1483–95.
20. Arroyo EA, Donís SP, Petronacci CM, Alves MG, Mendía XM, Fernandes D, et al. Usefulness of protein-based salivary markers in the diagnosis of oral potentially malignant disorders: A systematic review and meta-analysis. *Cancer Biomarkers*. 2021 Dec 1;32(4):411–24.
21. Hema Shree K, Ramani P, Sherlin H, Sukumaran G, Jeyaraj G, Don KR, et al. Saliva as a Diagnostic Tool in Oral Squamous Cell Carcinoma – a Systematic Review with Meta Analysis. *Pathology & Oncology Research [Internet]*. 2019 Apr 1 [cited 2021 Aug 16];25(2):447–53.
22. Kang JW, Eun YG, Lee YC. Diagnostic Value of Salivary miRNA in Head and Neck Squamous Cell Cancer: Systematic Review and Meta-Analysis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021 Jun 29;22(13):7026–6.
23. Gai C, Camussi F, Broccoletti R, Gambino A, Cabras M, Molinaro L, et al. Salivary extracellular vesicle-associated miRNAs as potential biomarkers in oral squamous cell carcinoma. *BMC Cancer*. 2018 Apr 18;18(1).

24. Singh P, Verma JK, Singh JK. Validation of Salivary Markers, IL-1 β , IL-8 and Lgals3bp for Detection of Oral Squamous Cell Carcinoma in an Indian Population. Scientific Reports. 2020 Apr 30;10(1).

ANEXOS

NORMAS DA REVISTA CIÊNCIA PLURAL-RCP

Acesso em: < <https://periodicos.ufrn.br/rcp/about/submissions> >

Condições para submissão

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

✓	A contribuição deverá ser original e inédita, e não estar sendo avaliada para publicação por outra revista; caso contrário, deve-se justificar em "comentários ao editor".
✓	O arquivo da submissão deverá estar em formato Microsoft Word, seguindo as informações contidas no Template disponível em download.
✓	O texto deverá estar em espaço 1,5 e usar fonte 12 Book Antiqua. As ilustrações, sejam figuras, tabelas e gráficos deverão ser inseridas no texto, à medida que forem citadas e não no final do documento na forma de anexos.
✓	O texto não deverá conter informações referentes aos autores, garantindo dessa forma a avaliação às cegas. Essas informações deverão ser inseridas nos metadados do artigo durante o processo de cadastro do trabalho no sistema OJS, além da Declaração de Contribuição dos Autores.
✓	O artigo está com todas as referências no formato recomendado (VANCOUVER), devidamente citadas no texto, além do seguimento de todas as instruções aos autores.

Diretrizes para Autores

Diretrizes para autores

ORIENTAÇÕES GERAIS

1 – A REVISTA CIÊNCIA PLURAL-RCP não publica artigos escritos exclusivamente por graduandos ou mestrandos.

Os créditos de autoria serão dados àqueles que contribuíram de forma substancial durante o desenvolvimento do artigo.

2 – A contribuição de cada um dos autores deve ser explicitada em declaração para esta finalidade e inserida no momento da submissão. Essa declaração é de redação livre, devendo conter as seguintes informações: **“Contribuição dos Autores: Concepção e planejamento do estudo: XXXX, YYYY, ZZZZ. Coleta, análise e interpretação dos dados: XXXX, YYYY, ZZZZ. Elaboração ou revisão do manuscrito: XXXX, YYYY, ZZZZ. Aprovação da versão final: XXXX, YYYY, ZZZZ. Responsabilidade pública pelo conteúdo do artigo: XXXX”**. Os colaboradores que não entram nessas categorias poderão ser mencionados nos agradecimentos.

3 – O número permitido de autores é de **no máximo sete (7)**. As credenciais como a **titulação principal de cada autor e instituição de origem**, devem vir seguidamente ao nome escrito por extenso, além do e-mail de correspondência. “Exemplo: Paulo Ricardo Guimarães Chaves - Pesquisador do Programa de Pós Graduação em Saúde Coletiva da Universidade Federal do Rio Grande do Norte-UFRN. Pós doutor em Antropologia pela Universidade de Coimbra-Portugal. E-mail: prgchaves@gmail.com”

4 – Os trabalhos submetidos para avaliação deverão seguir as instruções do TEMPLATE, o qual encontra-se disponível para download na página principal. **Trabalhos que não estejam inseridos no Template, não serão avaliados.** O arquivo do Template é editável, o que significa **que não deverá ser salvo no formato PDF**. Essa é tarefa da edição. O Template não poderá ser alterado pelos autores em qualquer situação, nem deletada nenhuma imagem que faz parte da sua estrutura ou design.

5 – Os trabalhos poderão ser publicados em língua portuguesa, ou em língua inglesa ou em língua espanhola. **Nos metadados, o título deverá ser inserido em maiúsculo e na língua que o artigo foi elaborado.** O primeiro resumo a ser colocado nos metadados também deve ter o mesmo idioma que foi escolhido para o artigo.

6 – Os trabalhos serão submetidos à aprovação de especialistas reconhecidos nos temas tratados. **Os trabalhos serão enviados para avaliação sem a identificação de autoria** para garantir a revisão por pares e duplo-cego.

7 – Os trabalhos serão encaminhados aos avaliadores no menor tempo possível, dentro do cronograma de trabalho da RCP. O processo de seleção de artigos poderá envolver avaliação de especialistas ad hoc e do Comitê Editorial quando se fizer necessário.

8 – Os autores devem indicar a agência financiadora da pesquisa quando for o caso.

9 – As opiniões emitidas pelos autores dos artigos são de sua exclusiva responsabilidade, nem sempre representando a opinião da Editora Científica e Conselho Editorial da Revista.

10 – Todos os **autores e coautores** do trabalho submetido, qualquer que seja a categoria (artigo, relato de experiência, etc.), **devem possuir cadastro no ORCID (<https://orcid.org/>)** e informá-lo no campo correspondente no ato da submissão.

INSTRUÇÕES SOBRE OS MANUSCRITOS

A Revista Ciência Plural-RCP, aceita submissões de artigos originais em português, inglês e espanhol, relatos de experiência, análise documental, revisão integrativa, artigos de revisão sistemática e meta-análise (estudos quantitativos), artigos de revisão sistemática e metassíntese (estudos qualitativos), relatos de casos clínicos e números especiais (anais de eventos). Para ser considerado publicável na RCP em qualquer uma dessas categorias **o artigo deverá ter um mínimo de 10 páginas**, excluindo as Referências (**em número mínimo de 10**). Artigos menores que 10 páginas, segundo nossas diretrizes são considerados Resumos expandidos ou ampliados.

Artigos originais

São relatos de trabalho original, aqueles que incluem estudos observacionais, estudos experimentais ou quase-experimentais, avaliação de programas, análises de custo-efetividade, análises de decisão e estudos sobre avaliação de desempenho de testes diagnósticos para triagem populacional, destinados à divulgação de resultados de pesquisas inéditas de temas relevantes para a área pesquisada.

Relato de experiência

O relato de experiência é um texto que descreve precisamente uma dada experiência que possa contribuir de forma relevante para sua área de atuação. Ele traz as motivações ou metodologias para as ações tomadas na situação e as considerações e impressões que a vivência trouxe àquele que a viveu. O relato é feito de modo contextualizado, com objetividade e aporte teórico.

Análise documental

A análise documental é um tipo de pesquisa que utiliza fontes primárias, isto é, dados e informações que ainda não foram tratados científica ou analiticamente. Os documentos analisados podem ser atuais ou antigos, e ser usados para contextualização histórica, cultural, social e econômica de um lugar ou grupo de pessoas, situação, evento, agravo e contextualização em determinado momento da história.

Revisão integrativa

Revisão integrativa é um método que proporciona a síntese de conhecimento e a incorporação da aplicabilidade de resultados de estudos significativos na prática. Tem o potencial de promover os estudos de revisão em diversas áreas do conhecimento, mantendo o rigor metodológico das revisões sistemáticas. O método de revisão integrativa permite a combinação de dados da literatura empírica e teórica que podem ser direcionados à definição de conceitos, identificação de lacunas nas áreas de estudos, revisão de teorias e análise metodológica dos estudos sobre um determinado tópico. A combinação de pesquisas com diferentes métodos combinados na revisão integrativa amplia as possibilidades de análise da literatura.