

BIOMARCADORES SALIVARES DO CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS

Salivary biomarkers of squamous cell carcinoma



Autores:

Helba Pires Miranda

Cirurgiã Dentista - Universidade Salgado de Oliveira

Bruno Pires Miranda

Mestre em Odontologia - UFF Especialista em implantodontia - UFF

Monica Lage da Rocha

Doutora em Patologia-Buco- Dental - UFF

Mestre em Patologia - UFF

William Napolitano Correa

Mestre em Patologia-Buco-Dental - UFF

Especialista em Estomatologia - UFRJ

Prof. Dr. Marcos da Veiga Kalil

Professor Adjunto do Departamento de Odontoclínica - UFF

Doutor em endodontia - UERJ Especialista em implantodontia, Especialista em periodontia,

Especialista em radiologia odontológica e Especialista em gestão da educação - UFF

Mestre em clínica odontológica - UFF

Endereço para correspondência:

Bruno Pires Miranda

Rua Desembargador Lima Castro, 19 - sobrado - Fonseca, Niterói - RJ CEP: 24.120-350

Telefone: (21) 99826-0202

E-mail: brunopiresmiranda7@gmail.com



Palavras-chaves: Carcinoma de células escamosas. Boca. Biomarcadores. Saliva. Saúde bucal.

Keywords: Carcinoma, Squamous Cell. Mouth. Biomarkers. Saliva. Oral health.

INTRODUÇÃO

O carcinoma de células escamosas (OSCC) é uma neoplasia maligna que atinge a cavidade oral, lábios e orofaringe com uma das maiores taxa de mortalidade em todo o mundo, quando em comparação com outros carcinomas, o que o torna um problema de saúde pública (MORO, 2018). Devido à sua grande prevalência, os pesquisadores buscam por mecanismos para aprimorar o diagnóstico da doença em sua fase inicial, no intuito de possibilitar melhor qualidade de vida e sobrevida a esses pacientes (CHENG et al., 2014).

Tem-se desenvolvido estudos através da expressão de proteínas, envolvendo o mecanismo biomolecular da carcinogênese oral na busca de identificação de biomarcadores que tenham potencial preditivo e um bom prognóstico para OSCC (CARVALHO; OLIVEIRA, 2015; LOUSADA-FERNANDEZ et al., 2018).

Em uma revisão sobre o genoma salivar do câncer oral, este destacou-se justamente pelo fato de suas proteínas estarem localmente expressas (SHAH et al., 2011), tornando seus biomarcadores salivares de fácil e rápida coleta, já que a proliferação desordenada de células malignas deixa derivados de DNA, RNA, vesículas (exossomos) e marcadores proteicos nos fluidos creviculares, podendo demonstrar de forma preventiva o câncer. Com isso, esses biomarcadores podem ser identificados na fase inicial da doença, ao contrário do exame clínico, já que as manifestações clínicas são tardias, o que gera um prognóstico ruim (LOUSADA-FERNANDEZ et al., 2018).

Diante desse quadro, o objetivo deste trabalho foi fazer uma revisão de literatura acerca do papel dos biomarcadores tumorais e discutir sobre a atual situação do câncer bucal, justificando o uso de biomarcadores salivares e entendendo seu papel no diagnóstico precoce.

Para isso foi feita uma busca detalhada nas bases de dados Pubmed-Medline, Biblioteca Virtual em Saúde, Lilacs e Scielo, para identificar os mais recentes

biomarcadores citados nas literaturas utilizando as palavras-chaves: carcinoma, biomarcadores, saliva.

Também foram incluídos dados coletados da Organização Mundial da Saúde e do Instituto Nacional do Câncer.

REVISÃO DE LITERATURA

Situação Atual do OSCC

O OSCC, também conhecido como carcinoma epidermoide, é uma neoplasia maligna de origem do epitélio de revestimento com modificação e proliferação desordenada de células, e corresponde 94% de todas as malignidades da cavidade oral (CHI, 2009).

A carcinogênese oral é um processo de múltiplos estágios que apresenta uma alta tendência de recorrer localmente ou disseminar-se por metástase, surgindo em locais distantes do de sua origem, mesmo após as terapias locais. Estas muitas vezes precedem de forma concomitante e agressiva onde as células tumorais malignas se proliferam e exercem perda de controle do ciclo celular (SINEVICI; O'SULLIVAN, 2016).

O OSCC é uma das doenças com maiores taxas de mortalidade e incidência no mundo. Em 2018, dados coletados pelo GLOBOCAN 2018 (um banco de dados online que fornece estimativas de incidência e mortalidade em 185 países para 36 tipos de câncer) foram compilados e divulgados pela Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC), no intuito de prever a incidência global de câncer oral em 2018. Estimou-se 18,1 milhões de novos casos de câncer (17 milhões excluindo câncer de pele não melanoma) e 9,6 milhões de mortes por câncer (9,5 milhões excluindo câncer de pele não melanoma) em todo o mundo em 2018 (FERLAY et al., 2019).

Até 2040, a carga global deverá crescer para 27,5 milhões de novos casos de câncer e 16,3 milhões de mortes, simplesmente devido ao crescimento e envelhecimento da população. A carga futura provavelmente será ainda maior devido ao aumento da prevalência de fatores que aumentam o risco, como tabagismo, dieta não saudável, inatividade física e menos partos, em países em transição econômica (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2019).

No Brasil, apenas em 2015, ocorreram 5.898 óbitos decorrentes de OSCC, e estimam-se 14.700 casos novos de câncer da cavidade oral em cada ano do biênio 2018-2019, ocupando a 5ª posição mais frequente entre todos os cânceres entre os homens e a 12ª entre as mulheres. Devido a esse aumento, é considerado um problema de saúde pública (INCA, 2018).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS, 2020) apesar de muitos progressos na prevenção, tratamento e nos cuidados paliativos da doença, as taxas de incidência e mortalidade continuam altas, devido ao acesso a esses avanços tecnológicos serem desiguais em muitos países, fazendo com que o câncer continue sendo diagnosticado muito tarde. Além disso, o tratamento é caro ou inacessível e serviços paliativos não estão disponíveis para todos.

O diagnóstico tardio da doença é a grande razão de baixas taxas de sobrevivência, sendo de cerca de 62% em média, cinco anos após o diagnóstico (CHENG et al., 2014). Apesar da gravidade patológica a descoberta precoce da doença pode amenizar o sofrimento do paciente e possibilitar um tratamento menos invasivo com melhor prognóstico (SAXENA et al., 2017).

Saliva como Meio Diagnóstico

A saliva é um fluido biológico complexo encontrado na cavidade oral, constituído por 99% de base de água, 0,3% de proteínas e 0,2% de substâncias inorgânicas (sódio, potássio, cálcio, magnésio, cloretos e carbonatos) e orgânicas (amilases, peroxidase, lipase, mucinas, lisozimas), com pH em torno de 6,7, ou seja, normalmente ácido, sendo produzida pelas três principais glândulas salivares (parótida, submandibular e sublingual) e glândulas menores (labial, lingual, palatino e tecidos bucal). Estima-se que um indivíduo saudável secrete, diariamente, em torno de 1,5 litro de saliva (KACZOR-URBANOWICZ et al., 2016). Também mantém a integridade dos elementos dentários, através da capacidade tamponamento salivar do pH e remineralização. Ainda é composta por citocinas, enzimas, hormônios, anticorpos, antibacterianos e antivirais, que são transportados pelo sangue até a ultrafiltração das glândulas salivares, usando vias paracelulares ou através do sulco gengival (KHURSHID et al., 2016). Portanto, a saliva contém diferentes tipos de moléculas, que são facilmente coletadas, podendo ser utilizada como meio de diagnóstico (KHAN et al., 2018).

A biópsia líquida, onde se coleta os fluidos corporais como exame diagnóstico, é uma técnica ainda em desenvolvimento, mas que começou a ser aplicada em alguns hospitais em meados de 2016, despertando interesse em profissionais da saúde e pacientes. Principalmente quando se trata da vigilância de um carcinoma (CHENG et al., 2019).

A biópsia líquida visa fornecer uma alternativa através de biomarcadores, que podem estar presentes nos fluidos corporais como sangue, saliva e urina, os quais dizem muito a respeito da saúde sistêmica e geral do paciente. Todavia, um maior impulso dos pesquisadores no desenvolvimento de estudos sobre biomarcadores salivares se justifica pela vantagem de ser um método não invasivo e com grande perspectiva de diagnosticar precocemente algumas patologias graves, como o OSCC (BANO; DAVID; INDIRA, 2015; RADHIKA et al., 2016).

Biomarcador pode ser definido como sendo uma molécula biológica possível de ser encontrada no sangue ou em outros fluídos corporais, nos produtos decorrentes do metabolismo e nos tecidos. São moléculas capazes de distinguir processos compatíveis com saúde ou doença (GUPTA.2015).

Os biomarcadores foram recentemente definidos como uma estrutura ou substância apta a ser quantificada e avaliada para demonstrar, no organismo, seus produtos derivados, com a capacidade de identificar uma determinada doença, e monitorar o estado de saúde do indivíduo e reconhecer a resposta do organismo a uma intervenção terapêutica (BANO et al., 2015).

No entanto, a dinâmica do gradiente da abundância de proteínas entre tecido (tumor invasivo e tumor interno) e saliva, a abundância de proteínas na saliva e sua associação com o prognóstico não estão necessariamente associadas a proximidade do epitélio oral alterado (CARNIELLI et al, 2018).

De qualquer forma, a saliva como meio diagnóstico é um método não invasivo que não confere nenhum desconforto ao paciente, podendo ser realizado periodicamente, sendo de bom aceite, principalmente pelos pacientes geriátricos e pediátricos, que se apresentam como os menos cooperativos (WANG et at., 2016), pois como não há necessidade de usar agulhas para a coleta de amostra, é mais confortável para o paciente, uma vez que reduz os níveis de ansiedade (KACZOR- URBANOWICZ et at., 2017).

É de fácil de armazenamento porque, ao contrário do sangue, não coagula. É mais seguro para o técnico/profissional, pois possui baixo risco de

contaminação (WANG et al., 2016), já que o risco de lesão percutânea e autocontenção é evitado, por não utilizar agulhas (KACZOR- URBANOWICZ et al., 2017).

Portanto, há muitas vantagens de usar a saliva como diagnóstico, pois sua coleta é rápida, fácil, barata e não invasiva, sendo fácil de armazenar e de transportar, não coagula como o sangue e pode refletir o estado atual de saúde de um indivíduo (KACZOR-URBANOWICZ et al., 2017).

Assim, a saliva serve como meio de diagnóstico para diversos tipos de câncer, não apenas o OSCC, entre eles o câncer de esôfago, estômago, intestino grosso, ovário, endométrio, pâncreas, gastrointestinais, pulmão e mama, porém com anticorpos tumorais diferentes (KACZOR-URBANOWICZ et al., 2017)

Porém, há alguns problemas e desafios que precisam ser solucionados para total estabelecimento deste método. No uso clínico incluem: a falta de padronização para coleta, processamento e armazenamento das amostras de saliva; e ampla variabilidade de níveis de potenciais biomarcadores nos indivíduos não- cancerígenos que têm uma doença inflamatória oral crônica (AZIZ et al., 2015).

DISCUSSÃO

O OSCC é uma das neoplasias malignas em que a biopsia líquida fornece uma vantagem a mais, devido à sua estreita relação com o câncer bucal e com proteínas expressas localmente, que estão disponíveis na saliva, como a metaloproteinase de matriz (MMP) e interleucina (IL), que fazem da saliva uma poderosa ferramenta de investigação de escolha como potenciais biomarcadores para o câncer bucal (KHAN et al., 2018).

Existem duas formas de estudar o papel da biomarcadores de OSCC: pelo grau de displasia epitelial ou pelo padrão distributivo dos biomarcadores (RADHIKA et al., 2016). A classificação se baseia, em um primeiro momento, em mudanças no DNA celular que conduzem a transcrições alteradas de RNA e, conseqüentemente, levam a alterações na quantidade das proteínas que são expressas no meio intracelular, extracelular e na superfície da célula (BANO et al., 2015.; RADHIKA et al., 2016). A Tabela 1 apresenta as formas que podem ser estudados os biomarcadores: baseados em biomoléculas ou no estado de doença.

Tabela 1: Formas de serem estudados os biomarcadores

Baseado em biomoléculas	Baseado no estado de doença
Biomarcadores de DNA	Biomarcadores de previsão
Biomarcadores de RNA	Biomarcadores de detecção
Biomarcadores de proteínas	Biomarcadores de diagnóstico
Biomarcadores de Glyco	Biomarcadores prognósticos

Fonte: Elaborada pelos autores.

Atualmente existem mais de 100 biomarcadores para o OSCC referenciados na literatura. Foram selecionados alguns dos principais, segundo RADHIKA et al. (2016), como visto na tabela 2.

Tabela 2: Biomarcadores para o OSCC.

Marcadores DNA	Marcadores RNA	Marcadores proteicos
Perda alélica no cromossomo. Mutações do DNA mitocondrial. Amplificação do gene da ciclina D1. Aumento do marcador Ki67. Presença de genomas de HPV.	Presença de IL-8, IL-1B Proteína de ligação ao cálcio S100 P (S100 P) Família de histonas H3 3A (H3F3A) MiR-125, miR-200, miR-31	Aumento na IL-6, IL 8, CD-44 Inibidores da apoptose (IAP) Antígeno associado ao SCC (SCC-Ag) Defensina-1 Antígeno Carcio embrionário - Marcador de tumor sérico (CEA125) (cyfra-21) MMPs - (2,9) - α amilase, fator de necrose tumoral - TNF- α , Catalase, transferrina, α amilase.

Fonte: Adaptado e modificado de Radhika et al., 2016.

Os estudos já efetuados, em sua maioria, tiveram base em comparação de indivíduos diagnosticados com lesões pré-malignas e malignas e indivíduos saudáveis, sendo relevante o nível das concentrações dos biomarcadores (BELLAIRS; HASINA; AGRAWAL, 2017).

Por exemplo, as defensinas são peptídeos catiónicos, produzidas pelos tecidos orais e glândulas salivares sendo atribuídas na saliva e no fluido crevicular, podendo ser detectadas mesmo em seus estágios iniciais. São antimicrobianas e citotóxicas (RADHIKA et al., 2016). Estas proteínas são encontradas em grânulos azurofílicos de leucócitos polimorfonucleares. Estas mostraram ter uma forte associação com maior risco de desenvolvimento de OSCC (GUPTA, 2017).

A Ciclina D1, proteína que controla a proliferação e diferenciação celular, fator de transformação do crescimento (TGF- P), é considerado o ponto de partida das alterações comuns presentes no DNA, displasias e células cancerígenas (BELLAIRS; HASINA; AGRAWAL, 2017).

Entre todos os possíveis fatores etiológicos do OSCC, o papilomavírus humano (HPV) desempenha um papel significativo. Assim, a presença de HPV, bem como do vírus Epstein- Barr (EBV), foram identificadas como possíveis marcadores de DNA na detecção de OSCC e progressão do tumor (GUPTA, 2017).

Outros biomarcadores salivares que se encontram significativamente alterados em pacientes com OSCC são os inibidores de apoptose, SCC-Ag, RNS, IGF, lactato desidrogenase e imunoglobulina G, antígeno específico do polipeptídeo tecidual (PPS), antígeno carcinoembrionário e carcinoantígeno (CA19-9, 128). (GUPTA, 2017). Segundo Gupta (2017) e Saxena et al. (2017), o gene p 53 é um achado comum em 50 a 70% das células cancerígenas, e é o promotor de hipermetilação.

O número de marcadores proteicos, expressos na saliva, que sofrem alterações durante o desenvolvimento de lesões pré-malignas e malignas de câncer oral é muito elevado (KHAN et al., 2016). Sabe-se que as Citoquinas, de uma forma geral, nas condições inflamatórias induzem o processo de cicatrização e reparação tecidual. Quando se está perante células cancerígenas, isso não acontece, pois as citoquinas diminuem a resposta imune, inibindo a reparação tecidual e influenciando de uma forma negativa os mecanismos de regulação, proliferação e diferenciação celular promovendo o processo de angiogênese na progressão da malignização (BANO et al., 2015). Esta proteína está associada ao processo de carcinogênese com a proposta de marcadores prognósticos em pacientes portadores de lesões orais malignas e pré-malignas, que apresentam elevados níveis destas proteínas no sangue (SAHIBZADA et al., 2017).

Os exossomos salivares são pequenas vesículas extracelulares com 30-100nm de diâmetro, consideradas mediadores/sinalizadores intercelulares, agindo como biomarcadores do câncer (CHENG; NONAKA; WONG, 2019). Segundo Kaczor-Urbanowicz et al. (2017), esses exossomos salivares (Evs) podem ser o caminho por onde a informação está sendo levada de uma parte do corpo para outra. Fator importante para transferências de proteínas e RNAs (mRNA e microRNA) entre as células, como base de vários processos fisiológicos e patológicos. As Evs incluem três subgrupos: exossomos, microvesículas e corpos apoptóticos (os quais são fragmentos dos núcleos das mutações cancerosas) e proteínas e materiais genéticos (CHENG; NONAKA; WONG, 2019).

A Interleucina (IL) 4 está envolvida na invasão e metástase tumoral (AZIZ et al., 2015). A IL-6 e 8 estão envolvidas no processo de desenvolvimento de lesões orais pré- malignas, demonstrando a existência de maior expressão na saliva dos indivíduos diagnosticados com leucoplasia, ou seja, detecção precoce de lesões pré-malignas (SADAKSHARAM, 2015). Lembrando que a presença de úlceras aftosas e doença periodontal podem influenciar de forma negativa (AZIZ et al., 2015; SAHIBZADA et al., 2017).

O gene CD 44 codifica diferentes proteínas isofórmicas que estão relacionadas ao processo de malignização. No entanto, estes variam de acordo com o tipo de câncer. No caso do câncer da cavidade oral, estão associados a neoplasias malignas (BASAKRAN, 2015).

Vários estudos já demonstraram a utilidade da saliva para o diagnóstico e condições reais da saúde do indivíduo, como pacientes portadores de Diabetes mellitus, Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), doença cardíaca, doenças auto-imunes e uso de tabaco. Assim, muitos investigadores vêm tentando usar a saliva para avaliar a saúde (CHENG; NONAKA; WONG, 2019).

Os estudos proteômicos da saliva revelaram que 20 a 30% do proteoma salivar espelha o proteoma plasmático, indicando que uma porção substancial de constituintes salivares são derivados do sangue. Assim, a sobreposição significativa entre a saliva e o sangue devido a suas interações fisiológicas indicam uma aproximação alternativa potencial para diagnosticar doenças sistêmicas (KHAN et al., 2018).

CONCLUSÕES

A biópsia líquida surgiu nas últimas décadas com a proposta de ser não invasiva para uso na medicina personalizada e preventiva. Assim, a detecção e análise dos biomarcadores representam uma oportunidade promissora para o diagnóstico precoce do câncer, para investigação molecular, monitoramento da resposta ao tratamento e detecção de doença residual.

Em comparação com outros tipos de câncer, o oral tem como vantagens sua localização. Todavia, o impacto das biópsias líquidas no exame clínico ainda é restrito, exigindo mais pesquisas para uma implementação efetiva tanto dos profissionais, como em equipamentos para os exames, o que facilitaria para os médicos e cirurgiões dentistas, possibilitando uma condição melhor de tratamento.



Mais informações e conhecimento da biologia oral e da origem dos biomarcadores circulantes específicos são fundamentais para o desenvolvimento de terapias eficazes para o manejo do câncer bucal. A biópsia líquida ainda está no começo, então os esforços da pesquisa devem ser direcionados para realizar estudos prospectivos multicêntricos que investiguem o papel dos biomarcadores salivares para melhor prognóstico destes pacientes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMERICAN CANCER SOCIETY. Global cancer facts & figures. Disponível em: <<https://www.cancer.org/research/cancer-facts-statistics/global.html>>. Acesso em: 13 abr. 2021.
2. AZIZ, S.; AHMED, S.S.; ALI, A.; KHAN, F.A.; ZULFIQAR, G.; IQBAL, J. et al. Salivary immunosuppressive cytokines IL-10 and IL-13 are significantly elevated in oral squamous cell carcinoma patients. *Cancer Investigation*, v.33, n.7, p.318-328, 2015.
3. BANO, S.; DAVID, M.P.; INDIRA, A.P. Salivary biomarkers for oral squamous cell carcinoma: an overview. *Indian Association of Oral & Maxillo-facial Pathologists. IJSS Case Reports and Reviews*, v.1, n.8, p.39-45, 2015.
4. BASAKRAN, N.S. CD44 as a potential diagnostic tumor marker. *Saudi Medical Journal*, v.36, n.3, p.273-279, 2015.
5. BELLAIRS, J.A.; HASINA, R.; AGRAWAL, N. Tumor DNA: an emerging biomarkers in head and neck cancer. *Cancer Metastasis Reviews*, v.36, n.3, p.515-523, 2017.
6. CARNIELLI, C.M.; MACEDO, C.C.S.; DE ROSSI, T.; GRANATO, D.C.; RIVERA, C.; DOMINGUES, R.R. et al. Combining discovery and targeted proteomics reveals a prognostic signature in oral cancer. *Nature Communications*, n.9, ID:3598, 2018.
7. CARVALHO, J.; OLIVEIRA, C. Extracellular vesicles-powerful markers of cancer evolution. *Frontiers in Immunology*, v.5, article 685, p.1-2, 2015.



8. CHENG, J.; NONAKA, T.; WONG, W.T. Salivary exosomes as nanocarriers for cancer biomarker delivery. *Materials*, v.12, n.4, p.654-671, 2019.
9. CHENG, Y.S.L.; JORDAN, L.; GORUGANTULA, L.M.; SCHNEIDERMAN, E.; CHEN, H.S.; REES, T. Salivary Interleukin-6 and -8 in patients with oral cancer and patients with chronic oral inflammatory diseases. *Journal of Periodontology*, v.85, n.7, p.956-965, 2014.
10. CHI, A.C. Patologia epitelial. In: NEVILLE, B.W.; DAMM, D.D.; ALLEN, C.M.; BOUQUOT, J.E. *Patologia oral e maxilofacial*. 3a ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009. Cap.10, p.363-454.
11. FERLAY, J.; COLOMBET, M.; SOERJOMATARAM, I.; MATHERS, C.; PARKIN, D.M.; PINEROS, M. et al. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. *International Journal of Cancer*, v.144, n.8, p.1941-1953, 2019.
12. GUPTA, P. Role of salivary biomarkers for early detection of oral squamous cell carcinoma. *International Journal of Advanced & Integrated Medical Sciences*, v.2, n.3, p.155-160, 2017.
13. INCA - Instituto Nacional de Câncer. *Estimativa 2018: incidência de câncer no Brasil*. Rio de Janeiro: INCA, 2017.
14. KACZOR-URBANOWICZ, K.E.; CARRERAS-PRESAS, C.M.; ARO, K.; TU, M.; GARCIA-GODOY, F.; WONG, D.T. Saliva diagnostics - Current views and directions. *Experimental Biology and Medicine*, v.242, n.5, p.459-472, 2017.
15. KHAN, M.R.S.; SIDDIKA, F.; XU, S.; LIU, X.L.; SHUANG, M.; LIANG, H.F. Diagnosing oral squamous cell carcinoma using salivary biomarkers. *Bangabandhu Sheikh Mujib Medical University*, n.11, p.1-10, 2018.
16. KHURSHID, Z.; ZOHAIB, S.; NAJEEB, S.; ZAFAR, M.S.; SLOWEY, P.D.; ALMAS, K. Human saliva collection devices for proteomics: an update. *International Journal of Molecular Sciences*, v.17, n.6, p.846, 2016.



17. LOUSADA-FERNANDEZ, F.; RAPADO-GONZALEZ, O.; LOPEZ-CEDRUN, J.L.; LOPEZ-LOPEZ, R.; MUINELO-ROMAY, L.; SUAREZ-CUNQUEIRO, M.M. Liquid biopsy in oral cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, v.19, n.6, p.1704-1718, 2018.
18. MORO, J.S.; MARONEZE, M.C.; ARDENGHI, T.M.; BARIN, L.M.; DANESI, C.C. Câncer de boca e orofaringe: epidemiologia e análise da sobrevida. *Einstein (São Paulo)*, v.16, n.2, eAO4248, 2018.
19. OMS - Organização Mundial de Saúde. Iniquidades sociais e dos cuidados de saúde na incidência e mortalidade por câncer. Disponível em: <<https://doi.org/10,32635/2176-9745.RBC.2018v64n4.211>>. Acessado em: 13 abr. 2021.
20. RADHIKA, T.; NADEEM, J.; NITHYA, S.; MUTHUMEENAKSHI, R.M. Salivary biomarkers in oral squamous cell carcinoma - an insight. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*, v.6, (Suppl), p.51-54, 2016.
21. SADAKSHARAM, J. Advances in diagnosis of oral potentially malignant disorders: a review. *Journal of Indian Academy of Oral Medicine and Radiology*, n.27, p.169-170, 2015.
22. SAHIBZADA, H.A.; KHURSHID, Z.; KHAN, R.S.; NASEEM, M.; SIDDIQUE, K.M.; MALI, M. et al. Salivary IL-8, IL-6 and TNF-a as potential diagnostic biomarkers for oral cancer, *Diagnostics (Basel)*, v.7, n.2, pii: E21, 2017.
23. SAXENA, S.; SANKHLA, B.; SUNDARAGIRI, K.; BHARGAVA, A. A review of salivary biomarker: a tool for early oral cancer diagnosis. *Advanced Biomedical Research*, v.6, n.1, p.90, 2017.
24. SHAH, F.D.; BEGUM, R.; VAJARIA, B.N.; PATEL, K.R.; PATEL, J.B.; SHUKLA, S.N.; et al. A review on salivary genomics and proteomics biomarkers in oral cancer. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, v.26, n.4, p.326-334, 2011.
25. SINEVICI, N; O'SULLIVAN, J. Oral cancer: deregulated molecular events and their use as biomarkers. *Oral Oncology*, n.61, p.12-18, 2016.



26. WANG, K.; LU, W.; TU, Q.; GE, Y.; HE, J.; ZHOU, Y. et al. Preliminary analysis of salivary microbiome and their potential roles in oral lichen planus. *Scientific Reports*, n.6, Id:22943, 2016.
27. ZORZETTO, R. No sangue, mais pistas sobre o câncer. *Pesquisa Fapesp*, n.253, p.51-55, 2017.