

Biomarcadores salivares no diagnóstico e no monitoramento de patologias orais e sistêmicas

Biomarcadores salivares en el diagnóstico y monitoreo de enfermedades bucales y sistémicas

Salivary biomarkers for the diagnosis and monitoring of oral and systemic diseases

Manoel Pereira de Lima¹ ✉ , Ruth Venâncio Fernandes Dantas¹ , Jefferson Lucas Mendes¹ , Raimundo Euzébio da Costa Neto¹ , José Almeida de Lima Júnior¹ , Smyrna Luiza Ximenes de Souza¹ 

¹ Universidade Estadual da Paraíba, Departamento de Odontologia. Brasil.



Como citar: Pereira de Lima M, Fernandes Dantas RV, Mendes JL, da Costa Neto RE, Almeida de Lima Júnior J, Ximenes de Souza SL. Biomarcadores salivares no diagnóstico e no monitoramento de patologias orais e sistêmicas. Rev Cubana Estomatol. 2020;57(1):e2139

RESUMO

Introdução: A saliva humana é constituída de um vasto arsenal de produtos secretórios com imenso potencial informativo e útil para detecção de determinadas patologias. A facilidade de obtenção e a especificidade dos biomarcadores, faz desta uma importante ferramenta clínica como método diagnóstico. **Objetivo:** Verificar, através de uma revisão de literatura, a utilização da saliva como método diagnóstico para doenças orais e sistêmicas. **Métodos:** Foram selecionados artigos publicados em inglês, no banco de dados online PubMed com descritores "saliva", "biomarkers" e "diagnosis", entre o período de 2013 a setembro 2018. Foram incluídos artigos no idioma inglês, dos últimos 5 anos. Foram obtidos 245 artigos. O estudo se conteve em 17 destes. **Análise e integração da informação:** Foi notória a aplicabilidade da saliva como método diagnóstico para uma variedade de doenças, entre as quais se podem citar: doenças bacterianas como a cárie dentária, pela detecção do Streptococcus mutans e Lactobacillus spp.; doenças autoimunes como a Síndrome de Sjögren, indicada não apenas pela redução do fluxo salivar, como também pelo aumento na concentração de sódio, cloro, Imunoglobulina A (IgA), Imunoglobulina G (IgG), e Prostaglandina E2 (PGE2); doenças virais como no diagnóstico auxiliar do HIV 1 e 2 pela expressão de IgG e também no diagnóstico precoce de enfermidades malignas como o carcinoma de células escamosas e o câncer de mama, pela detecção de anticorpos frente à proteína p53 e pela presença de marcadores tumorais como o c-erbB-2. **Conclusão:** O diagnóstico molecular na cavidade oral por meio da saliva mostra ser um método simples, não invasivo e muito promissor para o diagnóstico e monitoramento de inúmeras patologias. **Palavras-chave:** saliva; biomarcadores; diagnóstico.

RESUMEN

Introducción: La saliva humana está constituida de un considerable arsenal de productos secretorios con inmenso potencial informativo y útil para la detección de determinadas

enfermedades. La facilidad de obtención y la especificidad de los biomarcadores, hace de esta una importante herramienta clínica como método diagnóstico. **Objetivo:** Verificar, por medio de una revisión bibliográfica, la utilización de la saliva como método diagnóstico para enfermedades bucales y sistémicas. **Métodos:** Se seleccionaron artículos publicados en inglés, en la base de datos online PubMed con descriptores "saliva", "biomarkers" y "diagnosis", entre el período de 2013 a septiembre de 2018. Se incluyeron artículos en idioma inglés, de los últimos 5 años. Se obtuvieron 245 artículos. El estudio se circunscribió a 17. **Análisis e integración de la información:** Se observó la aplicabilidad de la saliva como método diagnóstico para una variedad de enfermedades, entre las que cabe citar: enfermedades bacterianas como la caries, por la detección del *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* spp.; las enfermedades autoinmunes como el síndrome de Sjögren, indicado no solo por la reducción del flujo salivar, sino también por el aumento en la concentración de sodio, cloro, Inmunoglobulina A (IgA), Inmunoglobulina G (IgG), y Prostaglandina E2 (PGE2); las enfermedades virales como el diagnóstico auxiliar del VIH 1 y 2 por la expresión de IgG y también el diagnóstico precoz de enfermedades malignas como el carcinoma de células escamosas y el cáncer de mama, por la detección de anticuerpos contra la proteína p53 y por la presencia de marcadores tumorales como el c-erbB-2.

Conclusiones: El diagnóstico molecular en la cavidad bucal por medio de la saliva muestra ser un método simple, no invasivo y muy prometedor para el diagnóstico y monitoreo de innumerables enfermedades.

Palabras clave: saliva; biomarcadores; diagnóstico.

ABSTRACT

Introduction: Human saliva consists of a vast arsenal of secretory products with huge information potential useful for the detection of certain diseases. The easy availability and the specificity of biomarkers make them an important clinical tool as a diagnostic method.

Objective: By means of a bibliographic review, verify the use of saliva as a diagnostic method for oral and systemic diseases.

Methods: A bibliographic search was conducted in the online database PubMed for papers published in English from 2013 to September 2018, using the search terms "saliva", "biomarkers" and "diagnosis". Papers written in English in the last five years were selected. Of the 245 papers obtained, the study considered 17.

Data analysis and integration: It was found that saliva may be used as a diagnostic method for a variety of diseases. These include bacterial diseases such as dental caries, by detection of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* spp.; autoimmune diseases such as Sjögren's syndrome, indicated not only by the decrease in salivary flow, but also by the increase in the concentration of sodium, chlorine, immunoglobulin A (IgA), immunoglobulin G (IgG), and prostaglandin E2 (PGE2); viral diseases as in the auxiliary diagnosis of HIV 1 and 2 by IgG expression and also in the early diagnosis of malignant diseases such as squamous cell carcinoma and breast cancer by detection of antibodies against p53 protein and the presence of tumor markers such as c-erbB-2.

Conclusions: Molecular diagnostic examination of the oral cavity using saliva has shown to be a simple, non-invasive and very promising method for the diagnosis and monitoring of numberless diseases.

Keywords: saliva; biomarkers; diagnosis.

INTRODUÇÃO

A saliva humana é um importante fluido corporal que representa uma complexa mistura de produtos secretórios (orgânicos e inorgânicos). É oriunda da excreção das glândulas salivares maiores e menores e de outras substâncias provenientes da mucosa da orofaringe, vias aéreas superiores, refluxo gastrintestinal, fluido do sulco gengival, restos alimentares e componentes derivados do sangue, sendo fundamental para a manutenção da saúde oral.^(1,2)

Por permitir uma fácil obtenção e ser um método não invasivo e de baixo custo, essa substância tem despertado interesse entre os pesquisadores pela alternativa como exame complementar, na promoção e na pesquisa de cuidados em saúde. Além disso, os recentes avanços científicos e tecnológicos estão produzindo melhoras continuadas em aspectos como a determinação dos componentes salivares, a obtenção de amostras comparativas e o aumento da especificidade e da sensibilidade dos procedimentos utilizados. Esses progressos apontam para uma nova era, em que o diagnóstico molecular na cavidade bucal terá grande importância.^(1,3)

Na saliva, a presença de componentes denominados de biomarcadores podem estar intimamente relacionados com a condição de saúde e mudar muito quando as doenças afligem o corpo, o que viabiliza seu uso como indicadores de certas patologias.⁽²⁾

Estas entidades existem em uma variedade de formas diferentes, incluindo DNA, RNA, microrganismos, anticorpos, proteínas, lipídeos, entre outros. Alterações em sua concentração, estrutura, função ou ação podem estar associadas ao início, progressão ou mesmo regressão de um distúrbio em particular, ou resultar como o corpo responde a ele. Compreender e avaliar o significado da expressão de biomarcadores de um indivíduo pode ser útil para determinar a presença, localização e até prognóstico de doença. Assim, os biomarcadores servem como uma ferramenta valiosa e atraente na detecção, avaliação de risco, diagnóstico, prognóstico e monitoramento da patologia.⁽³⁾

Diante dessas considerações, o presente estudo visa discorrer sobre os estudos presentes na literatura científica referentes ao uso da saliva como método diagnóstico de patologias orais e sistêmicas, evidenciando quais os principais biomarcadores salivares são utilizados neste processo, sua sensibilidade e validação, além da sua aplicabilidade no monitoramento e progressão de enfermidades.

MÉTODOS

Trata-se de uma revisão atualizada literatura acerca da aplicabilidade de biomoléculas salivares no diagnóstico e monitoramento de enfermidades orais e sistêmicas. A pesquisa bibliográfica foi realizada em uma única base de dados da internet, a PubMed por um único pesquisador devidamente calibrado, a fim de identificar trabalhos que satisfizessem o objetivo do nosso estudo, sendo eles publicados a partir de 2013 até setembro de 2018, utilizando os descritores "saliva", "biomarkers" e "diagnosis", com auxílio do operador de busca AND. Houve restrição de linguagem, sendo idioma inglês o de nossa escolha. Não houve restrição quanto ao tipo de estudo. Todos os autores se qualificaram como revisores dos artigos depois de serem devidamente calibrados pelo grupo de iniciação científica da instituição de ensino e participaram da seleção dos

estudos a partir da busca inicial. O índice Kappa entre os seis revisores que fizeram a pesquisa foi de 0,764.

Inicialmente 245 estudos foram encontrados e 39 foram selecionados a partir da leitura do título. Após isso, os artigos seguiram para leitura do resumo, onde foram selecionados 32 estudos. Em seguida, após leitura completa, 15 artigos foram excluídos por não estarem dentro dos requisitos estabelecidos na pesquisa (especificação e sensibilidade dos biomarcadores e/ou clareza nos métodos e técnicas utilizadas para o diagnóstico) ou não relacionados ao escopo de nosso estudo. Por fim, um total de 17 estudos^(3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19) seguiram os critérios de elegibilidade e foram mantidos para análise qualitativa.

Fluxograma do processo de busca e seleção bibliográfica

Identificação	Registros identificados pela estratégia de busca na bases de dados PubMed (n= 245)
Triagem	Registros excluídos na análise de títulos (n= 206)
	Registros excluídos na análise dos resumos (n= 7)
Elegibilidade	Registros selecionados com potencial de elegibilidade (n= 32)
	Artigos completos avaliados pelos critérios de elegibilidade (n= 30)
Inclusão	Estudos incluídos na análise qualitativa (n= 17)

ANÁLISE E INTEGRAÇÃO DA INFORMAÇÃO

A análise da saliva como abordagem diagnóstica para doenças sistêmicas foi proposta há duas décadas. Contudo, o grande interesse na área surgiu recentemente devido ao seu potencial como biópsia líquida. A saliva é chamada de espelho do corpo por ser considerada um ultrafiltrado do sangue e porque sua composição muda sob diferentes condições patológicas.⁽¹³⁾

De acordo com *Korte*,⁽²⁰⁾ proteínas plasmáticas encontradas na saliva têm despertado interesse dos estudiosos, por cerca de 40% dessas representarem biomarcadores para inúmeras patologias, como o câncer, doenças periodontais, doenças cardiovasculares e endócrinas, além de desordens autoimunes e afecções virais. Isso acontece porque as glândulas salivares e seus lóbulos internos altamente permeáveis estão em íntimo contato com capilares sanguíneos que, por sua vez, extravasam moléculas proteicas que são absorvidas por células glandulares e, posteriormente, secretadas como saliva na

cavidade oral. Essa troca livre de moléculas de proteína derivadas do sangue no fluido oral permite a detecção precoce e o monitoramento de doenças orais e sistêmicas.

O diagnóstico de casos de câncer ainda é, em grande proporção, realizado em estágio avançado devido a uma ampla variedade de razões, como por exemplo as socioeconômicas e médicas.⁽²¹⁾ Desse modo, é válido considerar as novas ferramentas de diagnóstico que podem melhorar o diagnóstico do câncer e o monitoramento da doença, conseqüentemente, a melhoria em relação à sobrevida do paciente. A tabela 2 apresenta a relação das neoplasias malignas evidenciadas neste estudo e as demais patologias diagnosticadas, seguidas das biomoléculas empregadas para realização da técnica.

Tabela 2. Distribuição da relação das patologias diagnosticadas e seus biomarcadores

Autores	Ano	Patologias diagnosticadas	Biomoléculas
<i>Yoshizawa et al.</i> ⁽³⁾	2013	Doenças virais/ doenças bacterianas	DNA, proteínas/ DNA
<i>Cuevas-Córdoba et al.</i> ⁽⁴⁾	2014	Neoplasias Malignas / cardiopatias/ endocrinopatias/ doenças imunológicas/ doenças hereditárias/ distúrbios psicológicos/ doenças virais, bacterianas e parasitárias	Proteínas, mRNA, DNA/ proteínas/ proteínas, microRNAs, fatores salivares/ hormônios, proteínas/ DNA, anticorpos e microrganismos
<i>Fuentes et al.</i> ⁽⁵⁾	2014	Doenças periodontais	Proteínas, microrganismos, DNA

<i>Majem et al.</i> ⁽⁶⁾	2015	Neoplasias malignas	RNAs não-codificantes
<i>Nunes et al.</i> ⁽⁷⁾	2015	Neoplasias malignas/ doenças hereditárias/ doenças periodontais/ doenças virais	DNA, proteínas/ DNA/ microrganismos/ anticorpos
<i>Güncü et al.</i> ⁽⁸⁾	2015	Doenças Periodontais	Proteínas, microrganismos
<i>Podzimek et al.</i> ⁽⁹⁾	2015	Doenças periodontais	Proteínas
<i>Zhang et al.</i> ⁽¹⁰⁾	2016	Doenças periodontais/ doenças autoimunes/ cardiopatias/ neoplasias malignas/ doenças virais	Proteínas, microrganismos/ mRNA, proteínas/ proteínas, RNA, anticorpos, oncogene/ DNA, RNA, anticorpos
<i>Prasad et al.</i> ⁽¹¹⁾	2016	Neoplasias malignas/ doenças autoimunes/ doenças virais/ doenças bacterianas/	Proteínas, DNA/ anticorpos, RNAs/ anticorpos/ proteínas, microrganismos/
<i>Mikkonen</i> ⁽¹²⁾	2016	Neoplasias malignas/ doenças periodontais	DNA, proteínas/ DNA, proteínas
<i>Rapado-González et al.</i> ⁽¹³⁾	2016	Neoplasias malignas	Proteínas, RNAs

<i>Zhang et al.</i> ⁽¹⁴⁾	2016	Doenças periodontais/ Neoplasias malignas	Proteínas, microrganismos/ proteínas, RNAs/
<i>Tasoulas et al.</i> ⁽¹⁵⁾	2016	Doenças periodontais/ doença cárie/ doenças autoimunes/ neoplasias malignas	Proteínas
<i>Wang et al.</i> ⁽¹⁶⁾	2017	Neoplasias malignas	DNA, RNA, Proteínas
<i>Kaczor-Urbanowicz et al.</i> ⁽¹⁷⁾	2017	Neoplasias malignas/ doenças autoimunes/ cardiopatias/ doenças periodontais/ doenças bacterianas	Proteínas, RNA/ anticorpos, proteínas/ proteínas/ proteínas, microrganismos/ microrganismos
<i>Stuani et al.</i> ⁽¹⁸⁾	2017	Neoplasia maligna	Proteínas
<i>Humberto et al.</i> ⁽¹⁹⁾	2018	Doenças autoimunes	Proteínas

Neoplasias malignas

A maioria das neoplasias de mama são detectadas em estágio avançado, resultando em taxas altas de mortalidade. O exame de rastreamento pela mamografia é o padrão ouro para o diagnóstico, mas nem sempre é possível obter resultados concretos, a depender da mamografia. Com isso, o uso de biomarcadores salivares pode ser utilizado para detectar estágios precoces de câncer de mama. Concentrações da proteína CA15-3

foram verificadas em pacientes com câncer em comparação ao grupo controle, e sua presença pode ser usada para monitorar possíveis casos de metástase da neoplasia.⁽¹⁶⁾ Evidências científicas revelaram que várias proteínas salivares estão alteradas em pacientes com câncer bucal, incluindo Cyfra 21-1, TPS e CA12, vários parâmetros salivares relacionados ao estresse oxidativo e parâmetros bioquímicos e imunológicos. A hipermetilação do promotor de DNA na saliva de pacientes com câncer bucal também se mostrou útil para o diagnóstico precoce dessa doença sendo possível sua aplicabilidade em ambiente clínico.^(11,18)

A presença de microRNAs, principalmente o miR-31, foi expressivamente aumentado na saliva de pacientes com carcinoma oral em todos os estágios clínicos, incluindo tumores muito pequenos. No entanto, nenhuma diferença na expressão de miR-31 salivar foi encontrada ao comparar pacientes com leucoplasia verrucosa oral em relação aos controles. Ao comparar a expressão de miR-31 em diferentes fluidos corporais, eles descobriram que o miR-31 era mais abundante na saliva do que no plasma, sugerindo que o miR-31 salivar era um biomarcador mais sensível para malignidade oral.^(6,10)

Foi relatado que o aumento no antígeno tumoral CA15-3 e anticorpos para os marcadores de proteína tumoral c-erbB2, CA-125 e P53 na saliva também podem ser considerados biomarcadores salivares para cânceres da cavidade oral e outros locais. Além disso, estudos mostraram que hialuronidase, interleucina 6 (IL-6) e interleucina 8 (IL-8), podem ser biomarcadores potenciais para pacientes com carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço.^(4,10,12,17)

Com relação ao câncer de pulmão, *Zhang et al.*⁽¹⁰⁾ realizou estudos de microarranjos confirmando a especificidade de mRNA para essa condição. Estudos apontam que os níveis de três proteínas (haptoglobina, AZGP1 e calprotectina humana) foram significativamente maiores entre os pacientes com câncer de pulmão em relação aos grupos controles saudáveis.^(10,13,16)

Pesquisa sobre análises dos níveis de antígeno prostático específico (PSA) em três grupos: pacientes com câncer de próstata, pacientes com hiperplasia prostática benigna e indivíduos saudáveis relatou significativa diferença entre os pacientes com doença prostática (benigna ou maligna) e o grupo controle encontrado apenas para os níveis de PSA livre no soro, os níveis de PSA total e as relações livre/total de PSA. Não foi observada correlação significativa entre os níveis de PSA salivar e sorológico entre os grupos, sugerindo que mais estudos são necessários para descobrir adequados biomarcadores salivares para detecção de câncer de próstata.⁽¹³⁾

Biomarcadores salivares transcricionais foram associados com câncer pancreático, sendo utilizado um modelo que incluiu quatro mRNAs (KRAS, MBD3L2, ACRV1 e DPM1) com

90 % de sensibilidade e 95 % de especificidade. Assim, estes biomarcadores poderiam discriminar pacientes com e sem câncer pancreático. A alta sensibilidade e especificidade sugerem que esses biomarcadores podem ser úteis para a realização de teste de rastreamento para esse tipo de câncer.^(10,13,17)

Em monitoramento salivar de pacientes com leucemia com ou sem tratamento antineoplásico em nível imunológico, bioquímico e hormonal, observaram que, independentemente do tratamento, os níveis de fosfatase alcalina salivar (ALP) foram mais significantes no grupo de câncer do que no grupo controle. No entanto, as concentrações de ureia foram menores em pacientes tratados em comparação com os não tratados e os grupos controles. Assim, foi colocado que o tratamento antineoplásico aumenta os níveis de glicose e diminui as concentrações de insulina, reforçando o valor da saliva como ferramenta de monitoramento no tratamento do câncer.⁽¹³⁾

Wang et al.⁽¹⁶⁾ mostrou que mais de 500 proteínas foram identificadas e quantificadas para serem biomarcadores salivares do câncer de estômago, entre as quais 48 apresentaram um perfil diferencial de expressão, que foi significativo entre os pacientes controle e pacientes com a neoplasia. Cistatina B, triosofosfato isomerase e a *Deleted In Malignant Brain Tumors 1* (DMBT1) foram verificados com sucesso pelo teste *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). A combinação desses três biomarcadores pode atingir 85 % de sensibilidade e 80 % de especificidade no diagnóstico desse tipo de neoplasia.

Doenças periodontais

Os biomarcadores específicos para doenças podem ser usados na determinação de riscos, no planejamento do tratamento e na progressão da doença.⁽⁵⁾ Além das doenças orais, como a periodontal, a saliva também pode ser vista como potencial ferramenta para o diagnóstico de doenças sistêmicas. Como existe uma associação entre periodontite crônica e doenças cardiovasculares, um ultrasensível sistema de ensaio microchip para determinar Proteína C reativa (PCR) salivar tem sido sugerida para o diagnóstico. Perfis de proteômica salivar em pacientes com periodontite e indivíduos saudáveis, mostraram mudanças distintas nas proteínas presentes de inflamação, que pode levar a melhora do diagnóstico da doença periodontal.⁽⁷⁾

Biomarcadores na saliva têm sido encontrados na doença periodontal por meio das fases da doença: inflamação induzida pela infecção, degradação do colágeno e reabsorção óssea. No tecido periodontal infectado, inúmeras citocinas são liberadas devido à resposta imune pelas células presentes naquele tecido, entre elas a interleucina-1beta (IL-1 β), citocina muito relevante e indicativa de periodontite. Além disso,

metaloproteinases do indivíduo são responsáveis por iniciar o processo de degradação da matriz extracelular, relacionada à periodontite. A MMP-8, especialmente, é uma enzima liberada pelos neutrófilos que atua na quebra de colágeno, e tem um grande potencial para ser um biomarcador da periodontite, onde vários estudos mostram que há um aumento no número dessa enzima em pacientes que possuem doença periodontal, comparado aqueles pacientes saudáveis.^(8,9,10)

A predominância de Imunoglobulina A (IgA) na saliva, pode indicar um risco aumentado de o paciente apresentar doença periodontal, devido ao fato de que esta imunoglobulina está relacionada com a defesa contra as bactérias periodontopatogênicas, interferindo na adesão e metabolismo das mesmas. Os níveis de IgA encontrados na saliva de pacientes com doença periodontal estavam exacerbados, enquanto que em pacientes saudáveis os níveis eram significativamente mais baixos.⁽¹⁵⁾

Em contrapartida e ainda de acordo com *Güncü et al.*⁽⁸⁾ há limitações quanto ao uso dos biomarcadores salivares para o diagnóstico prévio da doença periodontal. Segundo ele, esses peptídeos fazem parte da resposta inicial do tecido quanto à infecção e isso pode ajudar no diagnóstico prévio da doença, porém deve-se levar em conta que eles podem, dependendo da sua concentração, se agregar e dificultar a sensibilização do método, além disso, é possível que enzimas bacterianas e até do próprio indivíduo degradem os peptídeos antimicrobianos que seriam utilizados pelo método, e por fim, alguns peptídeos podem se acumular no tecido e não serem liberados na saliva, podendo dar um teste falso-positivo sobre o caso.

Doenças autoimunes

Há uma necessidade científica muito grande em conseguir detectar a Síndrome de Sjögren (SS) precocemente, pois seus sintomas só aparecem quando a doença já está num estágio avançado. Biomarcadores salivares podem atuar nesse diagnóstico prévio e de uma forma não invasiva. Recentemente moléculas características de biomarcadores vem sendo investigadas, e entre elas estão a interleucina-4 (IL-4), interleucina-5 (IL-5) e a clusterina. Foi verificado que pacientes portadores da síndrome apresentavam uma discrepância de valores em comparação com pacientes saudáveis.^(10,15)

Apesar dos resultados controversos, a revisão realizada por *Humberto*⁽¹⁹⁾ sugere que os pacientes com Líquen Plano Oral (LPO) tem um aumento da resposta inflamatória, como indicado pelo perfil pró-inflamatório salivar das citocinas. Além disso, as medições da citocina salivar e o óxido nítrico podem ter um potencial significativo no diagnóstico e prognóstico para monitoramento da atividade da doença e respostas terapêuticas no LPO, bem como para a descoberta de alvos dessa doença.

Todos os estudos incluídos relataram aumento do óxido nítrico salivar em pacientes com LPO, o que hipoteticamente resulta do aumento dos níveis de IL-6, Fator de Necrose Tumoral- α (TNF- α) ou IL1- β produzidos por linfócitos T e macrófagos. Em relação ao método de detecção de óxido nítrico salivar, o teste de Griess foi o método utilizado nos estudos incluídos nessa revisão. O óxido nítrico salivar parece ser um marcador promissor para estudos sobre patogênese do LPO.⁽¹⁹⁾

Doenças bacterianas

O uso de diagnósticos salivares para avaliação de risco de cárie inclui abordagens de microbioma, proteômica, genômica e transcriptômica. Os patógenos associados à cárie dental humana mais comuns são *Streptococcus mutans* (*S. mutans*), *Streptococcus sobrinus* (*S. sobrinus*) e *Lactobacilos*. Baixos níveis salivares de alfa-defensinas HNP1-3 contribuem para a suscetibilidade à cárie em crianças, enquanto mucinas salivares promovem a aglutinação de estreptococos. A avaliação do risco de cárie também pode ser gerenciada por meio da análise dos fatores relacionados ao hospedeiro na saliva, incluindo taxa de fluxo salivar, pH salivar e capacidade tampão. Ferramentas diagnósticas incluem métodos baseados em cultura, como *mitis salivarius bacitracin* (MSBB), métodos *dip-slide*, bem como novas tecnologias moleculares emergentes como hibridação de ADN-ADN, impressão de genomas digitais, clonagem e sequenciação do gene 16S rRNA, T-RFLP e sequenciação de DNA, incluindo análise de dados de genoma bacteriano.⁽¹⁴⁾

Concentrações aumentadas de populações bacterianas na saliva podem indicar um aumento no risco de cárie do paciente.⁽¹⁵⁾ A presença de *S. mutans* na saliva pode ser um indicativo sobre a colonização precoce e o surgimento da doença cárie, porém isso é um indicativo altamente variável na detecção precoce da doença, uma vez que ela é considerada multifatorial e necessita de outros fatores para o seu desenvolvimento. Assim como os *Lactobacilos*, sua indicativa de cárie é incerta, uma vez que os níveis microbianos podem estar elevados pelo fato da dieta do paciente.⁽¹⁷⁾

Em outro estudo com indivíduos do sexo feminino suscetíveis e resistentes à cárie (20 a 21 anos), verificou-se que as concentrações lipídicas na saliva parótida em indivíduos suscetíveis à cárie foram maiores do que nos resistentes à cárie e diferenças nas composições ácidas também foram encontradas. Assim, as variações nos níveis lipídicos e composição de ácidos graxos podem estar associadas no desenvolvimento de cárie.⁽¹¹⁾

Doenças virais

A saliva pode ser utilizada como diagnóstico auxiliar do HIV 1 e 2 a partir da concentração de Imunoglobulina G (IgG) presente nela. Ao verificar pelo ELISA, pode-se perceber se a concentração da Imunoglobulina está alterada, e com isso solicitar outros exames para conseguir uma confirmação exata do diagnóstico. Em adição, estudos recentes têm revelado que anticorpos e/ou antígenos de Hepatite A, B e C poderiam ser encontrados em amostras de saliva de pacientes infectados.⁽³⁾

Zhang et al.⁽¹⁰⁾ afirmam que no nível proteômico existem testes de anticorpos baseados em saliva que podem detectar vírus, incluindo vírus da hepatite A, vírus da hepatite B, vírus da hepatite C, HIV-1, vírus do sarampo, vírus da rubéola e da caxumba vesicular, entre outros. Além disso, em um novo teste salivar denominado Teste Rápido de Anticorpos do vírus da hepatite C (OraQuick) pode-se detectar o vírus da hepatite C de maneira mais fácil e rápida. Em adição, o RNA do vírus da dengue e os antígenos não estruturais da proteína 1 também são detectáveis a partir da saliva, o que pode fornecer uma maneira mais eficaz de diagnosticar a dengue.

Outras Patologias

Outra série de patologias podem, ainda, ser identificadas por meio do conteúdo salivar, como doenças cardiovasculares e acidente vascular cerebral (AVC). Estudos mostram cerca de 40 % das proteínas plasmáticas que são marcadores específicos para essas condições (mioglobina, mieloperoxidase e creatinofosfoquinase) estão presentes na saliva,^(4,17) e que a alfa-amilase salivar foi relatada como um fator diagnóstico independente para infarto agudo do miocárdio (IAM) em pacientes sofrendo de dor peitoral com período inferior a 4 h.⁽¹⁷⁾ Em adição, o IAM foi predito por uma combinação de eletrocardiograma e níveis de PCR com 80,0 % de sensibilidade e 100 % de especificidade.⁽¹⁰⁾

Alguns distúrbios endócrinos como a síndrome metabólica e diabetes mellitus tipo 2 também foram capazes de ser diagnosticados por meio da saliva. Isso se deve a expressão de proteínas, moléculas e outros fatores salivares como ácido úrico, lisozima, lactoferrina, albumina, IgA e MMP-9.⁽⁴⁻¹⁷⁾ Já a fibrose cística, doença genética rara, pode ser identificada pela atividade magnética e enzimática, lipídeos e proteínas, cloro, sódio, cálcio e fosfato excretados na saliva das glândulas submandibulares.⁽⁴⁾

Por fim, os transtornos psicológicos como estresse, depressão e anorexia nervosa estiveram associados a níveis mais altos de cortisol, sendo este o biomarcador regular para estas condições.^(10,17) Além disso, o diagnóstico salivar é também usado em algumas doenças neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer, onde os níveis de proteínas TAU totais e fosforiladas são mais altos em comparação com indivíduos

saudáveis. Também foi notório níveis aumentados de fator de crescimento nervoso (NGF) e neuropeptídeos sensoriais nestes indivíduos.⁽¹⁷⁾

CONCLUSÕES

Para o diagnóstico molecular na cavidade oral se faz necessária a descoberta de biomarcadores para várias doenças, sua validação e avaliação de sua sensibilidade e especificidade, além da determinação de um padrão referencial para os constituintes salivares. No entanto, pesquisas sobre a saliva e suas aplicações para o diagnóstico da doença ainda estão em seus estágios iniciais e o progresso desses estudos é limitado pela falta de métodos e técnicas eficientes e úteis. É necessário desenvolver sistemas de identificação molecular salivar e padronizar a sua avaliação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lima DP, Correia ASC, Anjos AL, Boer NP. O uso de saliva para diagnóstico de doenças orais e sistêmicas. *Rev Odontol Araçatuba*. 2014;35(1):55-9.
2. Liu J, Dua Y. Saliva: a potential media for disease diagnostics and monitoring. *Oral Oncol*. 2012;48(7):569-77.
3. Yoshizawa JM, Schafer CA, Schafer JJ, Farrell JJ, Paster BJ, Wong DTW. Salivary Biomarkers: Toward Future Clinical and Diagnostic Utilities. *Clin Microbiol Rev*. 2013 Oct;26(4):781-91.
4. Cuevas-Córdoba B, Santiago-García J. Saliva: a fluid of study for OMICS. *J Int Biol*. 2014 Feb;18(2):87-97.
5. Fuentes L, Yakob M, Wong DTW. Emerging horizons of salivary diagnostics for periodontal disease. *Br Dent J*. 2014 Nov;217(10):567-73.
6. Majem B, Rigau M, Reventós J, Wong DT. Non-Coding RNAs in Saliva: Emerging Biomarkers for Molecular Diagnostics. *Int J Mol Sci*. 2015 Apr;16(4):8676-98.
7. Nunes LAS, Mussavira S, Bindhu OS. Clinical and diagnostic utility of saliva as a non-invasive diagnostic fluid: a systematic review. *Biochem Med*. 2015 Jun;25(2):177-92.
8. Güncü GN, Yilmaz D, Kononem E, Gursoy UK. Salivary Antimicrobial Peptides in Early Detection of Periodontitis. *Front Cell Infect Microbiol*. 2015 Dec 24;5:99.
9. Podzimek S, Vondrackova L, Duskova J, Janatova T, Brouka Z. Salivary Markers for Periodontal and General Diseases. Hindawi Publishing Corporation. *Disease Markers*. 2015;2(1):1-8.
10. Zhang Y, Sun J, Lin CC, Abremayor E, Wang MB, Wong DT. The emerging landscape of salivary diagnostics. *Periodontol 2000*. 2016 Feb;70(1):38-52.
11. Prasad S, Tyagi AK, Aggarwal BB. Detection of inflammatory biomarkers in saliva and urine: Potential in diagnosis, prevention, and treatment for chronic diseases. *Exp Biol Med*. 2016 Apr;241(8):783-99.
12. Mikkonen JJW, Singh SP, Herrala M, Lappalainen R, Myllymaa S, Kullaa AM, et al. Salivary metabolomics in the diagnosis of oral cancer and periodontal diseases. *J Periodont Res*. 2016 Aug;51(4):431-7.
13. Rapado-González O, Majem B, Muínelo-Romay L, López-López R, Suarez-Cunqueiro MM. Cancer Salivary Biomarkers for Tumours Distant to the Oral Cavity. *Int J Mol Sci*. 2016 Sep;17(9):1-18.

14. Zhang CZ, Cheng XQ, Li JY, Zhang P, Xu X, Zhou XD. Saliva in the diagnosis of diseases. *Int J Oral Sci.* 2016 Sep;29(8):133-7.
15. Tasoulas J, Patsouris E, Giaginis C, Theocharis S. Salivaomics for oral diseases biomarkers detection. *Expert Rev Mol Diagn.* 2016;16(3):285-95.
16. Wang X, Kaczor-Urbanowicz KE, Wong DTW. Salivary biomarkers in cancer detection. *Med Oncol.* 2017 Jan;34(1):1-12.
17. Kaczor-Urbanowicz KE, Carrera-Presas CM, Aro K, Tu M, Garcia-Godo F, Wong DTW. Saliva diagnostics – Current views and directions. *Exp Biol Med (Maywood).* 2017 Mar;242(5):459-72.
18. Stuani VT, Rubira CMF, Sant’Ana ACP, Santos PSS. Salivary biomarkers as tools for oral squamous cell carcinoma diagnosis: A systematic review. *Head Neck.* 2017 Apr;39(4):797-811.
19. Humberto JSM, Pavanin JV, Rocha MJA, Motta ACF. Cytokines, cortisol, and nitric oxide as salivary biomarkers in oral lichen planus: a systematic review. *Braz Oral Res.* 2018 Mar;32(82):1-11.
20. Korte DL, Kinney J. Personalized medicine: an update of salivary biomarkers for periodontal diseases. *Periodontol 2000.* 2016 Feb;70(1):26-37.
21. Wilkinson E. Earlier cancer diagnosis would reduce NHS costs. *Lancet Oncol.* 2014;15(1):529.

CONFLICTO DE INTERESES

No se declara conflicto de intereses.

Aceito: 23/01/2019

Recibido: 15/05/2019

Postado: 21/03/2020



Este artículo de *Revista Cubana de Estomatología* está bajo una licencia Creative Commons Atribución-No Comercial 4.0. Esta licencia permite el uso, distribución y reproducción del artículo en cualquier medio, siempre y cuando se otorgue el crédito correspondiente al autor del artículo y al medio en que se publica, en este caso, *Revista Cubana de Estomatología*.