



FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE BIOMEDICINA
JAQUELINE DA SILVA BARREIRO

**ANÁLISES DE MARCADORES TUMORAIS PARA DETECÇÃO PRECOCE DE
CÂNCERES: UMA REVISÃO NARRATIVA**

MARCADORES TUMORAIS: REVISÃO NARRATIVA

Porto Alegre
2023

FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE BIOMEDICINA
JAQUELINE DA SILVA BARREIRO

**ANÁLISES DE MARCADORES TUMORAIS PARA DETECÇÃO PRECOCE DE
CÂNCERES: UMA REVISÃO NARRATIVA**

MARCADORES TUMORAIS: REVISÃO NARRATIVA

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC)
apresentado à Faculdade de
Desenvolvimento do Rio Grande do Sul -
Fadergs como exigência para obtenção
do título de bacharel em Biomedicina.

Orientador: Esp. Chaiane Mara Oliveira
Moraes

Porto Alegre
2023

SUMÁRIO

1. RESUMO.....	4
2. ABSTRACT.....	4
3. INTRODUÇÃO.....	5
4. MATERIAL E MÉTODO.....	8
5 RESULTADOS.....	9
5.1 MARCADORES TUMORAIS: CONCEITOS ATUALIZADOS.....	9
5.2 PRINCIPAIS MARCADORES TUMORAIS.....	10
5.2.1 CANAIS IÔNICOS.....	11
5.2.2 WNT (SINALIZADOR CANÔNICO).....	11
5.2.3 TGF- β (FATOR TRANSFORMADOR DE CRESCIMENTO BETA).....	11
5.2.4 PSA (ANTÍGENO PROSTÁTICO ESPECÍFICO).....	12
5.2.5 GNB2.....	12
5.2.6 CA 19.9.....	12
5.2.7 NOTCH.....	12
5.2.8 NF-KB.....	13
5.2.9 P53.....	13
5.2.10 TWIST.....	13
5.2.11 MGA (MAMOGLOBULINA).....	13
5.2.12 ZEB1.....	14
5.2.13 FOSFATASE ALCALINA.....	14
5.2.14 EpCAM E CK.....	14
5.2.15 SHH (SONIC HEDHOG).....	14
5.2.16 DESIDROGENASE LÁCTIA.....	15
5.2.17 cfDNA.....	15
5.2.18 CTC's.....	15
5.3 EXAMES PARA DETECÇÃO DE MT'S.....	15
6 DISCUSSÃO.....	16
7 CONCLUSÃO.....	17
8 REFERÊNCIAS.....	18
9 ANEXO – NORMAS DA REVISTA CIENTÍFICA – RBAC.....	22

1. RESUMO

Há várias décadas busca-se identificar sinalizadores, fatores de transcrição e genes que sejam comuns a vários tipos de cânceres, ou seja, marcadores tumorais, reduzindo a dificuldade de diagnóstico, prognóstico e tratamento para a enfermidade através de exames laboratoriais minimamente invasivos. Muitos marcadores estão sendo pesquisados e testados através de diversos métodos inclusive com desenvolvimento de novos exames buscando uma detecção minimamente invasiva. Muito avançou-se nessa área de pesquisa, contudo ainda carece de muito estudo por vários fatores como a diversidade das formas tumorais, alto custo financeiro para implementação dentro dos sistemas de saúde sejam privados ou públicos e pesquisas cuja a abrangência de populações sejam bastante diversas tanto em etnias, gêneros e quantidade de amostras significativas. O objetivo deste trabalho é analisar os marcadores tumorais correlacionando-os a sinalizadores oncológicos úteis ao diagnóstico e ao prognóstico de pacientes oncológicos. A metodologia empregada buscou abranger o período de tempo entre os anos 2018 e 2023, nas bases de dados SCIELO e Google Acadêmico, nos idiomas português, inglês e espanhol. Como critério de inclusão as publicações que abordavam sobre o tema na íntegra e, como critério de exclusão, os estudos fora do período de intervalo do referencial teórico informado, de fontes pagas, disponibilizados na forma de resumo e que não tratavam da temática desta pesquisa.

Palavras-chave: Detecção precoce de câncer, carcinogênese, biomarcadores tumorais, proteínas proto-oncogênicas, técnica de investigação de célula tumoral circulante.

2. ABSTRACT

For several decades, there has been an attempt to identify signals, transcription factors and genes that are common to various types of cancer, reducing the difficulty of diagnosis, prognosis and treatment for the disease through minimally invasive laboratory tests. Many markers are being researched and tested using different methods, including the development of new tests seeking minimally

invasive detection. Much progress has been made in this area of research, however, there is still a lack of study due to several factors such as the diversity of tumor forms, the high financial cost for implementation within health systems, whether private or public, and research whose population coverage is quite diverse, both in ethnicities, genders and number of significant samples. The objective of this study is to analyze tumor markers, correlating them with oncological signals useful for the diagnosis and prognosis of cancer patients. The methodology used sought to cover the period of time between 2018 and 2023, in the SCIELO and Google Scholar databases, in portuguese, english and spanish. As an inclusion criterion, publications that addressed the topic in full and, as an exclusion criterion, studies outside the interval period of the informed theoretical framework, from paid sources, available in abstract form and that did not address the topic of this research.

Keywords: Early detection of cancer, carcinogenesis, tumor biomarkers, proto-oncogenic proteins, laboratory tests to search for circulating tumor cells.

3. INTRODUÇÃO

Câncer é a denominação dada a mais de 100 patologias que possuem como característica geral e comum a todos os tipos, a proliferação descontrolada de células, que penetram em tecidos e órgãos mesmo à distância ¹. Com velocidade, estas células tendem a ser muito agressivas e incontroláveis, formando tumores e metastaseando, ou seja, disseminando-se através de células tumorais circulantes (CTC's) no sangue periférico, órgãos adjacentes ou através do sistema linfático ^{2, 3}.

Os óbitos por cânceres são predominantes no mundo, com aproximadamente 10 milhões de casos atestados em 2020, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS). Isto demonstra que 1/6 das mortes oriundas de doenças são promovidas pelo câncer ^{1, 2, 3}.

Os exames hematológicos são indispensáveis no diagnóstico e entendimento dos processos fisiopatológicos sendo, as pesquisas por marcadores tumorais, biomarcadores e perfil genético, poderosas armas no diagnóstico precoce dessa doença e exaustivamente pesquisadas nos últimos anos ^{1, 2}.

O histórico do desenvolvimento das tecnologias em análises clínicas demonstra regularidade e resiliência na busca por exames distintos e próprios para

as mais diversas patologias ou, simplesmente, para indicar a ausência de doença, contudo a busca e a caracterização precoce de tumores malignos possui seu especial foco já há algumas décadas ^{4, 5}.

A pesquisa de sangue oculto nas fezes foi um dos primeiros exames utilizados para investigação e descoberta precoce do câncer de colo retal (CCR), por exemplo. Pode-se dizer que esse exame é o precursor dos marcadores tumorais (MT's), além de ser indicativo de hemorragias do aparelho digestório ⁴. Outro exame suplementar bastante solicitado e analisado ainda hoje, é a dosagem do cálcio sérico, demonstrando que os canais iônicos também são considerados MT's. A hipercalcemia resistente sobrevém em várias situações, tais como, no hiperparatireodismo, por exemplo, e em neoplasias como adenocarcinoma de mama, rins, CCR, carcinoma epidermoide de pulmão, leucemia aguda de células T e linfoma ^{4,5,6}.

MT's são proteínas produzidas por tecidos neoplásicos passíveis de serem detectadas e analisadas quantitativamente e qualitativamente por técnicas de análises bioquímicas, imunohistoquímicas, citológicas e moleculares em amostras de tecidos e fluídos biológicos indicando a presença de câncer ^{4,5,6}. Esses marcadores vêm sendo estudados a fim de aumentar as chances de remissão da doença e sobrevida dos pacientes uma vez que a precocidade na identificação da neoplasia é uma arma poderosa para definição da conduta mais assertiva no tratamento da enfermidade ¹⁻⁶. Comprovadamente os MT's são capazes de detectar tumores menores que os exames de imagem de rotina como o raio-X, ultrassom e tomografia ⁴⁻²⁰.

Nos últimos anos buscou-se identificar sinalizadores, fatores de transcrição e genes que fossem comuns a vários tipos de cânceres, reduzindo a dificuldade de diagnóstico, prognóstico e tratamento para a enfermidade através de exames laboratoriais, como: hemograma, RT-PCR (reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa), eletroforese e imunohistoquímica, além de agregar com a bioestatística que também vem sendo muito utilizada para encontrar padrões e correlações entre bancos de dados com acervos mundiais, num esforço colaborativo entre nações, buscando identificação precoce de um mal comum a todas as populações ^{3, 4, 5}.

Sabe-se que, diretamente implicado no surgimento de cânceres, estão os sinalizadores WNT (sinalizador canônico) que são uma proteína: molécula globular

com peso aproximado de 40KDa; TGF- β (fator de crescimento transformador beta); Notch que é um sinalizador envolvido no desenvolvimento de células embrionárias, diferenciação, proliferação e apoptose celular ^{5,22}; e NF-KB que é um sinalizador, fator nuclear kappa B, sendo um complexo proteico com função de agir como fator de transcrição; ainda há os fatores de transcrição TWIST que atuam regulando a expressão gênica no decorrer da embriogênese e a transcrição epitelial mesenquimal (TEM); SNAIL que faz parte da família de fatores de transcrição identificada pela existência de várias terminações (ou também conhecida como dedos de zinco), que agem em muitos processos incluindo a indução da transição epitelial-mesenquimal, manutenção da mesoderme embrionária, parada no crescimento, sobrevivência celular e migração celular; ZEB1 ⁴: fator de transcrição que contém proteínas proto-oncogênicas; C-BCL-6, regula a expressão específica para tipo celular da ATPase que promove o fluxo de sódio-potássio, além de gerar a diferenciação neuronal; ZEB2⁴: fator de transcrição que possui em sua constituição os dedos de zinco CYS2-HIS2, como ZEB1, sendo satélites de um home box central.

ZEB1 e ZEB2 são essenciais para a evolução e maturação de tecidos embrionários, regulatório de suas funções e atividades. Reprimem, também, a transcrição do gene da E-Caderina ⁴; GNB2 ⁵ subunidade beta-2 da proteína de ligação ao nucleotídeo de guanina, codificada pelo gene GNB2. Este, trata-se de um receptor para a proteína quinase C e opera em múltiplos processos celulares e fisiológicos, como no arranjo de complexos de sinalização, tradução proteica, crescimento e proliferação celulares, apoptose e transporte de receptor muscarínico; e, fosfatase alcalina, que ainda é muito utilizada na detecção de cânceres que irradiam para os ossos, como o de próstata e o osteosarcoma. A fosfatase alcalina também é muito utilizada para investigar metástases no fígado provenientes de um câncer primário, como, por exemplo, no pâncreas ⁵.

Num estudo multiômico recente que utilizou 24 casos de cânceres humanos ⁵, cruzaram-se dados estatísticos de oito plataformas de dados, entre elas, UALCAN (banco de dados web interativo para analisar dados omics de câncer), GEPIA (servidor web para análise de dados transcriptômicos de cânceres), HPA (servidor web com banco de dados transcriptômicos de imunohistoquímica de cânceres, plotadora KM (ferramenta para obter a sobrevida global em diferentes tipos de cânceres), TCGA (the cancer genome atlas program / atlas do genoma do

câncer) e TIMER2 (banco de dados que executa associações entre a pureza do tumor, infiltração de células imunes CD8+ T e expressão de genes), onde a elevada manifestação de GNB2 foi co-relacionada à diminuição de SG em 23 tipos de cânceres incluindo o CCR e melanomas. Observou-se que o GNB2 executa atuação direta e essencial na gênese do tumor, o que vem a ser prognóstico negativo para os pacientes. Ainda nesse mesmo estudo, apontou-se para o relato de que mutações no gene GNB2 ativariam grandes quantidades de vias de sinalização canônicas como a proteína Wnt, o que daria resistência a inibidores de quinase presentes em cânceres do tipo melanoma e leucemia mieloide aguda (LMA) ⁵.

Com base no exposto, o presente trabalho possui como objetivo conceituar os marcadores tumorais e elencar os principais sinalizadores tumorais correlacionando-os a marcadores oncológicos úteis ao diagnóstico de pacientes oncológicos.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho trata-se de um estudo de revisão narrativa da literatura. Revisões narrativas são amplas publicações para discutir e descrever o desenvolvimento de um determinado assunto sobre o ponto de vista teórico e contextual, constituída de análise da literatura publicada em artigos e revistas. Estes artigos possuem um papel fundamental para uma educação contínua, pois permitem que o leitor adquira e atualize os seus conhecimentos sobre um tema específico em um curto período. Esta revisão teve como pergunta norteadora: Através de quais marcadores tumorais é possível diagnosticar o câncer?

O presente trabalho busca trazer uma contribuição acerca do diagnóstico de tumores malignos, visto a magnitude que o tema câncer repercute no mundo. Neste entendimento, é importante considerar todas as variáveis, tais como: SG, SLP e todo o custo financeiro que o sistema de saúde detém, além do custo pessoal aos pacientes acometidos pela doença, razão pela qual se destaca a importância da descoberta precoce desta enfermidade que pode ser feita através dos marcadores tumorais.

A busca pela literatura foi iniciada no mês de março de 2023, nas bases de dados SCIELO (*Scientific Electronic Library Online*) e no Google Acadêmico, nos

idiomas português, inglês e espanhol, abrangendo artigos publicados entre os anos de 2018 e 2023. Foram utilizados os descritores: “detecção precoce de câncer, carcinogênese, biomarcadores tumorais, proteínas proto-oncogênicas e técnica de investigação de célula tumoral circulante”, utilizando-se os critérios de arranjo e combinação AND e OR, conforme consulta realizada no DeCSMeSH – Descritores em Ciências da Saúde. Além do mencionado, livros também serviram como base referencial no desenvolvimento desta pesquisa.

Foram utilizados como critério de inclusão as publicações que abordavam sobre o tema relacionando-o a diagnóstico precoce oncológico através de exames laboratoriais, marcadores tumorais e estudos que abordassem ferramentas que contribuem para um bom prognóstico tumoral publicados na íntegra. Por outro lado, foram excluídos os estudos que não contemplam o período do intervalo de referencial teórico informado, de fontes pagas, disponibilizados na forma de resumo e que não tratavam da temática desta pesquisa.

5. RESULTADOS

5.1 MARCADORES TUMORAIS: CONCEITOS ATUALIZADOS

As análises laboratoriais, realizadas através de exames bioquímicos, citológicos e moleculares sendo exemplificados como: hemograma, RT-PCR, eletroforese e imunohistoquímica, mostram-se eficientes ao detectar cânceres em fases iniciais através de MT's específicos. Além disso, exames de imagem, como: tomografia com ou sem contraste, mamografia e RX também se mostram exames eficientes ao detectarem alterações em fases iniciais em patologias como o câncer de célula renal e o câncer de mama ³⁻⁷, embora esses exames não se utilizem de MT's para apresentarem seus resultados.

Também são MT's genes mutantes chamados de protooncogenes (oncogenes) que sintetizam proteínas estimulantes da produção e expansão celular. Essas mutações adquirem função, podendo somente um dos alelos do gene provocar a mutação. Os principais oncogenes envolvidos no CCR são os genes da família RAS (KRAS e NRAS) ⁶. A reprodução e expansão tumoral ocorre quando os controles são restritos e até mesmo extintos pela mutação.⁶.

Os protooncogenes supressores de tumor inibem o surgimento do mesmo através do controle da atividade mitótica, inibindo, desta forma, o ciclo celular. Os principais genes supressores de tumor relacionados ao CCR são o gene Adenomatous Polyposis Coli (APC) e o gene p53. Assim como anteriormente colocado, exames de imunohistoquímica (anatomopatológico), tomografias com contraste de tórax e abdômen (pela maior sensibilidade), cintilografia óssea e hemograma completo corroboram para estabelecer o diagnóstico do CCR ⁶.

A difusão metastática do câncer pode decorrer de células tumorais circulantes (CTC's) e por cell free DNA (cfDNA) ¹¹⁻¹² que também são MT's. A origem do cfDNA não é clara. O que se sabe e é comprovado¹¹⁻¹² é a existência de vários mecanismos que contribuem para a quantidade de DNA circulante. A existência de células mortas ou aquelas em final de vida útil correspondem a mais relevante fonte de MT, porém células em bom funcionamento também podem dar origem a cfDNA ¹¹.

A variação do DNA total circulante oscila dependendo do estadiamento da doença. Os mecanismos mais aceitos para sua entrada na corrente sanguínea são: a quebra celular, a morte celular (apoptose), a necrose, os exossomos que propagam espécimes patogênicas e possuem a função de promover e regular a resposta imune, os virossomos que, no interior das células alvo entregam o composto indicado e, por fim, a secreção pelo tumor e macrófagos, tornando o cfDNA livre no sangue na forma de cadeia simples ou dupla sendo as formas de cfDNA liberadas dependentes diretamente do tipo de tumor ¹¹.

As CTC's diferenciam-se dos demais elementos circulantes no sangue por apresentarem peculiaridades físicas únicas, como: dimensões aumentadas e densidades diferenciadas, além de carga, flexibilidade (deformabilidade) e propriedades migratórias. Muitas das CTC's expressam marcadores de superfície de células epiteliais como EpCAM e CK ¹².

5.2 PRINCIPAIS MARCADORES TUMORAIS

Os principais marcadores tumorais identificados nessa pesquisa possuem sua origem na TEM apontando para sua importância e relação com os cânceres de mama, de colo retal (CCR), de células renais, de pulmão, de pâncreas, de tireóide, carcinoma basocelular (CBC) e carcinoma espinocelular (CEC), próstata e muitos

MT's são comuns a vários cânceres. Claro está que para o diagnóstico de um tumor vários testes e exames são solicitados e a combinação de mais que um MT para essa detecção é importante para a exata indicação de tratamento, prognóstico, indicação de sobrevida ou prevenção ^{4,5,6,10,11,12,18,19}.

5.2.1 CANAIS IÔNICOS

Através da dosagem do cálcio sérico por exame de sangue, demonstrando que a hipercalcemia persistente indica, segundo levantamentos estatísticos, que 45% dos casos de hipercalcemia persistente estão relacionados com algum tipo de câncer ⁴. É apontado como indicativo de adenocarcinoma de mama ^{4,14,17}, rins, CCR, carcinoma epidermoide de pulmão, leucemia aguda de células T no adulto e linfoma ^{4,5,6}, mieloma múltiplo ⁴ além de hiperparatireoidismo. Também diagnosticado por eletroforese de proteínas séricas ⁴.

5.2.2 WNT (SINALIZADOR CANÔNICO)

A via canônica está envolvida nos processos de desenvolvimento embrionário tais como migração e especialização celular, apontando para cânceres do tipo melanoma, leucemia mieloide aguda (LMA) ⁵, câncer de intestinos ⁶ e mama ^{4,5,6}. Associado a ele a elevação dos níveis citoplasmáticos e nuclear da proteína β -catenina através da deterioração da via wnt/ β -catenina, nas células tumorais, apresenta 90% de ocorrência no CCR ¹⁵ e foi a primeira associada a evolução desse câncer. Visualizado através de exame de imunoistoquímica ¹⁵.

5.2.3 TGF- β (FATOR TRANSFORMADOR DE CRESCIMENTO BETA)

Uma das mais relevantes citocinas geradas durante o processo inflamatório crônico, podendo também apresentar-se no processo de angiogênese e atingir bem diretamente o aumento da reprodução e diferenciação de células endoteliais, podendo dar início a mutações genéticas. Encontrado no câncer de pâncreas ³, CCR, gástrico ^{4,6}, CCO (câncer da cavidade oral) e CCE (câncer de células escamosas), cabeça e pescoço ²⁰. Identificação realizada por sequenciamento genético, RT-PCR ²⁰.

5.2.4 PSA (ANTÍGENO PROSTÁTICO ESPECÍFICO)

É o biomarcador consagrado e há muito utilizado para detecção específica do câncer de próstata. O PSA é um antígeno prostático codificado pelo mRNA da peptidase 3 associada à calicreína característico da próstata (KLK3). Identificado através de exame de sangue com solicitação específica para o antígeno ^{4,18}.

5.2.5 GNB2

Gene contido no cromossomo 7 ¹⁶. Esse biomarcador possui potencial para identificar, tanto para diagnóstico quanto prognóstico, através de exame genético específico (RT-PCR) o carcinoma hepatocelular do fígado e do adenocarcinoma do reto ^{5, 16}.

5.2.6 CA 19.9

É um antígeno que se encontra na superfície celular. Depois do tumor estabelecido há elevação na liberação dessa proteína no sangue periférico, dessa forma, aumentando muito sua taxa. Esse MT surge em várias neoplasias, estando bem indicado na avaliação do câncer de pâncreas por sua alta sensibilidade (70 a 90%) apontando a presença de tumor ^{3,4,15} e câncer do colon ⁴. Realizada sua identificação através de exame de sangue com pedido médico específico para a proteína em questão ^{3,4,15}.

5.2.7 NOTCH

Por ser um sinalizador envolvido no desenvolvimento de células embrionárias, diferenciação, proliferação e apoptose celular, indicando presença de tumorigênese em neoplasias neurológicas, hematológicas e epiteliais; associado a uma variedade grande de cânceres como: leucemia linfoblástica aguda de células T (LLAT), carcinomas de colo uterino, endometrial, colorretal, de cabeça e pescoço, pulmonar, renal, pancreático, leucemias e linfomas e também no câncer de mama. Identificado através do exame imunoistoquímica ^{5,22}.

5.2.8 NF-KB

Fator de transcrição nuclear kappa B (NF-κB) age controlando a transcrição de genes em processos inflamatórios e é uma via comum de ativação das proteínas TNF-α e o TGF-β. Essa via de ativação é objeto de estudo e intervenção ao longo do tratamento do câncer, por ser passível de transcrição gênica polimórfica com possibilidade de geração de células tumorais. Apresenta-se nos cânceres orofaríngeos, de esôfago ²⁰, mama, próstata, LL e mieloma ⁴. Identificados pelo exame RT-PCR ²⁰.

5.2.9 P53

É a proteína codificada pelo gene de supressão tumoral Tp53 ^{6,13} encontrado no cromossomo 17 e 18 ⁶. Sua detecção é feita pelo exame de imunohistoquímica RT-qPCR ^{6,13,17} com sonda de *TaqMan* (sonda utilizada para detectar sequências específicas nos fragmentos de DNA amplificados na PCR). Identifica CCR ⁶, metástases hepáticas, infiltração pleural, metástases pulmonares, invasão extra-tireóidea, metástases hepáticas, metástases linfonodais, carcinoma baso celular ¹³ e mama ^{14,17}.

5.2.10 TWIST

Fator de transcrição que atua regulando a expressão gênica no decorrer da embriogênese e a TEM, inclusive das metástases ¹⁴. Encontrado nos cânceres de mama ^{4,14,17} e de pâncreas ³. Obtido pelo exame de imunohistoquímica RT-qPCR e immunoblotting ^{14,17} sua super expressão no sangue periférico não é um bom sinal apontando para metástases ¹⁴.

5.2.11 MGA (MAMAGLOBULINA A)

Proteína específica de produção das glândulas mamárias. Diagnosticadas por RT-PCR e imunohistoquímica com imunocoloração para receptores de estrogênio (RE) e receptores de progesterona (RP) ¹⁴. Diagnóstico específico para câncer de mama ^{14,17}.

5.2.12 ZEB1

É o fator de transcrição que contém proteínas proto-oncogênicas. Esse marcador foi encontrado no câncer de pâncreas e hepático ^{3, 4}. Identificado através do RT-PCR ⁴.

5.2.13 FOSFATASE ALCALINA

Quando seu índice estiver aumentado, também é muito utilizada para investigar metástases no fígado provenientes de um câncer primário, como, por exemplo, no pâncreas este também se apontar para uma hiperbilirrubinemia sugere provável metástase hepática ⁴ e osteosarcoma proveniente de um câncer primário de próstata ^{4,5}. Identificados através do hemograma ^{4,5}.

5.2.14 EpCAM e CITOQUERATINA (CK)

São marcadores de superfície de células epiteliais, sendo identificados no sangue periférico em situações apontando cânceres de próstata ^{12,21}, mama, CCR ¹⁹ e também quando doenças inflamatórias ou queimaduras na pele acometem o paciente, ficando este diagnóstico de câncer por células EpCAM e CK prejudicado nessa situação, mas pode compor conjuntamente com outros marcadores ^{12,19,21}. As CK's são as mais importantes proteínas estruturais presentes nas células epiteliais, sendo que as células basais expressam as CK5 e CK14, ao passo que as luminais expressam CK8 e CK18. Autores ^{19,21} mostram que as CK's são geradas por clivagem de caspases (cascata de caspases) no curso da apoptose celular, o que gera sua liberação no sangue periférico, circulando então, por todo o corpo ²¹, detectado por exame histopatológico ^{19,21}.

5.2.15 SONIC HEDGEHOG (SHH)

Origina-se do estímulo ou ativação descontrolados do gene *smoothed* (SMOH). É a proteína ligante que origina a principal via de diferenciação embriológica, base para a embriogênese normal ¹³. Detectado através de exames histopatológicos utilizando-se a coloração *alcian blue*. Está envolvido no processo

carcinogênico dos CBC's na pele, cânceres de próstata, do trato digestivo, pâncreas, leucemias, gliomas no SNC e meduloblastomas ¹³.

5.2.16 DESIDROGENASE LÁCTICA

Essa enzima encontra-se presente em todas as células dos tecidos. Quando aumentada indica relação com destruição tecidual sendo um péssimo prognóstico. Como MT de escolha, indica tumores de células germinativas: testículo e ovários auxiliando na avaliação do estadiamento do tumor. Serve, também, como indicador auxiliar nos cânceres melanoma, neuroblastoma de próstata e linfoma não-hodkin. Para esse indicador temos alguns interferentes que seriam anemias hemolíticas, hepatopatias, doenças musculares e infarto pois elevam seu nível sérico tornando tanto a sensibilidade quanto especificidade baixos ¹⁹. Detectado por hemograma ¹⁹.

5.2.17 cfDNA

Esse MT circulante é disponibilizado em diferentes quantidades e formas na corrente sanguínea, podendo ser liberado sob a forma de fita simples e/ou dupla. Encontrado no câncer de células renais, mama e pulmão. Obtido através do RT-qPCR ¹².

5.2.18 CTC's

São analisadas através da detecção, enumeração, isolamento, enriquecimento e caracterização molecular. No isolamento e para otimização dos filtrados são empregados filtros que levam em conta as particularidades físicas, elétrica e densidade das moléculas ^{11,12,19}. Identificados por RT-PCR e mais especificamente pelo RT-qPCR ^{12,19}.

5.3 EXAMES PARA DETECÇÃO DE MT'S

Nessa pesquisa o único exame específico encontrado para localização de CTC's no sangue periférico e liberado pelo Food and Drug Administration (FDA) foi o Kit de filtração celular ScreenCell®, (Veridex, Raritan, NJ, EUA) ¹⁹. Aprovado para

monitorar pacientes com metástases no CP. O limitante desse teste é a sensibilidade que detecta 1 CTC/7,5 mL de sangue periférico total. Outra limitação é com referência ao equipamento específico exigido para realizar esse teste que é o CellTracksAutoPrep e a unidade CellTracksAnalyzer II (Veridex LLC, Raritan, NJ, EUA) ¹⁹.

6. DISCUSSÃO

Para reconhecimento dos marcadores tumorais, a utilização de alguns anticorpos podem ser dificultadas pela grande quantidade de expressão de proteínas sobre a superfície celular pois alguns tumores não apresentam, por exemplo, EpCAM e CK's por baixa afinidade ou número de receptores reduzidos ao longo da via de transformação da TEM. Para identificação de CT's diminuindo custos pode-se aplicar um filtro diretamente no exame de imunocitoquímica para isolar células pelo tamanho utilizando o mesmo método ScreenCell[®] podendo realizar cultura de células vivas ¹⁹.

É importante destacar que a hipóxia é uma das mais relevantes características do biosistema ou microambiente tumoral, conferindo para o fenótipo das CT's, tumorigenicidade e metástases. Dessa forma, o aumento da expressão das cfDNA está diretamente ligada ao processo progressivo carcinogênico ^{12, 21}.

As metástases do câncer podem decorrer de células tumorais circulantes (CTC's) ³⁻²⁰. Esse fato já foi devidamente comprovado em cânceres metastáticos de mama e CCR ^{3-6,11,12,17,19,21}, apontando para a conclusão de que, conforme aumenta o número de CTC's no sangue periférico, piores são as sobrevidas livres de progressão (SLP) e sobrevida global (SG) dos pacientes ³⁻²⁰. Quando há propagação das células tumorais, através da invasão da rede vascular vizinha ou de vasos formados dentro do próprio tumor, em ambas as situações, há estímulo de modificação do tecido epitélio-mesenquimal (TEM) ^{4,5,6,11,12,13,17}. Autores ^{5,9,11,15,16,19, 21} certificam que concentrações mínimas de oncogenes ativas são capazes de converter uma célula não tumorigênica em uma célula absolutamente tumorigênica. Esses achados reiteram que a alteração genética é determinante para a malignidade ^{19,20,21}. Comprovando esses dados Gasparine Jr ³ demonstra que as CTC's parecem ser bons biomarcadores, pois foi demonstrado em seu

trabalho que nas coortes de pacientes analisados, nenhum dos voluntários saudáveis apresentou CTC's, apontado para sua especificidade. Outrossim, o isolamento dessas células viabiliza a análise proteômica, genética e molecular das células tumorais de forma não invasiva.

Naoum ⁴ aponta para a eficácia do exame de citogenética de Fish (Hibridização *in situ* por fluorescência) sendo um método que possibilita a observação e análise da quebra de cromossomos e suas partes recompostas ou translocadas em cromossomos distintos. Embora não sejam opções de custo acessíveis, tanto a citogenética de Fish quanto o RT-PCR, são os principais exames de escolha quando trata-se de MT's cromossômicos ¹⁹. A evolução dos exames remete, cada vez mais, à biópsia líquida por ser de custo mais acessível e com menor trauma para o paciente ^{19, 20, 21}, como por exemplo, o kit de filtração celular ScrennCell® ¹⁹, contudo exames mais tradicionais, apontados por Salazar ¹⁸, também demonstram sua eficácia como os exames de imagem PET-CT, mamografia e, até mesmo, o RX. Ainda é possível contar para os estudos e pesquisas com a bioestatística que facilita muito a pesquisa com resultados confiáveis e diversificação de populações pois os bancos de dados não vislumbram fronteiras étnicas ^{5, 19-22}.

7. CONCLUSÃO

Esse estudo apresenta o avanço nas pesquisas por biomarcadores específicos para o câncer, a dificuldade na realização de exames devido a muitas variantes, bem como, em razão do alto custo financeiro. Tais apontamentos refletem no paciente, visto que muitos exames não são cobertos por planos de saúde e, tampouco, pelo sistema de saúde público.

Novas pesquisas estão surgindo e, nos últimos cinco anos, avançou-se na descoberta de biomarcadores e exames minimamente invasivos para detecção de cânceres, de forma que a resposta à questão norteadora seja, então, respondida. Nesta seara, ainda, observam-se as descobertas de novas formas de detecção dos MT's, embora alguns avanços ainda estejam acontecendo, como podem ser observados na transformação molecular da TEM, no avanço tumoral e na eficácia do tratamento pela resistência a drogas citotóxicas. Para que haja um melhor entendimento deste processo, maiores estudos precisam ser realizados.

Também pode ser observado que, a grande maioria dos MT's, detecta o tumor já estabelecido, independentemente de seu tamanho ou metástases. Ainda não estabeleceu-se um MT de prevenção, ou seja, sua detecção antes do estabelecimento do tumor maligno.

8 REFERÊNCIAS

1. INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER – INCA (Brasil). **Tipos de câncer**. Publicado em 31/05/2022, atualizado em 14/07/2022. Disponível em: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/definicao>; acesso em 25/03/2023.
2. FREITAS, G. *et al.* **Oncologia e Hematologia**, Ed. Pasteur. 2ª. ed. Paraná. Brasil, 2022.
3. GASPARINI, J. *et al.* **Avaliação da expressão de MMP-2 e TGFβ-RI em células tumorais circulantes de pacientes com câncer de pâncreas e sua correlação com evolução clínica**. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva. V. 32. N. 2. p. 1-4, 2019.
4. NAOUM, D. **Marcadores Tumorais**. Academia de Ciência e Tecnologia de São José do Rio Preto. V. 1, N. 4, p.1-32, São Paulo, Brasil, 2019.
5. ZHANG, L. *et al.* **A detailed multi-omics analysis of GNB2 gene in human cancers**. Brazilian Journal of Biology. V. 84, N. 1, p.1-10, Brasil, 2023.
6. GUEDES, V. R. **Avaliação da expressão das proteínas Cerb-B2, P53 e instabilidade de microssatélites no adenocarcinoma colorretal no Estado do Tocantins**. In: Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Tocantins. Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia. Rede Bionorte. Palmas, Tocantins, Brasil, 2020.
7. FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ – FIOCRUZ (Brasil). **Linha do tempo**. <https://portal.fiocruz.br/linha-do-tempo> : acessado em 02/04/2023.

8. INSTITUTO ONCOGUIA (Brasil). **Câncer um problema de saúde que o Brasil precisa encarar**. <http://www.oncoquia.org.br/conteudo/cancer-e-um-problema-de-saude-publica-que-o-brasil-precisa-encarar/14296/7/> publicado em 25/01/2021: acessado em 02/04/2023.
9. AZIZ, M. *et al.* **Krukenberg Tumor**. National Library of Medicine. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; Jan, 2023.
10. ONE, G. **Biotecnologia interativa**. Instituto Medeiros de Educação Avançada – IMEA, Cap.4, pg.75. João Pessoa, Paraíba, Brasil, 2019.
11. CAGLAR O. *et al.* **Evaluation of circulating cell free DNA in plasma as a biomarker of different thyroid diseases**. Brazilian Journal of Otorhinolaryngology. V.86, N.3, p. 321-326, 2020.
12. LOPES, D.I.C. **Células Tumorais Circulantes como Biomarcador no Carcinoma de Células Renais – Revisão das Técnicas de Detecção**. Universidade de Lisboa, Faculdade de Medicina de Lisboa, Clínica Universitária de Urologia, Portugal, 2018.
13. LEITE, L.L. **Estudo da expressão imuno-histoquímica da proteína ligante “sonic hedgehog” em carcinomas basocelulares de pacientes do serviço de dermatologia do hospital de clínicas de Porto Alegre**. In: Tese (Mestrado) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de pós-graduação em medicina: ciências médicas, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil, 2019.
14. GALLUCCI, G. *et al.* **A combinação de mamaglobina A e twist-1 aumenta a detecção de células tumorais circulantes no câncer de mama**. Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial. V.57, N.1, p. 1-10, 2021.
15. SOUZA, W.F. *et al.* **Sinalização celular em câncer**. Ciência e Cultura, V.66, N.1, São Paulo, 2014.

16. OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man). **Guanine nucleotide-binding protein, beta-2**. Disponível em <https://www.omim.org/entry/139390>; publicado em 25/04/2022 acessado em 10/10/2023.
17. GODONE, R.L.N. **Identificação de marcadores moleculares para diagnóstico, predição e prognóstico de câncer de mama**. In: Tese (Doutorado), Universidade Federal de Pernambuco, Laboratório de Imunologia Keizo Asami, programa de pós-graduação em biologia aplicada à saúde, Recife, Pernambuco, Brasil, 2018.
18. SALAZAR, A.L. **Avaliação das expressões dos marcadores tumorais GLUT-1, hexoquinase-II, Ki-67, p53, p-16 com F¹⁸-FDG PET/CT em pacientes com câncer de pâncreas**. In: Tese (Doutorado), Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina, programa de pós-graduação em cirurgia e oftalmologia, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, 2022.
19. SILVA, L.S. **Pesquisa de células tumorais circulantes em pacientes com câncer de próstata por método de filtração celular**. In: Tese (Mestrado), Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Medicina, Botucatu, São Paulo, Brasil, 2018.
20. SANTANA, I.T.S. **Valor prognóstico dos polimorfismos funcionais nos genes da PON1, TNF- α e TGF- β no carcinoma de células escamosas oral e orofaríngeo**. In: Tese (Mestrado), Universidade Federal de Sergipe, Pró-reitoria de pós-graduação e pesquisa, programa de pós-graduação em ciências aplicadas à saúde. Lagarto, Sergipe, Brasil, 2018.
21. BARCELOS, L.S. **Avaliação da atividade de cell-free DNA (cfDNA) isolado de linhagem tumoral prostática em células normais recipientes**. Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Biologia, Uberlândia, Minas Gerais, Brasil, 2018.
22. BELCHIOR, H.O.M. **Imunoexpressão da via de sinalização Notch no carcinoma invasor da mama e sua associação prognóstica**. In: Tese (Doutorado), Fundação Antônio Prudente e Escola Cearense de Oncologia-ECO.

Programa de Pós-Graduação Interinstitucional (DINTER), Curso de Pós-Graduação em Ciência, São Paulo, São Paulo, Brasil, 2018.

8 ANEXO – NORMAS DA REVISTA CIENTÍFICA – RBAC

Os manuscritos poderão ser submetidos dentro das categoriais de comunicação científica designadas abaixo:

Artigo de revisão. Trabalhos com avaliações críticas e sistematizadas da literatura sobre um determinado assunto que deverá dar ao leitor uma cobertura geral acerca do tema apresentado. Os artigos de revisão deverão conter: título com até 250 caracteres, incluindo espaços, título abreviado com até 40 caracteres, incluindo espaços, resumo/abstract não estruturado com até 250 palavras, 3 a 5 descritores (palavras-chave/keywords), texto ordenado com títulos e subtítulos, considerações finais e referências. O trabalho não deverá exceder 5000 palavras, excluindo-se tabelas, figuras e referências.

Os manuscritos deverão ser escritos em processador de texto com extensão “.doc” ou “.docx”, utilizando fonte Arial, tamanho 12, espaçamento de linhas 1,5 (espaçamento ZERO antes e depois), e margens personalizadas em 2,5 em todas as direções.

A estrutura geral do manuscrito, a depender da categoria do artigo, deverá atender a seguinte ordem:

Título completo: Deve ser conciso e conter informações relevantes que possibilitem a recuperação do artigo nas bases de dados. O limite é de 250 caracteres, incluindo espaços. Evitar abreviaturas no título e os nomes das espécies ou palavras em latim deverão vir em letras minúsculas (excetuando-se, quando foro caso, a primeira letra da palavra) e em itálico.

Título abreviado: Deverá ser resumido e conter a ideia central do trabalho. O limite é de 40 caracteres, incluindo espaços.

Autoria e Afiliações: O nome completo do autor principal e coautores deve ser incluído seguindo o formato pelo qual já é indexado nas bases de dados e constante no ORCID. Podem ser incluídas até três hierarquias institucionais de afiliação (por exemplo: universidade, faculdade, departamento). O nome e endereço eletrônico do autor responsável pelo manuscrito deve ser indicado para troca de correspondência.

Resumo/Abstract/Resumen: Deverá ser redigido de forma impessoal, bem como ser conciso e claro, destacando os fatos de maior importância encontrados e as conclusões obtidas. As especificações quanto ao tipo de resumo estão descritas em cada uma das categorias de artigos. Referências não deverão ser citadas e o emprego de acrônimos e abreviaturas deverá ser limitado. A versão em inglês (*Abstract*) deve ser incluída. Para manuscritos em espanhol (*Resumen*), as versões em português (Resumo) e inglês (*Abstract*) deverão ser incluídas. O limite é de 250 palavras.

Descritores: Para manuscritos escritos em português ou espanhol, devem ser indicados entre 3 a 5 descritores extraídos do vocabulário “Descritores em Ciências da Saúde” (DeCS), elaborado pela BVS/Bireme (<http://decs.bvs.br/>), no idioma original. Para manuscritos em inglês, e para os descritores em inglês (*keywords*), utilizar o *Medical Subject Headings*

(MeSH), elaborado pela *National Library of Medicine* (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/>). Se não forem encontrados descritores adequados para a temática do manuscrito, poderão ser indicados termos livres.

Introdução: Deverá apresentar a justificativa para a realização do estudo, situar a importância do problema científico a ser solucionado e estabelecer sua relação com outros trabalhos publicados sobre o assunto, apoiados em referências pertinentes. A introdução não deverá incluir ainda dados ou conclusões do trabalho em referência. O objetivo do manuscrito deve estar explícito no final da introdução.

Material e métodos: Deverão ser descritos de forma clara para possibilitar a reprodução e replicação do trabalho. Nesta seção, deverão ser informados o desenho experimental (população, tamanho amostral, instrumentos de coleta e processamento de dados), o material envolvido, a descrição dos métodos utilizados, as variáveis analisadas e a(s) hipótese(s) testada(s). Devem ser incluídas as devidas referências para as técnicas e métodos empregados, inclusive os métodos estatísticos. Métodos já publicados, a menos que tenham sido modificados, deverão ser referidos apenas por citação. É fundamental que os métodos novos ou

substancialmente modificados sejam descritos, justificando-se as razões para seu uso e mencionando-se suas limitações. Fontes de reagentes e equipamentos (marca e país) deverão ser mencionados. Nomes que são marcas registradas deverão ser claramente indicados. Para melhor leitura e compreensão, subtítulos poderão ser estabelecidos. Os critérios éticos de pesquisa devem ser expressamente mencionados nesta seção. Deverá ser declarado, textualmente, o cumprimento da legislação nos estudos conduzidos com seres humanos (direta ou indiretamente) ou com animais. Deverá ser mencionada também a aprovação do Comitê de Ética correspondente da instituição a qual pertencem os autores responsáveis pelos experimentos, com inclusão do número do parecer. O Corpo Editorial da Revista poderá recusar artigos que não cumpram rigorosamente os preceitos éticos da pesquisa.

Resultados: Deverão ser apresentados em sequência lógica e com o mínimo possível de discussão ou interpretação pessoal, acompanhados de gráficos, tabelas e ilustrações. Os dados constantes nesses elementos gráficos, no entanto, não deverão ser repetidos integralmente no texto, evitando superposições. Apenas as informações mais relevantes deverão ser transcritas e enfatizadas. Os resultados provenientes de análises estatísticas devem ser detalhados.

Discussão: Deverá ficar restrita ao significado dos dados obtidos e resultados alcançados, procurando, sempre que possível, uma correlação com a literatura da área. Não deverá ser incluída uma revisão geral sobre o assunto. A repetição de resultados ou informações já apresentadas em outras seções, bem como especulações que não encontram justificativa para os dados obtidos deverão ser evitadas. Caso o(s) autor(es) opte(m) por realizar a discussão juntamente com os resultados, este item deverá ser nominado “**Resultados e Discussão**”.

Conclusões ou Considerações finais: Deverão ser concisas, fundamentadas nos resultados e na discussão, contendo deduções lógicas e correspondentes aos objetivos propostos. Em alguns casos, poderão ser incluídas no item discussão, não havendo necessidade de repeti-las em item a parte.