Efectividad de los biomarcadores salivales como medio de diagnóstico para el cáncer bucal con base en una revisión sistemática de la literatura

>>> El cáncer bucal es uno de los cánceres más comunes en todo el mundo y, por lo general es inadvertido por la población común. La detección temprana y posterior tratamiento ofrecen una posibilidad de curación ya que la tasa de supervivencia es muy baja. En la siguiente revisión se propone la utilización de la saliva como fluido de diagnóstico, pronóstico y seguimiento en el tratamiento de muchas enfermedades bucales.

>>> AUTORES

Álvaro González (1), Carlos Pérez (1), Eduvigis Solórzano (1), María de Los Ángeles León (2), Oscar Morales (3)

1. Laboratorio Integrado de Biología Molecular y Celular. Facultad de Odontología. Universidad de Los Andes. Mérida Venezuela.
2. Clínica Estomatológica. Facultad de Odontología, Universidad de Los Andes, Mérida Venezuela.
3. Departamento de Investigación. Facultad de Odontología. Universidad de Los Andes. Mérida Venezuela.

>>> CORRESPONDENCIA

Eduvigis Solórzano
Email: duvysolorzano@gmail.com

>>> RESUMEN

Introducción Artículo de investigación de revisión sistemática, derivado de la investigación de la "efectividad de los biomarcadores salivales como medio de diagnóstico para el cáncer bucal con base en una revisión sistemática de la literatura" desarrollada del año 2014 al 2016 el cual se ha iniciado y culminado en la Facultad de Odontología de la Universidad de Los Andes. La saliva es un biofluido que puede ser usado para el diagnóstico, prevención y monitoreo de enfermedades a través de los biomarcadores. Presenta ventajas en comparación con el plasma sanguíneo, ya que el método de recolección de muestra es "no invasivo" y puede ser tomada directamente por el mismo individuo, no hay necesidad de personal ni equipo especializado para su obtención y almacenamiento, es, además, de bajo costo. Más de 100

biomarcadores han sido descritos en la literatura para la detección de enfermedades bucales de origen neoplásico.

Metodología: Investigación descriptiva de diseño documental, dado que las fuentes de información fueron estudios secundarios publicados en un período comprendido entre los años 2005 y 2015. Se realizó una búsqueda exhaustiva durante los meses de febrero hasta noviembre del año 2015.

Las bases de datos que se utilizaron para la búsqueda de información fueron: Medline, Elsevier, Lilacs, Scielo, Biblioteca Cochrane y Dialnet.

Para la selección de los estudios, se consideraron varios criterios de exclusión y para realizar el análisis de los datos de esta investigación, se procedió a la revisión de los textos por partes, todo esto con el fin de buscar patrones y así poder categorizar la información y mostrar los resultados de una manera clara y detallada.

Resultados: De los artículos consultados se puede afirmar que las citoquinas son las más específicas para el diagnóstico de cáncer bucal. Específicamente la IL-6 y la IL-8; se sabe que la CD44 es eficaz para detectar lesiones premalignas. En este orden, los miARN se consideran moléculas de alta especificidad; cuya característica permite atestiguar que tienen potencial para ser excelentes herramientas de pronóstico en esta patología.

Conclusión: Se ha podido evidenciar claramente la efectividad del uso de estos biomarcadores obtenidos a través de la saliva, ya que permiten el diagnóstico, seguimiento y pronóstico de enfermedades cancerígenas al encontrarse alterados en las pruebas respectivas. Asimismo, los biomarcadores mencionados pueden ser usados para la clasificación de la enfermedad y factores de riesgo en pacientes con lesiones premalignas de la cavidad bucal o que no tienen acceso a un odontólogo especializado.

Palabra clave: Saliva, biomarcadores, diagnóstico, cáncer oral

>>> INTRODUCCIÓN

La cavidad bucal por su posición anatómica especial, sus múltiples funciones, así como su exposición permanente ante agentes físicos, químicos y biológicos, merece una cuidadosa atención médica tanto en la prevención, como en la detección precoz de cualquier afección neoplásica. Es por eso que, se requiere conocer de forma actualizada los adelantos más importantes en oncología, en especial a lo atinente al origen del cáncer bucal, apoyados fundamentalmente en el desarrollo logrado en la ingeniería genética y la biología molecular (1)(3).

El cáncer bucal es uno de los cánceres más comunes en todo el mundo y, por lo general es inadvertido por la población común, en comparación con los carcinomas sistémicos como el cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer de seno, entre otros; el cáncer bucal es el sexto cáncer humano más frecuente. No obstante, existe una variabilidad geográfica con una mayor prevalencia en América del Sur, Sudeste Asiático y sobre todo en la India, en la cual el cáncer bucal representa el 40% de todos los tumores malignos (25). Así mismo, en Venezuela, el cáncer constituye una de las causas más frecuentes de muerte, ocupa la segunda posición en la mortalidad general detrás de las enfermedades del corazón. La proporción indica que una de cada cuatro personas, si alcanza la edad de 74 años, será afectada por algún tipo de cáncer y una de cada siete tiene el riesgo de fallecer por el mismo.

En tal sentido, las manifestaciones bucales del cáncer bucal son cada vez más frecuentes, así como el cáncer bucal propiamente dicho (20). Sin embargo, también puede ser muy agresivo si no se diagnostica y se trata a tiempo, aun incluso en etapas iníciales de la lesión. La detección y tratamiento temprano ofrece la mejor oportunidad para su curación, la tasa de supervivencia es muy baja, más o menos de unos 5 años (1).

El cáncer bucal pertenece al grupo de cáncer de cabeza y cuello que puede surgir como una lesión primaria en cualquier parte de la cavidad bucal u orofaringe, o por metástasis desde un sitio distante de origen.

Es más común que se presente en lengua, piso de la boca, mucosa bucal, encía y labios.

Puede ser un pequeño problema en términos numéricos, pero se considera como altamente letal en la población mundial (2). La detección y el diagnóstico se basan actualmente en el examen clínico, la evaluación histopatológica y métodos moleculares. Varios medios de diagnóstico se han desarrollado a lo largo de los años para la detección precoz del cáncer bucal (3). En los últimos años la prevalencia del cáncer bucal ha aumentado, se estima que en total 350.000 nuevos casos se registran anualmente en todo el mundo, de estos el 10% ocurren en los Estados Unidos. El riesgo es más alto en hombres mayores de 40 años, fumadores, consumidores de alcohol y en personas con antecedentes de cáncer de cabeza y cuello (3). Aunque existe un creciente esfuerzo dedicado a la investigación del cáncer, concentrada en la identificación de biomarcadores en saliva para el diagnóstico precoz y agresividad biológica (3) son pocos los odontólogos, investigadores, y demás personal del área de la salud que se pueden enfrentar a cantidades inmanejables de información relativa a este tipo investigación científica y es poco probable que todos dispongan del tiempo y los recursos necesarios para evaluar e identificar esta evidencia e incorporarla a las decisiones clínicas (4). Por lo tanto, en este estudio se plantea realizar una revisión sistemática de la literatura, que recopile de forma actualizada y en español toda la información que se encuentra disponible, es por eso que surge la necesidad de realizar esta revisión sistemática debido a que en Venezuela no se ha reportado este tipo de investigación que reúna información específica y relevante referente a la efectividad de los biomarcadores salivales como medio de diagnóstico para el cáncer bucal con base en una revisión actualizada y sistemática de la literatura; que permita a los profesionales de la salud conocer la importancia de la saliva y las técnicas empleadas en el análisis de los biomarcadores presentes en dicho fluido biológico y al mismo tiempo agilizará su aplicación en la terapia clínica con la finalidad de tener diagnósticos más precisos y así ofrecer un tratamiento más eficaz.(5)

Saliva:

La saliva es un líquido incoloro, insípido, algo espumoso y muy acuoso. Es producto de secreción de las glándulas salivales, es un jugo digestivo que durante la masticación se mezcla con los alimentos para formar el bolo alimenticio, facilitando la deglución e inicia la digestión. El término saliva se utiliza como sinónimo de fluido bucal para describir la combinación de líquidos que hay en la boca, el mismo está compuesto por pequeñas partículas alimentarias, microorganismos, secreción de fluido gingival, entre otros. La saliva es un fluido complejo que contiene un 99% de agua y un 1% aproximadamente de sustancias orgánicas e inorgánicas.

También se hallan gases disueltos en ella, como dióxido de carbono y oxígeno. La misma es estéril cuando sale de las glándulas salivales, pero deja de serlo inmediatamente al mezclarse con el fluido crevicular, restos de alimentos, microorganismos, células descamadas de la mucosa bucal, entre otros (16)(17)

Funciones:

a) Lubricación: La saliva es un lubricante muy activo, además del agua, la presencia de la mucina y de glicoproteínas ricas en prolina contribuye con las propiedades lubricantes de la saliva, facilita la formación del bolo alimenticio por su capacidad humectante, y humedecen los alimentos transformándolos en una masa semisólida o líquida para que puedan ser deglutidos con facilidad y permitir que se tenga sensación de gusto (20) (18).

Capacidad amortiguadora o buffer: La función amortiguadora de la saliva se debe principalmente a la presencia del bicarbonato ya que la influencia del fosfato es menos extensa. La capacidad amortiguadora es la habilidad de la saliva para contrarrestar los cambios de pH. Esta propiedad ayuda a proteger a los tejidos bucales contra la acción de los ácidos provenientes de la comida o de la placa dental, por lo tanto, puede reducir el potencial cariogénico del ambiente. Los amortiguadores funcionan al convertir una solución ácida o alcalina altamente ionizada, la cual tiende a alterar el pH, en una solución más débilmente ionizada (20) (3).

b) Participación en la formación de la película adquirida Por la presencia de proteínas ricas en prolina: La capa de saliva sobre los dientes y la mucosa puede crear superficies cargadas e influenciar las uniones microbianas, además de crear una capa de lubricación y protección contra el exceso de humedad, la penetración de ácidos y una débil barrera a la salida de minerales (20).

c) Antibacteriana: El tener presente numerosos sistemas antimicrobianos ayuda a controlar la flora bacteriana y en la protección de los tejidos bucales.

Las IgA actúan como anticuerpos salivales, cuya función es participar en la agregación bacteriana y prevenir su adhesión a los tejidos duros y blandos de la cavidad bucal. La agregación bacteriana también puede suceder por la interacción entre glicoproteínas mucosas y las adhesinas que son las moléculas receptoras de la superficie bacteriana. Hay proteínas como las histaminas que son un compuesto de sustancias antimicóticas. Además, se debe tomar en cuenta la lucha que mantienen las bacterias entre ellas para poder sobrevivir en el medio bucal, por lo que el producto del metabolismo de alguna especie bacteriana puede ser fatal para otra (20).

d) Lavado y eliminación (aclaramiento salival): Definida como la eliminación de una sustancia presente en la saliva en un tiempo determinado. Este es uno de los roles más importantes de la saliva, ya que diluye los substratos bacterianos y azúcares ingeridos. Se encuentra estrechamente vinculado a la tasa de flujo salival, ya que una tasa de flujo salival disminuida trae como consecuencia que la capacidad de lavado o aclaración de los azúcares en saliva sea menor, aumentando la presencia de lesiones cariosas, lo cual es más evidente en la vejez (20).

e) Mantenimiento de la integridad de los tejidos duros (remineralización; mantenimiento de pH): Cuando los dientes hacen erupción, no se encuentran cristalográficamente completos, por lo que la saliva va a proporcionar los minerales necesarios para que el diente pueda completar su maduración, la cual hará que la superficie dentaria sea más dura y menos permeable al medio bucal (20).

f) Gusto: El agua diluye los componentes sólidos y excita a las células de las papilas gustativas. Lava las papilas y las deja en condiciones de ser estimuladas (21).

g) Diluyente y atemperadora: La saliva aumenta de forma brusca y masiva tras la penetración de sustancias acidas con el fin de diluirlas y mantener el pH; pero también, logra por el mismo mecanismo enfriar los alimentos calientes o calentar los fríos (21).

h) Excretora: La saliva es la ruta por la que se van a eliminar productos orgánicos y productos introducidos en el organismo (21).

i) Acción sobre la coagulación: La saliva activa en su conjunto la coagulación de la sangre por la presencia de lisozima y calcio salival, aunque de manera muy discreta (21).

Uso de la saliva como un medio de diagnóstico

La saliva como medio de diagnóstico permite reconocer las concentraciones de una serie de componentes tanto endógenos como exógenos presentes en el organismo. durante la llegada de la tecnología más novedosa, se ha aumentado de forma rápida las investigaciones relacionadas con las glándulas salivales y su producto "la saliva" esto ha permitido que la misma sea utilizada como una herramienta que facilite a los profesionales de la salud llegar a diagnósticos más precisos, toda la tecnología y aparatología que se pone a prueba para estas investigaciones facilitan conocer la función de las glándulas salivales (fisiología), y por ende la cantidad, y calidad de la saliva (xialometría) y todos los componentes que ella excreta (sialoquímica). Y de esta manera permite detectar sustancias y alteraciones anómalas que jamás se creían manifestar a través de las glándulas salivales y su fluido la saliva (23).

Es importante destacar que mientras más se sepa de las glándulas salivales se piensa llevar mucho más adelante el uso de la saliva como fluido de diagnóstico, pronóstico y seguimiento en el tratamiento de muchas enfermedades bucales y sistémicas que comprometen la salud del individuo

como lo es el cáncer bucal (23). La saliva ofrece superioridad debido a que tiene un método de recolección no invasivo, no requiere de adiestramiento, su obtención es muy fácil, en especial en casos de niños, personas con discapacidad, altos niveles de ansiedad, obesidad y hemofílicos. Por lo que en la actualidad se ha mostrado interés en el empleo de la misma para ser utilizada como una alternativa de diagnóstico, predicción y progresión de diversas enfermedades con relación a otros fluidos corporales, de esta manera su uso como diagnóstico de enfermedades ofrece muchas ventajas a diferencias de otros fluidos como es la sangre (23).

Sumado a esto, la saliva constituye una muestra biológica, de bajo costo e indolora. Sin embargo; muchos odontólogos u otros profesionales no la usan ante lesiones que son muy evidentes en la cavidad bucal como la xerostomía, sialorrea, hipersalia, hiposalia, lesiones tumorales en las glándulas salivales, o procesos inflamatorios locales. En muchas especialidades médicas pueden detectarse inmunoglobulinas, factor reumatoideo, β2, microglobolinas, hormonas y drogas como la digoxina, teofilina, el metrotrexano, etc. también se utiliza para determinar antígenos como el citomegalovirus, herpes simple o anticuerpos de (HIV, hepatitis.) Helicobacter pylori y marcadores tumorales responsables del diagnóstico de cáncer bucal.

Cáncer bucal

El cáncer bucal son todas aquellas neoplasias malignas desarrolladas a partir de la mucosa bucal, la cual comprende las siguientes áreas: labios y comisura labial, mejillas, piso de boca y lengua móvil, paladar duro y el istmo de las fauces (24).

La palabra cáncer se emplea para referirse a un grupo de más de 100 enfermedades distintas con más de 1000 variedades histopatológicas que comparten como característica común las divisiones mitóticas descontroladas de las células, y producen lesiones en su ADN como consecuencia de sustancias químicas, virus, y radiaciones. Estas células con daños en su material genéticos son capaces de invadir tejidos y órganos próximos y distantes, que si no son tratadas a tiempo ocasionan la muerte de los individuos en cuyo seno se desarrollan (24).

El término carcinoma hace referencia al cáncer derivado de las células epiteliales (90% de los casos de cánceres). Hablamos de neoplasia cuando se produce una proliferación incontrolada de células somáticas producto de un cambio irreversible en las mismas. El exceso de tejido persiste, aunque cese el estímulo. Las neoplasias pueden ser benignas, si son localizadas y no invaden los tejidos adyacentes ni se diseminan por el resto del cuerpo, o malignas, si invaden y destruyen tejidos con capacidad de diseminarse (24).

Clasificación de los tumores malignos de los tejidos blandos bucales

a) Carcinoma bucal de células escamosas o epidermoide: Es el cáncer que comienza en las células escamosas, encontrándose éstas en piel, revestimiento de los órganos huecos del cuerpo y en los pasajes de los tractos respiratorio y digestivo. Supone el 4% de todos los cánceres del organismo y el 90% de todos los cánceres de la cavidad bucal (23).

b) El carcinoma verrugoso: Consiste en un carcinoma epidermoide descrito aparte por ser su comportamiento distinto, ya que poseen menor grado de malignidad, tienen un crecimiento lento y este no es invasivo (23).

c) El carcinoma de células fusiformes: Comprende un tumor bimórfico que muestra en la superficie focos de carcinoma epidermoide y más en profundidad células fusiformes (23).

d) El melanoma: Es una neoplasia de los melanocitos de alto grado de malignidad que es poco frecuente pero importante ya que puede confundirse con una pigmentación de la mucosa bucal (23).

e) El adenocarcinoma o carcinoma mucoepidermoide: Se define un cáncer que afecta a las glándulas salivales (23).

Los lectores en cuarentena aumentaron un 80%.
¡ES HOY TU OPORTUNIDAD!

EN CUARENTENA
AUMENTÁ TUS VENTAS Y
POSICIONÁ TU MARCA
publicá con nosotros

PARA MÁS INFOMARCIÓN

261 681-6777

ventas@revistabioanalisis.com

www.revistabioanalisis.com

Revista bioanálisis

f) El carcinoma basocelular: Consiste en un cáncer que se origina en la capa más profunda de la epidermis (estrato basal), sobretodo en áreas expuestas al sol (23).

Signos y Síntomas

Los pacientes con desarrollo de cáncer bucal habitualmente, al examen clínico presentan lesiones rojas (eritoplasia), y blancas (leucoplasia) de aspecto papilomatoso que crecen como placas multifocales, frecuente en encía, lengua, piso de boca y mucosa geniana. La coexistencia de la leucoplasia puede observarse adyacente a los carcinomas. Según Santana, el carcinoma epidermoide tiene 7 formas principales de presentación en etapas iníciales: úlcera plana y de bordes emergentes, mancha eritematosa, mancha blanquecina, nodular submucosa, exofítica hundida o infiltrante y excavada. A medida que los procesos tumorales crecen, las lesiones son visibles y en algunos casos palpables en los labios, la lengua y otras áreas en boca, y pueden volverse ulcerativa y comenzar a sangrar. El desarrollo de la mucosa y la ulceración, el dolor en el oído, el mal aliento, la dificultad al hablar, al abrir la boca y al masticar, el dolor en la deglución, e l de sangramiento, la pérdida de peso y la hinchazón del cuello son los síntomas comunes en los cánceres orales avanzados localizados. Los cánceres extremadamente desarrollados presentan proliferación de úlceras con áreas de necrosis y extensión a estructuras como el hueso, el músculo y la piel. En los estadios finales los pacientes pueden presentar fístulas y generar anemia severa. Los rasgos clínicos pueden variar de acuerdo con la zona intraoral afectada (32):

Lengua: área roja dispersa con nódulos o úlceras y dolor.

1. Piso de la boca: área roja con úlceras pequeñas o lesiones papilares.
2. Labio inferior: borde bermellón (margen rosado expuesto del labio) con costra o úlceras.
3. Labio superior: son raros, normalmente en la piel y se extienden a la mucosa
4. Encía: crecimiento ulcero proliferativo (32).

Diagnóstico del cáncer

El diagnóstico precoz del cáncer bucal es un objetivo prioritario, en el que los profesionales de la salud bucal pueden jugar un papel fundamental. La detección debe conducir a menos daño que la terapia del cáncer y esto es esencial para un mejor pronóstico. Aproximadamente del 5% al 15% de la población general puede tener una lesión en la mucosa bucal, aunque la mayoría son benignas, el examen clínico por sí solo no puede diferenciar qué lesiones son potencialmente precancerosas, y cancerosas y cuáles son benignas (33).

La presentación clínica clásica de una lesión premaligna o maligna incluye una leucoplasia, eritoplasia o una úlcera que no cura o cicatriza. Sin embargo, sólo un pequeño porcentaje son malignas; y un examen bucal lamentablemente no puede discriminar entre lesiones que son potencialmente malignas, de las benignas (33).

Actualmente existe un número de técnicas novedosas que pueden ayudar de diversas formas en el diagnóstico de malignidad bucal. La biopsia es el método diagnóstico para evaluar las lesiones bucales sospechosas que pueden ser precancerosas o cancerosas (33).

>>> METODOLOGÍA

Se realizó una revisión sistemática de la literatura, para identificar, evaluar, interpretar y sintetizar la información disponible desde 2005 y 2015, producto de las investigaciones relevantes sobre la saliva y su capacidad diagnóstica para el cáncer bucal. Así, se espera compilar la evidencia existente para facilitar la discusión sobre un componente de la causalidad de la enfermedad, propiciando consensos entre los profesionales.

Recolección de los datos del estudio

Para la búsqueda de los estudios se utilizaron como fuentes de información las bases de datos como Medline (vía PubMed), Elsevier (vía ScienceDirect), Lilacs (vía Bireme), SciELO, Biblioteca Cochrane y Dialnet. También, se llevó a cabo la búsqueda en otros directorios como Doaj, Google Scholar (beta) y el catálogo público

electrónico de los Servicios Bibliotecarios de la Universidad de Los Andes SERBIULA y saber-ULA.

Selección de los estudios

Se establecieron como criterios de inclusión para la selección de los artículos, considerando los siguientes criterios:

• La presencia explicita de dos o más descriptores en el título del trabajo, y uno de ellos necesariamente el cáncer bucal. Para esto se leyeron los títulos de los artículos encontrados. Textos que hayan sido sometidos a un proceso de evaluación: revistas científicas, tesis y trabajos de grado, libros arbitrados, libros de editoriales reconocidas, o memorias de eventos científicos. Para ello se realizó una evaluación de las fuentes de información (vigilancia epistemológica).

• Que comprendan estudios tales como: revisiones sistemáticas, meta- análisis, estudios experimentales, ensayos clínicos, estudio de cohorte y de caso control. Con este propósito, se revisaron los artículos para identificar información, título, resumen, palabras claves y la sección de metodología.

En tal sentido se consideraron los siguientes criterios de exclusión:

• Aquellos que no estén identificados de forma explícita el autor o los autores.
• Estudios in-vitro. Estudios con animales.
• Revisiones sistemáticas en las que no se indique de forma explícita los criterios de búsqueda y selección.

>>> RESULTADOS

En este apartado se presentan los resultados producto de la revisión de los estudios que reportan la efectividad de los biomarcadores salivales para el diagnóstico del cáncer bucal. De tal manera que los datos que se presentan a continuación están estructurados bajo la siguiente estructura numérica:

Descripción de los estudios

Una vez culminada la búsqueda, se estableció una selección de los artículos que se incluyeron en la revisión sistemática; considerando la credibilidad y experiencia de diversos autores para la temática en cuestión. El número total de referencias identificadas por los diferentes medios fue de 110 artículos.

Como resultado del proceso de investigación, se consiguieron 62 estudios clínicos y 48 revisiones sistemáticas, que cumplieron con los criterios de selección. Del total, 86 artículos publicados en idioma inglés y 24 en español.

A continuación, se procedió a la lectura crítica de los documentos. La validez de los artículos seleccionados estuvo dada por el grado de evidencias demostrado, por las recomendaciones expuestas y la aplicabilidad a nuestro contexto.

Los principales estudios seleccionados para esta revisión establecen que el diagnóstico del cáncer bucal se determina al usar el fluido salival, debido a que la saliva contiene abundantes marcadores moleculares o biomarcadores que hacen posible un poderoso diagnóstico ante el carcinoma bucal, ya que proporciona información adicional al examen clínico e histopatológico. Es una alternativa eficaz y cómoda con respecto a los ensayos en sangre (38).

En tal sentido, se han descrito biomarcadores específicos en saliva relacionados con la carcinogénesis bucal, tales como: Ciclina D1, Cyfra 21-1, endotelina-1, galectinas 1, 3 y 7, Ki67, lactato deshidrogenasa, metaloproteinasas 2 y 9, proteína p53, proteína de unión a calcio (S100P), telomerasa, CD44 e interleuquina.

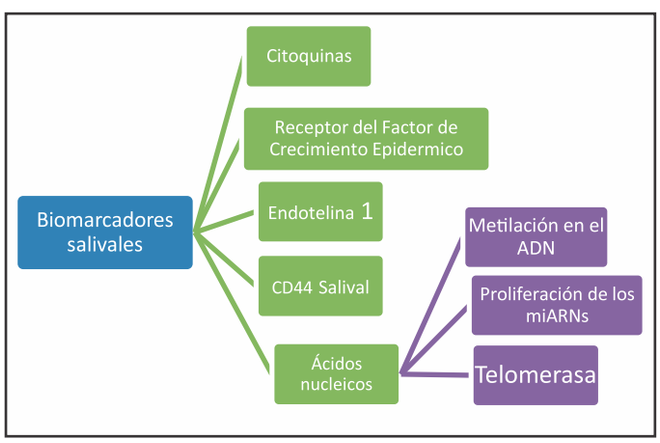
Posteriormente, se exponen los resultados producto de la revisión de los estudios que reportan el uso de biomarcadores salivales para el diagnóstico del cáncer bucal. Luego se subcategorizan las características que debería cumplir dicho medio de diagnóstico. Igualmente, estos resultados son acompañados por su respectivo análisis y discusión. En consecuencia, para exponer los resultados se ha decidido asumir los biomarcadores como las categorías que funda-

mentan la evidencia científica, considerando los biomarcadores existentes y con mayor manifestación cuando hay cáncer bucal.

Biomarcadores en saliva

Los biomarcadores, en un sentido amplio, se podrían definir como un xenobiótico en un fluido biológico o como las alteraciones inducidas por el mismo sobre los componentes celulares, bioquímicos o funciones en un organismo vivo, que son cuantificables en un sistema biológico o muestra (39). Estas son moléculas que, al detectarse en tejidos biológicos, sirven como indicadores de las funciones normales o patológicas de un organismo. Un biomarcador ideal debe adaptarse a una serie de criterios en función de cómo va a utilizarse; debe ser accesible a través de métodos no invasivos, específico para la patología de interés y confiable para la detección de la enfermedad (40). Los resultados se categorizaron en el siguiente grafico considerando los biomarcadores presentes en la saliva, ante un proceso de carcinogénesis (Ver gráfico1).

>> **Grafico 1:** Biomarcadores en saliva



Hallazgos en los niveles de Citoquinas (IL-6, IL-8, IL-1β, FNTα). Las citoquinas son proteínas solubles de bajo peso molecular, mediadoras del crecimiento celular, de la inflamación, la inmunidad, la diferenciación y la reparación, entre otras funciones. Ante una invasión microbiana sirven para iniciar la respuesta inflamatoria y para definir la magnitud y naturaleza de la respuesta inmunitaria específica (52). Un subgrupo de estas citoquinas lo constituyen las proinflamatorias como el Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF-α), la interleuquina 1 (IL-1) y la interleuquina 6 (IL-6) y la interleuquina 8 (IL-8), que median y modulan la activación del sistema inmune; así mismo, dirigen los cambios metabólicos que se producen como consecuencia de la inflamación (53). Por tal motivo, diversos autores han estudiado estas proteínas para el diagnóstico precoz del cáncer bucal, como se evidencia en el cuadro 1. La endotelina 1 es un péptido vasoconstrictor aislado inicialmente del cerdo de donde procede su denominación. Es considerado como el más potente vasoconstrictor conocido por el hombre, es incluso 10 veces más potente que la angiotensina II. Existen tres isoformas y están distribuidas en diversas células y tejidos que intervienen en la modulación del tono vascular, proliferación celular, producción hormonal, balance del sodio, neurotransmisor y como biomarcador ante procesos patológicos (68). La endotelina-1, está conformado por 21 aminoácidos y se han descrito 3 isoformas estrechamente relacionadas: endotelina -1, endotelina-2 y endotelina-3 (ET-1, ET-2 y ET-3 respectivamente), que difieren en pocos aminoácidos constitutivos.

>> **Cuadro 1:** Hallazgos en los niveles de Citoquinas (IL-6, IL-8, IL-1β, FNTα)

AÑO	AUTOR(ES)	TIPO DE ESTUDIO	MUESTRA	METODOLOGÍA	RESULTADOS	CONCLUSIONES
2008	Saheb y cols	Casos y controles	9 pacientes con COCE 9 pacientes sanos	Comparar la concentración de TNF α, IL 1α, IL 6, IL 8 en la saliva de los pacientes con COCE con un grupo de control analizadas con la prueba ELISA	IL 6 ↑en pacientes con COCE (p <0,05) TNF α, IL 1α y IL8 en grupo con COCE no fue significativa (p> 0,05)	Se necesitan más estudios para aceptar la utilidad de estas citoquinas en la predicción o el diagnóstico de COCE o la evaluación del tratamiento
2008	Katakura y cols	Casos y controles	19 pacientes con cáncer bucal (edad promedio de 60 años) 20 pacientes sanos (edad promedio de 32 años)	Detectaron niveles de IL β IL 6 IL 8 y osteopontina mediante la prueba ELISA	IL 1β Casos: 158 pg/ml Controles: 14,1 pg/ml. IL 6 Casos: 85,6 pg/ml Controles: 0 IL 8 y osteopontina no mostraron diferencias	IL 1β, IL 6 están elevadas ante el cáncer bucal, sin embargo IL 8 y osteopontina no presentan diferencias significativas
2009	Maie y cols	Casos y controles	19 pacientes con COCE y 32 pacientes del grupo control	Compara los niveles de IL 6 e IL 8 en pacientes con (COCE) con PCR y ELISA	IL 6 de pacientes con carcinoma fueron (87 pg ml) que en la del grupo control (0 pg / ml)	La IL 6 aumenta en los pacientes con COCE

2012	Punyani y Sathawane	Casos y controles	25 pacientes con lesiones premalignas bucales y COCE 25 controles	Niveles salivales de IL-8 mediante prueba ELISA	IL 8↑ en COCE en comparación con lesiones precancerosas (p <0,0001) y controles sanos (p <0,0001) No hay diferencias entre el grupo premaligno y controles (p = 0,738)	La IL- 8 puede ser utilizada como un biomarcador efectivo para COCE, pero no es confiable para lesiones premalignas bucales
2012	Juretic y cols	Casos y controles	57 pacientes en 3 grupos: 19 con lesiones premalignas. 19 con COCE 19 controles	Detección de TNFα y IL 6 con la prueba ELISA	Niveles de TNF α estadisticamente significativos en todos los grupos IL6 más elevada en pacientes con COCE y menor en el grupo control	TNF α y IL 6 son efectivos a la hora de diagnosticar el cáncer bucal
2014	Cheng y cols	Casos y controles	18 pacientes con COCE 21 Pacientes con PC 21 pacientes con LPO enfermedad activa 20 pacientes con LPO inactivo 21 controles	IL 8 y IL 6 fueron estudiadas por medio de la prueba ELISA	Pacientes con COCE: IL 6> que en pacientes con periodontitis. LPO enfermedad activa (p = 0,001), LPO enfermedad inactiva (P <0,001). Controles (P <0,001)	La IL 6 salival es un biomarcador útil y eficaz en la detección de COCE, inconfundible con la periodontitis crónica o el liquen plano oral

La expresión de endotelinas y sus receptores se asocia con un alto grado de agresividad, invasión y metástasis. Hay aumento de los niveles sistémicos de las endotelinas en los pacientes con metástasis en los ganglios linfáticos. Los mecanismos por los cuales las endotelinas inducen un fenotipo invasivo incluyen la interacción entre las células tumorales, los macrófagos infiltrantes y el microambiente del tumor. Esta compleja interacción conduce a la modulación de las metaloproteinasas de matriz, la expresión de citoquinas, la apoptosis y la expresión de las mismas. Algunos autores (69) (70) (71). Han reportado una elevación significativa de ET-1 en casos de carcinomas bucales. Ver cuadro 2.

Proliferación de CD44 en el fluido salival

Es una glicoproteína transmembrana de tipo I que se encuentra en varios tipos de células mesenquimales funcionales, es de origen neuroectodérmico y es una molécula de adhesión importante. La interacción entre el ácido hialurónico y la CD44 influye en la adherencia a los componentes de la matriz extracelular, y está implicado en la estimulación de la agregación, la proliferación, la migración celular, y la angiogénesis. Todas estas propiedades biológicas son esenciales para la fisiología celular, pero en ciertas condiciones están asociadas con actividades patológicas, en particular los de las células cancerosas. El enlace entre el ácido hialurónico y la molécula de adhesión CD44puede iniciar una serie de eventos que comienzan con modificación de adhesión a la matriz y continuar con la activación de otras moléculas tales como factores de crecimiento y de degradación celular. Todos estos mecanismos influyen en el desarrollo de metástasis (72).

>> **Cuadro 2:** Presencia de Endotelina 1 en fluido salival

AÑO	AUTOR(ES)	TIPO DE ESTUDIO	MUESTRA	METODOLOGÍA	RESULTADOS	CONCLUSIONES
2011	Cheng y cols	Caso y controles	111 pacientes divididos en cinco grupos: pacientes con (COCE)activa (grupoA); pacientes con (COCE) en remisión (Grupo B); pacientes con lesiones de liquen plano activa (GrupoC); los pacientes liquen plano en remisión (Grupo D); y los controles normales (grupo E)	Las muestras salivales de ET-1 se realizaron mediante un ensayo inmunoenzimático ELISA, y los resultados se analizaron mediante la prueba de *Mann Whitney*	ET1 salival en el Grupo A fue significativamente mayor que la encontrada en los demás grupos. No hubo diferencias significativas (p> 0,05) en los niveles de ET 1 salival entre los grupos A y B; Grupos B y C; Grupos B y D; Grupos B y E; Grupos C y D; Grupos C y E; o Grupos D y E	La ET 1 salival podría ser un buen biomarcador para el monitoreo del desarrollo de la enfermedad en pacientes que presenten Liquen plano oral y pudiesen progresar a una potencial enfermedad de cáncer bucal, sin embargo, la ET1 salival parece no ser un b uen biomarcador para la detección de la recidiva del cáncer bucal en pacientes ya tratados
2007	Pickering V y cols	Caso y controles	20 pacientes con diagnóstico de COCE 20 pacientes sanos como grupo control	Las muestras salivales fueron analizadas por el método de PCR ELISA	Los investigadores hallaron niveles salivales de ET 1 significativamente elevados en el grupo de COCE (4,37 ± 1,35 pg/ml), en relación con el grupo control (1,16 ± 0,29 pg/ml)	Estos resultados demuestran la utilidad potencial de la ET1 por medio del análisis salival, y su potencialidad para diagnosticar y controlar a pacientes en riesgo de COCE

>> Cuadro 3: Proliferación de CD44 en el fluido salival

AÑO	AUTOR(ES)	TIPO DE ESTUDIO	MUESTRA	METODOLOGÍA	RESULTADOS	CONCLUSIONES
2007	Franzmann y cols	Caso y controles	26 pacientes con HNSCC 10 pacientes sanos	Utilizaron una prueba ELISA para determinar la CD44 soluble. También se usó una prueba WESTERN BLOT a partir de 2 líneas celulares	solCD44: 7,85 ng/ ml en pacientes con HNSCC. solCD44: 1,09 ng/ ml. En pacientes sanos	La prueba ELISA sobre el solCD44 salival parece detectar efectivamente el HNSCC en todas las etapas. Continuando el estudio se indica ya que la detección temprana es claramente importante en esta enfermedad
2009	Franzmann y cols	Casos y controles	102 pacientes con HNSCC 69 pacientes con enfermedades benignas del tracto digestivo como control	Utilizaron la prueba de ELISA para detectar la solCD44 por medio de enjuagues bucales	Pacientes con HNSCC: solCD44 24,4 32,0 ng/mL Pacientes con tumores benignos: 9,9 16,1 ng/mL	La solCD44 aparece elevada en la mayoría de HNSC,puede distinguir el cáncer de una enfermedad benigna, lo que quiere decir que tiene alta especificidad, mientras que carece de sensibilidad por la solCD44, pero el estado de metilación de la CD44 ayuda complementar esta prueba, lo que indica que juntas estas pruebas podrían detectar el HNSCC
2012	Ghalwash K y cols	Casos y controles	10 pacientes control sanos. 10 pacientes con lesiones bucales premalignas con cambios displásicos. 10 pacientes con lesiones bucales premalignas sin cambios displásicos.10 pacientes con COCE	Los niveles de CD44 soluble (solCD44) se midieron en la muestra de saliva no estimulada (WUS) mediante el método de ELISA	Los niveles de solCD44 salival manifestaron un rango de 19.2 a 20,4 ng/ml en los pacientes con COCE y en pacientes con lesiones premalignas con displasias esto podría indicar transformación maligna dentro de las lesiones de la mucosa bucal	Los investigadores llegaron a la conclusión que el solCD44 posee un alto potencial como biomarcador en las lesiones malignas y premalignas bucales

Alteraciones en los ácidos nucleicos

Metilación del ADN: La regulación de la expresión génica, mediante la metilación del ADN se puede llevar a cabo de dos maneras: directa e indirectamente. Directamente cuando interrumpe la unión de factores de transcripción, e indirectamente propiciando la estructura "cerrada" de la cromatina (77). El ADN presenta regiones de 1000-1500 pb ricas en dinucleótidos CpG que son reconocidas por las enzimas ADN- metiltransferasas, las cuales, durante la replicación del ADN metilan el carbono5 de las citosinas de la cadena recién sintetizada, manteniéndose así la memoria del estado metilado durante la replicación en la nueva molécula de ADN. En general, se considera que la metilación es un proceso unidireccional, de esta manera, cuando una secuencia CpG adquiere metilación, esta modificación se hace estable y es heredada como un patrón de metilación clonal. Por otra parte, la hipometilación que no es más que la pérdida de metilación genómica, se asocia comúnmente con el proceso neoplásico y es proporcional a la severidad de la enfermedad (77).

>> Cuadro 4: Metilación del ADN

AÑO	AUTOR(ES)	TIPO DE ESTUDIO	MUESTRA	METODOLOGÍA	RESULTADOS	CONCLUSIONES
2009	Rosas S y cols	Casos y controles	30 Pacientes con cáncer de cabeza y cuello 30 pacientes sanos	Estudiaron los patrones de metilación de los genes p16, MGMT y DAP- K en carcinomas y en muestras de saliva de 8 pacientes con cáncer de cabeza y cuello. Con PCR específica de metilación	Detectaron patrones anormales de hipermetilación en ambos tipos; p16, MGMT y DAP- K	Concluyen que esta técnica permite una detección eficaz y sensible de ADN tumoral y es potencialmente útil para detectar y monitorizar recurrencias en estos pacientes

Proliferación de miARN

Los micro ARN (miARN) en la saliva humana se han convertido recientemente en un campo emergente en la investigación para el diagnóstico y su posible papel en implicaciones biológicas (99). Recientemente, se ha observado que estas moléculas reúnen muchas características de buenos biomarcadores; por ejemplo, son estables en muchos fluidos corporales, y las secuencias de la mayoría se conservan entre especies diferentes. Además, el nivel de expresión de los miARN puede evaluarse con facilidad por varios métodos, entre los que se incluye la PCR. Otra ventaja de los miARN como biomarcadores, es su

expresión específica para los tejidos y representa muy bien su estado fisiológico. El perfil de expresión miARN definido se ha observado en patologías que van desde el cáncer hasta enfermedades parasitarias (40). Los miARN son pequeños ARN no codificantes de proteínas que funcionan como reguladores de la expresión génica, tienen como función regular diversos procesos biológicos tales como el crecimiento, la diferenciación celular y la apoptosis y han sido ampliamente estudiados en la carcinogénesis. Los miARN pueden exhibir actividad supresora oncogénica o tumoral en el cáncer, y dependen del contexto biológico y el tipo de célula. Los patrones de expresión alterados de miARN en cáncer podrían servir como biomarcadores moleculares para el diagnóstico del tumor, el pronóstico y la predicción específica de la enfermedad ante la terapéutica (100). El mismo autor indica que la regulación de miR-21, miR-221, miR-184 y en la expresión de miR-133a, miR-375 y let- 7b son el perfil principal en el cáncer bucal (100).

>> **Cuadro 5:** Proliferación de miARN

AÑO	AUTOR(ES)	TIPO DE ESTUDIO	MUESTRA	METODOLOGÍA	RESULTADOS	CONCLUSIONES
2009	Noh Jin P. y cols	Casos y controles	12 pacientes con cáncer bucal 12 pacientes control	Estos autores iniciaron analizando la saliva sobrenadante para evitar la contaminación de los miARN por las células y de tal manera comparar la concentración de miR-200a y miR125a y miR- 142-3p y miR-93 en los pacientes del grupo control y pacientes con cáncer. Las muestras se analizaron con las pruebas de reacción simplificada RT y RT-preamplificados q- PCR	Los valores de miR- 200a y miR-125a fueron diferentes entre los dos grupos: 0,01 y 0,03. Los valores paramiR-142-3p y miR-93eran0.18 y0, 17 lo que indica que estos miARN no son significativamente diferente entre los dos grupos; control y cáncer En conjunto, estos datos sugieren que miARN miR-200a ymiR-125a están presentes en niveles significativamente más bajos en la saliva de los pacientes con cáncer.	Los autores llegaron a la conclusión que los valores de miR-200a y miR125a manifiestan valores significativos más bajos en pacientes diagnosticados con cáncer bucal
2012	Chung Ji y cols	Casos y controles	45 pacientes con COCE 10 pacientes con leucoplasia verrugosa oral 24 pacientes sanos como grupo control	Las muestras fueron analizadas por reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RTPCR)	Los resultados demostraron que la miR-31 salival fue significativamente mayor en los pacientes con COCE en todas las etapas clínicas, con tumores muy pequeños. Sin embargo, el análisis preliminar no mostró aumento de miR-31 salival en pacientes con leucoplasia verrugosa oral en comparación con los de grupo control	La miR-31 salival es un marcador sensible para la malignidad bucal. Después de la extirpación de un carcinoma bucal, la miR-31 salival se redujo notablemente, lo que indica que la mayoría de esta procedía de los tejidos tumorales

Presencia la Telomerasa

Las investigaciones sobre el carcinoma escamoso celular de cabeza y cuello mostraron que la actividad de la telomerasa se expresó en el 75% de los tejidos tumorales, por lo que se sugiere que la detección de la actividad de la telomerasa podría ser de potencial valor diagnóstico en el cáncer bucal (105). Sin embargo, para Zhong y cols, aunque la presencia positiva de la actividad de la telomerasa en la saliva fue del 75%, no existe diferencia entrelos pacientes en estadios iníciales y finales de la lesión, así como entre los pacientes con y sin metástasis a los ganglios linfáticos, por lo tanto, el valor diagnóstico es limitado, considerándose solo como un marcador coadyuvante para el diagnóstico de cáncer bucal.

>> **Cuadro 6:** Actividad de la telomerasa

AÑO	AUTOR(ES)	TIPO DE ESTUDIO	MUESTRA	METODOLOGÍA	RESULTADOS	CONCLUSIONES
2007	Chen Z y cols	Casos y controles	32 pacientes con COCE 30 pacientes sanos como grupo control	La actividad de la telomerasa fue procesada por el método de PCR-ELISA	Pacientes con COCE fue 75,0% (24/32). Pacientes sanos: 6,67% (02/30)	La telomerasa salival, podría ser utilizada como un marcador efectivo para el COCE, sin embargo, se recomienda un estudio más amplio para confirmar el valor diagnóstico

La telomerasa salival, podría ser utilizada como un marcador efectivo para el COCE, sin embargo, se recomienda un estudio más amplio para confirmar el valor diagnóstico.

>>> CONCLUSION

Los nuevos medios tecnológicos: la bioinformática, la metabolómica, la genómica y la proteómica han hecho que la saliva suponga una gran herramienta de estudio, por lo tanto para finalizar podemos derivar lo siguiente: Los biomarcadores salivales son un medio de diagnóstico eficaz y factible debido a que el método para recolectarlos supone un procedimiento de muestreo fácil, además de ser indoloro y económico que permite tomar varias muestras al día con un enfoque rentable en estudios poblacionales; por ser la saliva un fluido a TIEMPO REAL debido a que las

glándulas salivales son exocrinas. Por otra parte, se concluye que los biomarcadores salivales son altamente efectivos para el diagnóstico del cáncer bucal, considerando que la IL-6 cuando está por encima de 2 pg/ml y la IL-8 mayor a 12 pg/ml reflejan el potencial de malignidad de dicha patología.

Asimismo, sucede con el resto de los biomarcadores salivales, tal es el caso de los CD44 y las telomerasas que proliferan a gran velocidad ante el cáncer bucal; al igual que las alteraciones genéticas propias del ADN y ARN inducidas por la carcinogénesis y que se resumen en una afección de estas moléculas, denominada metilación. Y por último el Factor de Crecimiento Epidérmico que en el cáncer bucal se hace presente con un valor por encima de 200.000 copias. Es importante destacar que a pesar de la extensa disponibilidad bibliográfica en la temática de biomarcadores, no se ha logrado un consenso sobre cuál sería el biomarcador universal para cáncer bucal, dada la diversidad de proteínas expresadas y la heterogeneidad celular en carcinomas.

>>> REFERENCIAS

1. Pérez C, Méngnola M, Picciotti P, Messana I, Fanali C, Fiorita A, Cabras T, Potential applications of human saliva as diagnostic fluid. Acta Otorhinolaryngol Ital. 2011 Dec; 31(6):347–57.
10. Cheng Y, Rees T, Wright J. A review of research on salivary biomarkers for oral cancer detection. Clin Transl Med. 2014 Feb 24; 3(1):3.
11. Majid S, Munaza S. Saliva as a diagnostic tool: a review. 2014; 9(1):09–14.
12. Malathi N, Mythili S, Vasanthi HR. Salivary Diagnostics: A Brief Review. ISRN Dent [Internet]. 2014 Jan 29[cited 2015 Jun 17]; 2014. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/artic les/PMC3926256/
13. Buelvas A. Cáncer oral: el papel del odontólogo en la detección temprana y control. Rev Fac Odontol Univ Antioquia [Internet]. 2009 Dec 16 [cited 2015 Jun 17]; 21(1).
14. Juárez A. Radiomarcado del péptido c-dota-rgd y c-dota-rgdf con 177lu y evaluación de su estabilidad in vitro e in vivo. [Toluca, México]: Universidad autónoma del estado de México; 2010.
15. Casals E. Campaña mes de la salud bucal. Barcelona; p. 51.
16. Pérez J. Methylation in oral cancer and pre-cancerous lesions (Review). Oncology reports. 2011; 25.
17. Llena C. La saliva en el mantenimiento de la salud oral y como ayuda en el diagnóstico de algunas patologías. 2006; 11:E449–55.
18. Akerman J, Zambrano Y. Efecto de los antiasmáticos inhalados sobre la tasa de flujo salival. [Mérida, Venezuela]: Universidad de los Andes; 2014.
19. Molina L, Balda R, González O, Solórzano A, González A. Actividad Cariogenica y su Relación con el Flujo Salival y la Capacidad Amortiguadora de la Saliva. Acta Odontológica Venez. 1999 Dec; 37(3):10–7.
20. Purca Taylor. Efectividad antibacteriana "in vitro" del extracto etanólico de Rosmarinus officinalis (romero) sobre flora salival. [Lima. Perú]: Universidad Nacional mayor de San Marcos; 2013.
21. Sánchez N, sosa M, Urdaneta L, Chidiak S, Jarpa Patricio. Cambios en el flujo de pH salival de individuos consumidores de chimó. 2009; 4(1):6– 13
22. Bermejo F. Medicina Bucal Tomo I Enfermedades mucocutaneas y de las glándulas salivales. 1era ed. Madrid (España): Editorial Síntesis S.A. 2000.
23. García V, Bascones A. Cáncer oral: Puesta al día. Av En Odontoestomatol. 2009 Oct; 25(5):239–48.
24. García Evelin. Prevalencia de cáncer en mucosa oral en el servicio de estomatología quirúrgica del hospital nacional Arzobispo Loayza en el período 2008 al 2012. [Lima – Perú]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2014.
25. Pfaffe T, Peter B, Kostner K. Diagnostic Potential of Saliva: Current State and Future Applications. 2011; 57:675–87.
26. Cawson R, Fundamentos de medicina y Patología Oral. 8va ed. Barcelona (España): ELSEVIER; 2009.
27. Espín J, Acosta, Olano M. Acerca del cáncer cervicouterino como unimportante problema de salud pública. 2012; 28(4):735–46.
28. Mortalidad por cáncer bucal en pacientes de la provincia Holguín. [Cited30. Piemonte E. Cancer bucal: diseño y evaluación de un índice de riesgo multifactorial. [Argentina]: Universidad Nacional de Córdoba; 2015.
31. García V, González M. Bases moleculares del cáncer oral. Revisión bibliográfica Av Odontoestomatol. 2010; 6:287–95.
32. Espín J. Tabaquismo y cáncer bucal: una revisión teórica. Rev Médica Univ Veracruzana. 10(1):30–7.
33. Mehrotra R, Gupta D. Exciting new advances in oral cancer diagnosis: avenues to early detection. Head Neck Oncol. 2011 Jul 28; 3:33.
34. Chimenos E, Font I, López J. Riesgo de cáncer oral y marcadores moleculares. Med Oral Patol OralCirugía Bucal Ed Impresa. 2004 Dec; 9(5):377–84.
35. Panta P, Venna VR. Salivary RNA Signatures in Oral Cancer Detection. Anal Cell Pathol. 2014 Dec 10; 2014
36. Yakob M, Fuentes L, Wang M, Abemayor E, Wong D. Salivary Biomarkers for Detection of Oral Squamous Cell Carcinoma: Current State and Recent Advances. Curr Oral Health Rep. 2014 Mar 21; 1(2):133–41.
37. Hernández S, Collado F, Baptista Lucio. Metodología de la Investigación. 4a Edición. México: McGraw-Hill; 2006. 839 p.
38. Somacarrera L, Díaz M. La saliva, fluido vital. 2013; 247.
39. Fernando Gil. Biomarkers as biological indicators to xenobiotic exposure. 2014; 32.
40. Mario R, Rodríguez P. Detección de microRNAs extracelulares y supotencial como biomarcadores moleculares. 2014; 71:10.
41. Lee D, Ellen K. Role of Biomarkers in Identifying and Understanding Environmentally Induced Disease. CUNICAL CHEMISTRY. 40(7):5.
42. Rosana F, Nora P, Felisa C. Niveles de citoquinas megacariocitopoyéticas en pacientes con trombocitemia esencial y su relación con características clínicas y bioquímicas. Cancer Prev Res. 2006; 66 (6):540–6.
43. Fernández J, Pérez V. El receptor de EGF (EGFR): una diana terapéutica para el tratamiento del cáncer y sus inhibidores. Int J Biochem Cell Biol. 2006; 31(6):637–43.
44. González G, Lage A. Cancer Vaccines for Hormone / Growth Factor Immune Deprivation: A Feasible Approach for Cancer Treatment. Current Cancer Drug Targets. 2007; 7:191–201
45. Werkmeister R, Brand B. Clinical relevance of erbB-1 and -2 oncogenes in oral carcinomas. 1. 36:100–5.
46. Germanà P, Esteban I. Expression of ErbB-3 and ErbB-4 protooncogenes proteins in oral squamous cell carcinoma: a pilot study. 5. 2009;8.
47. Gómez M, Diego L, Romina G, Hernán G. Telomerasa y telómero: su estructura y dinámica en salud y enfermedad. 1. 2014; 74:69–76.
48. Allsopp R, Harley C. La evidencia de una longitud de los telómeros crítico en fibroblastos humanos senescentes. Exp Cell Res. 2007; 219:130–6.
49. Campisi J. The biology of replicative senescence. Eur J Cancer. 2008; 33:703-9.
50. Vaziri H, Benchimol S. Reconstitution of telomerase activity in normal human cells leads to elongation of telomeres and extended replicative life span. Curr Biol. 2007; 8:279–82.
51. Bodnar A, Kim N, Effros R. Mechanism of telomerase induction during T cell activation. Cell Res. 2007; 228:58–64.
52. Lyle L, Michael B, John M. Cytokine signaling-regulation of the immune response in normal and critically ill states. 4. 2009; 28:12.
53. Pentón G, Cervantes M, Martinez
G. TNF- α and IL-10 down regulation and marked oxidative stress in Neuromyelitis Optica. 18. 2009; 6:9.
54. Maie A, Carlo Montemagno, Yang Li, Xiaofeng Zhou. Interleukin 6 and Interleukin 8 as Potential Biomarkers for Oral Cavity and Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 2004; 130:7.
55. Fang Wei, Prabhudas P, Wei L, Kishore C. Electrochemical Sensor for Multiplex Biomarkers Detection. 13. 2009; 15.
Katakura A, Isao K, Nobuo T. Comparison of Salivary Cytokine Levels in Oral Cancer Patients and Healthy Subjects. Bull Tokyo Dent Co. 2007; 48:199–203.
56. Yi-Shing Lisa heng, Jordan L, Mitreyi L, Emet Schneiderman. Salivary Interleukin-6 and -8 in Patients with Oral Cancer and Patients with Chronic Oral Inflammatory Diseases. 7. 2014; 85:956–65.
57. Punyani S, ShankarraoR. Salivary level of interleukin-8 in oral precancer and oral squamous cell carcinoma. 2. 2013; 17:517–24.
58. Juretić M, Cerović R, Belušić-Gobić M, Brekalo Pršo I. Salivary levels of TNF-α and IL-6 in patients with oral premalignant and malignant lesions. Folia Biol (Praha). 22:7.
59. Brinkmann O, Dragana A, Milovan
V. Oral squamous cell carcinoma detection by salivary biomarkers in aSerbian population. Oral oncology. 2011; 47:51–5.
60. Mahnaz S, Mohammad E, Fazele A, Abdolfattah S. Salivary concentration of TNFα,IL1α, IL6, and IL8 in oral squamous cell carcinoma. 5. 2008; 13.
61. Yarden Y, Sliwkowski MX. Untangling the ErbB signaling network. 2. 2001; 2:127–37.
62. Olayioye M, Neve R, Lane H. The ErbB signaling network: receptor

heterodimerization in development and cancer. 13. 2014; 19:59–67.
63. Schlessinger J. Cell signaling by receptor tyrosine kinases. 3. 2000; 103:211–25.
64. Diaz S, A. Gallego G, López C. Cyclooxygenase-2 (COX-2) and epidermal growth factor (EGF) in oral premalignant epithelial lesions. 3. 2009; 31:7.
65. De Vicente J, Expresión de las proteínas de los proto-oncogenes ErbB-3 y ErbB-4 en el carcinoma oral de células escamosas: estudio piloto. Med Oral. 2003; 8:374–81.
66. Bernardez V, Gleber-Netto F, Sousa S, Maria Cássia F Aguiar. Clinical significance of EGFR, Her-2 and EGF in oral squamous cell carcinoma: a case control study. J Exp Clin Cancer Res. 2010; 40:29–40.
67. Neil Flores Valdez. Endotelina-1: vasoconstricto intrínseco del endotelio vascular. [Perú]: Universidad Privada de Tacna; 2013.
68. Terry R, Jordan l, Lance Oxford, Huey-Shys Chen. Salivary endothelin- 1 potential for detecting oral cancer in patients with oral lichen planus or oral cancer in remission. Oral oncology. 2011; 47:12.
69. Kavita Malhotra Pattani, Zhe Zhang, Semra Demokan, Chad Glazer. Endothelin receptor type B gene promoter hypermethylation in salivary rinses independently associates withrisk of oral cavity cáncer and premalignancy. 3. 2009; 9:1093–103.
70. Pickering V, Jordan R. Elevated salivary endothelin levels in oral cancer patients a pilot study. 1. 2007; 43:37– 41.
71. Trapasso S, E Allegra E. Role of CD44 as a marker of cancer stem cells in head and neck cancer.
72. Reategui E, Mayolo A, Das P, Astor
F. Characterization of CD44v3- containing isoforms in head and neck cancer. 8. 2009; 9:9.
73. Franzmann E, Reategui E, Carraway K. Salivary soluble CD44: a potential molecular marker for head and neck cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2005; 3:9.
74. Franzmann E, Reategui E, Pedroso
F. Soluble CD44 is a potential marker for the early detection of head and neck cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2007; 7:7.

75. Ghalwash K, Shaker H. The diagnostic and prognostic value of salivary sCD44 level determination in oral malignant and potentially premalignant lesions. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2012; 8:22–7.
76. Contreras S. Metilación del ADN: marcador diagnóstico y pronóstico de cáncer. n1. 2015; 25:03–4.
77. Carmona F. Estudio de las alteraciones en la metilación del ADN en progresión tumoral. [Madrid]: Universidad Autónoma de Madrid; 2013.
78. Esteller M. Epigenetics in Cancer. The new england journal of medicin e. 2008; 18:1118–59.
79. Wolfgang S. Qualified Promise: DNA Methylation Assays for the Detection and Classification of Human Cancers. Journal of Biomedicine and Biotechnology. 2009; 3
80. Garinis G, Patrinos G, Spanakis N. DNA hypermethylation: when tumour suppressor genes go silent. 111. 2002; 2:115–27.
81. Jones PA. Functions of DNA methylation: islands, start sites, gene bodies and beyond. 7. 2012; 13:484–92.
82. Feinberg A, Vogelstein B. Hypomethylation distinguishes genes of some human cancers from their normal counterparts. Nature. 2009; 89– 92.
83. McGuire W. Current status of estrogen receptors in human breast cancer. 2. 2009; 32:638–44.
84. Dierlamm J, Michaux L, Criel A. Genetic abnormalities in chronic lymphocytic leukemia and their clinical and prognostic implications. 1. 2009; 94:27–35.
85. Harbeck N, Salem M, Ulrike Nitz. Personalized treatment of early-stage breast cancer: present concepts andfuture directions.Cancer Treat. 8. 2010;36:584–94.

86. Salazar R, Roepman P, l Capella G. Gene Expression Signature to Improve Prognosis Prediction of Stage II and III Colorectal Cancer. 18. 2010; 28:199– 203.
87. Agustín F. Fernandez, Assenov Y, Martin J, Balazs B. A DNA methylation fingerprint of 1628 human samples. 2011; 22:407–19.
88. Issa JP, HM Kantarjian. Targeting DNA methylation. 12. 2009; 15:1–10.
89. Rosalyn A, J Wrangle J, Frank P. Vendetti, Sara C. Murphy. Combination Epigenetic Therapy Has Efficacy in Patients with Refractory Advanced Non–Small Cell Lung Cancer. Cancer discovery. 2011; 7:539.
90. Suhua Feng, Shawn J. Cokus, Xiaoyu Zhang. Conservation and divergence of methylation patterning inplants and animals. 19. 2010;107:8689–94.

91. Madeleine P Ball, Jin Billy, Yuan Gao, Je-Hyuk Lee. Targeted and genome-scale strategies reveal gene- body methylation signatures in human cells. Nature Biotechnology. 2009; 27:361–8.
92. Rauch T, Zhong X, Wu X, Wang M. High-resolution mapping of DNA hypermethylation and hypomethylation in lung cancer. 1. 2008; 105:252–7.
93. Daudi Jingo, Andrew B. Conley, Soojin V. Yi, Victoria V. Lunyak, King Jordan. On the presence and role of human gene-body DNA methylation. 3. 2012; 4:462–74.
94. Ravid Straussman, Deborah Nejman, Douglas Roberts, Israel Steinfeld. Developmental programming of CpG island methylation profiles in the human genome. Nature Structural & Molecular Biology. 2009; 16:564–71.Kulis M, Heath S, Bibikova M, Queirós A. Epigenomic analysis detects widespread gene-body DNA hypomethylation in chronic lymphocytic leukemia. Nature Genetics. 2012; 44:1236–42.
95. Peter W. The power and the promise of DNA methylation markers. Nature Reviews Cancer 3. 2009; 7.
96. Lopes S Bittencourt R, Wayne Koch, and DaCosta Carvalho. Promoter Hypermethylation Patterns of p16, O6- Methylguanine-DNA- methyltransferase, and Death- associated Protein Kinase in Tumors and Saliva of Head and Neck Cancer Patients. 20. 2015; 75.
97. Janice M, David T, Wong W. Salivary MicroRNAs and Oral Cancer Detection. Methods Mol Biol. 10:11.
98. Ahmedin J Bray F, Melissa M, Jacques Ferlay, Elizabeth Ward, David Forman. Global Cancer Statistics. 69. 2011; 61:90.Noh Jin Park, Hui Zhou, David Elashoff. Salivary microRNA: Discovery, Characterization, and Clinical Utility for Oral Cancer Detection. 2009; 6.
99. Chung-J, Shu-Chun Lin, Cheng C. Exploiting salivary miR-31 as a clinical biomarker of oral squamous cell carcinoma. Head & Neck. 2012; 34:219–24.
100. Michael A, D Bajracharya, H Zhou. Exosomes from human saliva as a source of microRNA biomarkers. Oral Diseases. 2010; 16:1–5.
101. Yukiharu H, Hidenobu K, Ryuichi K, Nobutaka S. MicroRNA-21 regulates the proliferation and invasion in esophageal squamous cell carcinoma. Clinical Cancer Research. 2009; 15.
102. Ries J, Hassfurther E, Steininger H, Kloss FR. Correlation of telomerase activity, clinical prognosis and therapyin oral carcinogenesis. Anticancer Res. 2001; 21:1057–64.
103. Zhong L, Chen G, Zhang X. activity in saliva from oral squamous cell carcinoma patients. 5.
2005;35:566–70.).

104. Schliephake H. Prognostic relevance of molecular markers of oral cancer -A review. J Oral Maxillofac Surg. 2003; 32:233–45.
105. Liao J, Mitsuyasu T, Yamane K, Ohishi M. Telomerase activity in oral and maxillofacial tumors. Oral Oncol. 2000; 36:347–52.
106. Diebel E, Neukam F, Wiltfarg J, Ries J. Diagnostic and prognostic relevance of expression of human telomerase subunits in oral cancer. Anticancer Res. 2001; 21:1063–8.
107. Epstein J, Zhang L, Poh C, Nakamura H. Increased allelic loss in toluidine blue-positive oralpremalignant lesions. Oral Surg. 2003; 95:45–50.
108. Collins, K, Mitchell, J. Telomerase in the human organism. Oncogene. 2002; 21:564–79.
109. Harrington, L. Does the reservoir for self-renewal stem from the ends? Oncogene. 2004; 23:7283–9.
110. Chen Z, Zhong G. Detection of telomerase activity in saliva from oral squamous cell carcinoma patients. 5. 2007; 34:566–70.
111. Warnakulasuriya K, Tavassoli M, Johnson N. p53 overexpression to other cell cycle regulatory proteins in oral squamous cell carcinoma. Oral journal. 2008; 8:376–81.
112. Reibel J. Prognosis of oral pre- malignant lesions: significance of clinical, histopathological, and molecular biological characteristics. 1. 2003; 14:47–62.

113. Srinivasan M. Evaluation of TGF- alpha and EGFR expression in oral leukoplakia and oral submucous fibrosis by quantitative immunohistochemistry. 4. 2001; 61:284–92.
114. Kang MK, Park N. Conversion of normal to malignant phenotype: telomere shortening, telomerase activation, and genomic instability during immortalization of human oral keratinocytes. 1. 2001; 12:38–54.
115. Ya-Ching Lu, Yin-Ju Chen, Hung- Ming Wang. Oncogenic Function and Early Detection Potential of miRNA- 10b in Oral Cancer as Identified by microRNA Profiling. 4. 2012; 5:665–74.