



Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Diagnóstico precoz de lesiones premalignas de
la cavidad bucal a través de los marcadores moleculares.

Tesis

De revisión bibliográfica, que para obtener el título de

Cirujano Dentista

Presenta

Fabiola Aguilar Aguilar

Directora. CD. Esp. María Guadalupe Guevara Islas

Asesora. Mtra. Remedios Guadalupe Valdez Penagos



México, DF. Junio de 2015





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

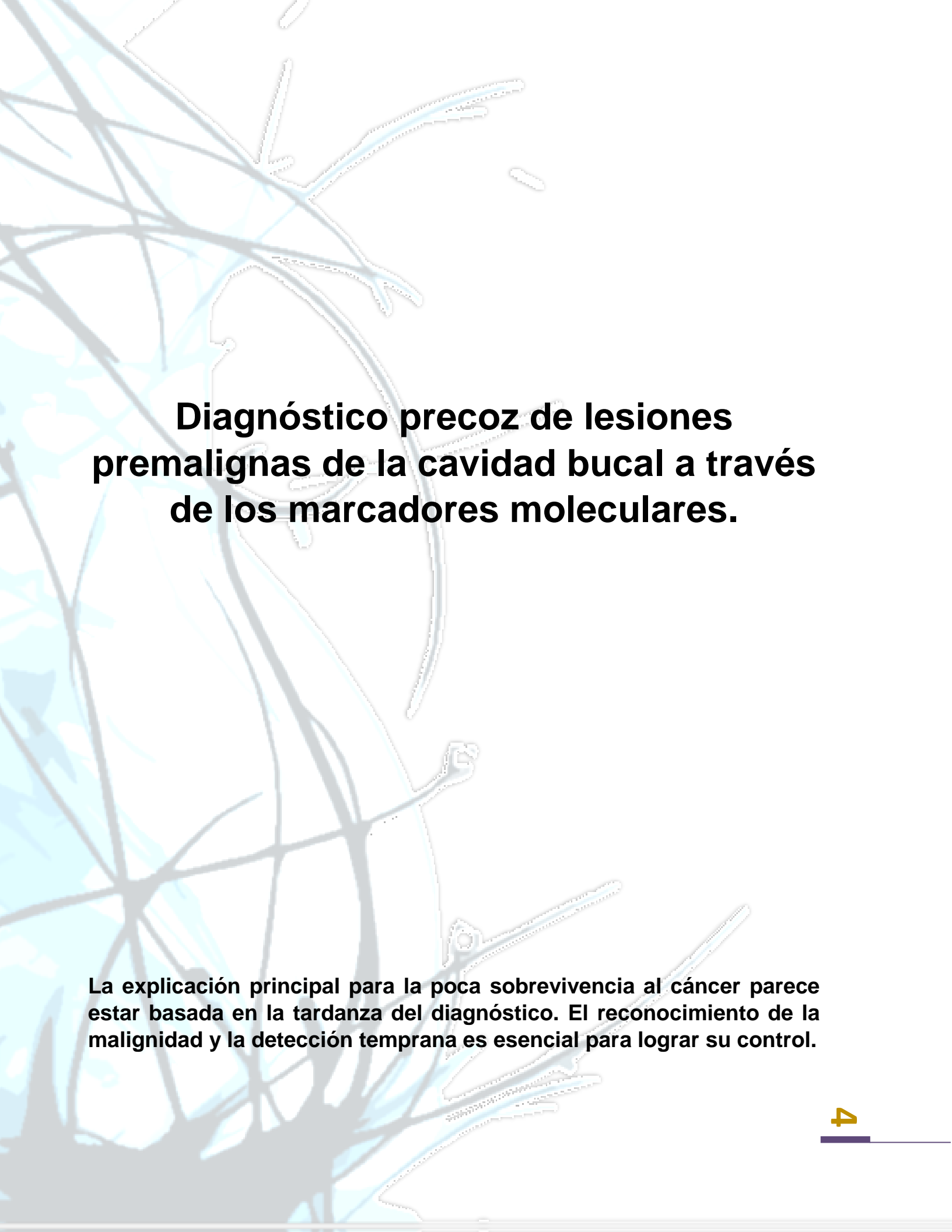
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Índice

I .Introducción.	2
II. Objetivo.	4
III. Diseño metodológico.	5
IV. Desarrollo.	7
El Cáncer.	7
Lesiones premalignas.	8
Alteraciones de la mucosa bucal potencialmente malignas.	10
• Leucoplasia.	10
• Eritroplasia.	12
• Queilitis actínica.	13
• Fibrosis submucosa.	18
• Liquen plano.	19
• Lesiones Palatinas por Hábito Tabáquico Invertido.	20
Factores de riesgo relacionados con las alteraciones de la mucosa bucal potencialmente malignas.	21
Iniciación, promoción y progresión.	23
Ciclo celular.	26
Importancia del diagnóstico de las alteraciones de la mucosa bucal potencialmente malignas.	31

Metodología del diagnóstico de las alteraciones de la mucosa bucal potencialmente malignas.	33
Marcadores moleculares.	36
Técnicas moleculares.	54
Marcadores específicos encontrados en las alteraciones de la mucosa bucal potencialmente malignas.	58
Prevención.	62
V. Conclusiones.	63
VI. Referencias bibliográficas.	66



Diagnóstico precoz de lesiones premalignas de la cavidad bucal a través de los marcadores moleculares.

La explicación principal para la poca supervivencia al cáncer parece estar basada en la tardanza del diagnóstico. El reconocimiento de la malignidad y la detección temprana es esencial para lograr su control.

I. INTRODUCCIÓN

El cáncer, es sin duda una de las enfermedades que ha tenido un gran impacto en el panorama epidemiológico de México y el mundo, convirtiéndose en un problema de salud pública por sus graves manifestaciones clínicas, costos, letalidad y gran variedad de factores de riesgo con los que se asocia.

En México, el cáncer pese a no tener una alta morbilidad (tasa del 1.26% por cada 100 mil habitantes), si tiene una gran letalidad, del 65 al 75% de los casos se diagnostican en etapas tardías. Con ello la supervivencia a los 5 años del diagnóstico, es del 40% de los pacientes con afectación regional y menos del 20% de pacientes con metástasis a distancia (1).

La OMS (Organización Mundial de la Salud) estima que el cáncer bucal es una de las neoplasias con mayor prevalencia junto con el cáncer de orofaringe situándolos en el séptimo lugar.

El incremento del consumo de tabaco y alcohol, así como las prácticas sexuales de alto riesgo, han favorecido que el número de casos vaya en aumento (2).

La detección precoz se basa fundamentalmente en el examen visual de la lesión sospechosa y el diagnóstico precoz se compone de métodos específicos como el azul de toluidina, la biopsia; que es imprescindible para establecer un diagnóstico de seguridad y la citología; que era muy utilizada en los años 60, pero proporcionaba falsos negativos (3).

Actualmente, se ha retomado interés por el estudio de la citología en la patología premaligna bucal gracias a la aplicación de nuevas técnicas moleculares. El estudio de los marcadores moleculares permite detectar alteraciones antes que se produzcan cambios en la morfología celular y antes de que sean clínicamente visibles.

Un biomarcador o marcador molecular es una característica que es medida y evaluada objetivamente como un indicador de procesos biológicos normales, patológicos o respuestas farmacéuticas a una intervención terapéutica.

De una forma más precisa, el término hace referencia a una sola especie molecular que está presente en las muestras de un sujeto con una determinada enfermedad o condición (4,5).

Para la realización de estos exámenes moleculares existen diferentes biomarcadores celulares que proporcionan información adicional a la obtenida en el examen clínico e histopatológico.

El uso de estas nuevas técnicas que complementan a las más utilizadas (citología y biopsia) tienen una gran importancia para identificar el proceso de transformación de las lesiones premalignas en un verdadero carcinoma. Todo esto con el fin de tener más herramientas y mejores métodos diagnósticos (6).

El conocimiento de los grupos de riesgo y los factores asociados debe ser parte de la formación y la educación continua del personal de salud, a quienes les corresponde además de realizar tratamientos odontológicos, la educación para la salud del paciente y las recomendaciones necesarias para prevenir el cáncer bucal (7).

II. OBJETIVO

Describir los principales marcadores moleculares utilizados como auxiliares de diagnóstico de las lesiones premalignas en la cavidad bucal.

III. DISEÑO METODOLÓGICO

- Tipo de estudio. Se realizó una investigación de revisión monográfica.
- Procedimiento. La obtención de información se realizó conforme a la ruta crítica para la búsqueda de información:
 - a) Libros en español
 - b) Libros en inglés u otros idiomas

Fueron obtenidos de la biblioteca de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza y de la biblioteca central de Ciudad Universitaria.

- c) Artículos de revisión bibliográfica
- d) Reportes de investigación

Fueron obtenidos de las bases de datos: Scielo, ELSEVIER, MEDLINE, GOOGLE ACADÉMICO y PUBMED.

La búsqueda se llevó a cabo utilizando los siguientes descriptores y operadores booleanos.

Descriptores:

- Neoplasia (Neoplasm)
- Bucal (Oral)
- Carcinoma (Carcinoma)
- Células escamosas (Squamous cell)
- Carcinogénesis (Carcinogenesis)
- Diagnóstico precoz (Early diagnosis)
- Análisis mutacional (Mutational analysis)
- ADN (DNA)
- Oncogenes (Oncogenes)
- Patología (Pathology)
- Proto-oncogenes
- Molecular (Molecular)
- Telomerasa (Telomerase)

- Endotelina-1 (Endothelin-1)
- Ciclina D (Cyclin D)
- Galectinas (Galectins)
- Genes (Genes)
- p53 (p53)
- Retinoblastoma (Retinoblastoma)
- Antígenos (Antigens)
- HLA (HLA)
- Metaloproteínas (Metalloproteins)
- Matriz (Matrix)
- Neovascularización (Neovascularization)
- Patológica (Pathologic)
- Polimerasa (Polymerase)
- Reacción en cadena (Chain reaction)
- Análisis (Analysis)
- Micromatrices (Microarrays)

Descriptor	Operador	Descriptor
Neoplasia	and	Oral
Carcinoma	and	Células escamosas
Análisis mutacional	And	ADN
Oncogenes	or	Proto-oncogenes
Patología	and	Molecular
Genes	and	p53
Genes	and	Retinoblastoma
Antígenos	and	HLA
Metaloproteínas	and	Matriz
Neurovascularización	and	Patológicas
Reacción en cadena	and	Polimerasa
Análisis	and	Micromatrices

IV. DESARROLLO

La palabra cáncer proviene del griego *karkinoma* dado por Hipócrates y del equivalente latino *Cancer* el cual significa “cangrejo”, dando a entender la capacidad de crecimiento radial infiltrante de algunos tumores y que en algunos casos recuerda a la forma de este animal (8,9).

La OMS define al cáncer como un proceso de crecimiento y diseminación incontrolado de células, el cual suele invadir el tejido circundante y puede provocar metástasis en diferentes puntos del organismo (10).

Algunos autores como Muñoz (1997), Fernández (1999), Garza y Juárez (2014) denominan como –cáncer- al grupo de enfermedades caracterizadas por el crecimiento excesivo y descontrolado de las células que invaden y dañan tejidos y órganos, las cuales evolucionan ocasionando la muerte del individuo.

El descubrimiento de la elevada complejidad del cáncer, ha conducido a que hoy sea considerado como un grupo heterogéneo de enfermedades más que una única etiopatogenia (11).

El cáncer es sin duda una de las enfermedades que ha tenido un gran impacto en el panorama epidemiológico de México y el mundo, convirtiéndose en un problema de salud pública por sus graves manifestaciones clínicas, costos, letalidad y gran variedad de factores de riesgo con los que se asocia.

En México el cáncer bucal es una enfermedad que pese a no tener una alta morbilidad (tasa del 1.26% por cada 100 mil habitantes), si tiene una gran letalidad, ya que del 65 al 75% de los casos se diagnostican en etapas tardías. Con ello la supervivencia a los 5 años del diagnóstico es del 40% de los pacientes con afectación regional y menos del 20% de pacientes con metástasis a distancia (1).

El incremento del consumo del tabaco y alcohol, así como las prácticas sexuales de alto riesgo, han favorecido que el número de casos vaya en aumento. Se ha incrementado su prevalencia en personas jóvenes (menores de 45 años), principalmente mujeres y sin antecedentes de consumo del etanol-tabaco. En la actualidad, el virus del papiloma humano (VPH) es considerado el tercer factor etiológico más importante (2).

LESIONES PREMALIGNAS

Es fundamental comprender que el cáncer bucal, no se presenta de un momento a otro, lleva un proceso y una manifestación inicial conocida como *lesión premaligna* o *Alteración de la mucosa bucal potencialmente maligna*.

La OMS citada por Ben Slarna (1978), define lesión premaligna como un tejido de morfología alterada más propenso a cancerización que el tejido equivalente de apariencia normal.

Denominar algunas lesiones de la mucosa bucal como *pre malignas* o *precancerosas* se basa en la evidencia de que:

1. Han experimentado un cambio maligno durante su seguimiento.
2. Principalmente son placas rojas o blancas.
3. Pueden compartir los cambios morfológicos y citológicos observados en neoplasias epiteliales, pero sin invasión franca.
4. Presentan alteraciones moleculares, cromosómicas y/o genómicas (12).

Sin embargo, es una alteración tisular focal a partir de la cual puede desarrollarse un tumor maligno, continuar en la misma situación o recobrase la integridad tisular. Por tal motivo se prefiere el término de lesiones cancerizables, que no prejuzga la malignización en todos los casos y que, sí lleva implícito el concepto de potencialidad de cancerización.

Por otra parte, el Centro de precáncer y cáncer bucal de Reino Unido y la OMS, llevaron a cabo una revisión de las definiciones llamadas premalignas y recomendaron eliminar los términos de condiciones y/o lesiones premalignas por el de *Alteraciones de la mucosa bucal potencialmente malignas* (12,13,14).

La última monografía de la OMS sobre los tumores de cabeza y cuello (2005) utiliza el término *lesiones precursoras epiteliales* y lo definió como epitelio alterado con una mayor probabilidad de progresión a carcinoma de células escamosas (12).

Tomando en cuenta el cambio de nomenclatura para nombrar estas lesiones y por recomendación de la OMS se cambiará la denominación de lesiones premalignas a la de *Alteraciones de la mucosa bucal potencialmente malignas*.

Las alteraciones de la mucosa bucal potencialmente malignas que describe la OMS son la leucoplasia, eritroplasia, queilitis actínica, fibrosis submucosa, lesiones palatinas por hábito tabáquico invertido (13), que tienden a aparecer en las diferentes regiones o zonas de la mucosa bucal.

La incidencia del cáncer epidermoide en las zonas de la mucosa bucal son las siguientes (Tabla 1)(15):

Localización	Incidencia relativa
Labio inferior	30-40%
Caras lateral/ventral de la lengua	25% *
Piso de boca	20%
Paladar blando	15%
Encía y cresta alveolar	4-6%
Mucosa yugal	2%

Tabla 1. Incidencia relativa aproximada de cáncer bucal. Tomada de Saap PJ, Eversole LR, Wysocki GP. Patología oral y maxilofacial contemporánea. 2a ed. Elsevier España, 2005. Pp. 184-193.

En México, la frecuencia de afectación de cada zona reportada por el Registro de Histopatológica de las Neoplasias en el año 2006 es (Tabla 2):

Zona	Número	%
Labio	118	0.11
Base de la lengua	13	0.01
Otras y las no especificadas de la lengua	295	0.28
Encía	90	0.08
Piso de boca	49	0.05
Paladar	125	0.12
Otras partes y las no especificadas de la boca	117	0.11

Tabla 2. Casos reportados cáncer bucal en México (2006). Tomada de Fernández CS et al. Perfil epidemiológico de los tumores malignos en México. Secretaría de Salud. Subsecretaría de prevención y promoción de la salud. Dirección general de epidemiología. México, DF. 2011. PP. 42.

El registro histopatológico de los tumores de labio, cavidad bucal y la faringe en 2004 sumaron 1,657 registros, el 1.44% del total del registro nacional de ese año; en 2005 1,406 registros, 1.25% del nacional y en el 2006 1,369, integrando el 1.29% del total anual (16).

ALTERACIONES DE LA MUCOSA BUCAL POTENCIALMENTE MALIGNAS

LEUCOPLASIA

El término leucoplasia está compuesto a partir de los términos griegos “*leuco*” (blanco) y “*plakos*” (placa). En la definición propuesta por la OMS se considera leucoplasia a toda placa blanca situada sobre la mucosa bucal que no puede ser eliminada mediante el raspado o clasificada como ninguna otra enfermedad diagnosticable. Esta descripción hace referencia a un concepto clínico (17).

Warnakulasuriya et al. (2007) definió a la leucoplasia como “placas blancas con riesgo de malignización cuestionable habiendo excluido otras enfermedades o alteraciones conocidas que no conllevan un riesgo aumentado de cáncer” (18,19,20).

Esta lesión no tiene histología específica, puede mostrar atrofia o hiperplasia (acantosis) y puede tener asociada o no displasia epitelial (18).

Esta afectación representa una lesión con un potencial de transformación entre el 1 y 10% (16).

Clínicamente se puede subdividir en:

- Homogénea. Lesiones predominantemente blancas, uniformes y de superficie lisa o arrugada y su riesgo de transformación maligna es relativamente baja (Figura 1,2).
- No homogénea. Tiene un riesgo mayor de transformación maligna y sus variedades incluyen:
 - Moteada. Es mixta (blanca y roja) pero predomina el color blanco. También es conocida como Eritroleucoplasia y tiene un gran riesgo de transformación maligna (Figura 3).
 - Nodular. Tiene crecimientos polipoides pequeños, excrecencias redondeadas rojas o blancas (Figura 4).
 - Verrugosa proliferativa. Se caracteriza por una presentación multifocal con leucoplasias simultáneas y múltiples cubriendo un área extensa de la cavidad bucal.

Es resistente al tratamiento y presenta una tasa elevada de transformación maligna de hasta un 80% de los casos (18,20) (Figura 5).

La prevalencia de la leucoplasia bucal varía ampliamente, Van Der Waal, la sitúa por debajo del 0.5% a nivel mundial.

En países desarrollados, la mayor parte de las leucoplasias aparecen entre la cuarta y séptima década de vida, en cambio en países en vías de desarrollo, la aparición de esta lesión se adelanta entre 5-10 años (20).

Existía una incidencia superior en el sexo masculino, pero actualmente se ha incrementado su aparición en mujeres al generalizarse el hábito de fumar (17).

El consumo de tabaco en combinación con el alcohol es responsable de la mayoría de las leucoplasias (6).

Los sitios de riesgo donde se presentan las leucoplasias más frecuentemente son el surco alveolar mandibular, piso de boca, bordes laterales de la lengua y el paladar.

Sin embargo, cuando se trata de una leucoplasia no homogénea las zonas de alto riesgo son el piso de boca, los bordes laterales de la lengua y el paladar blando (21).

A pesar del gran progreso en el campo de la biología molecular, no existe un solo marcador o conjunto de marcadores que permita predecir la transformación maligna de la leucoplasia (14). Sin embargo, Lippman y colaboradores, encontraron que la expresión de p53 se da en el 90% de las leucoplasias bucales, entonces podría ser un indicador de desarrollo de carcinoma, incluso ante la ausencia de displasia en el epitelio, algunos otros como Ki67 que es un marcador de proliferación celular. Los cambios en la expresión de las citoqueratinas se encuentran relacionados con el desarrollo de cáncer cuando estas desaparecen.

La expresión de CK19 y 8 en la capa de células suprabasales, puede utilizarse como marcador diagnóstico de alteraciones potencialmente malignas como la leucoplasia (6).

ERITROPLASIA

Es otra alteración de la mucosa bucal con gran potencial de transformación maligna (3). En 1978 la OMS definió a la eritroplasia como “una placa color rojo intenso que no puede ser caracterizada clínica ni patológicamente como ninguna otra enfermedad definible”. Esta definición actualmente sigue siendo aceptada (17,19,21) (Figura 6).

Clínicamente puede presentarse como una lesión plana o incluso deprimida de superficie lisa o granular. En caso de que aparezcan zonas rojas y blancas se determina como una leucoplasia no homogénea o eritroleucoplasia (19).

Es más frecuente su aparición como una alteración solitaria. Puede localizarse en cualquier zona de la mucosa bucal y orofaríngea, aunque el paladar blando, piso de boca y la mucosa yugal son las de mayor impacto, en la lengua es poco frecuente e incluso raro.

La eritroplasia posee el mayor riesgo de transformación maligna en comparación con todas las demás alteraciones cancerizables (21).

Alrededor del 90% de las eritroplasias presentan en la histopatología alteraciones displásicas graves, de estas la mitad son carcinomas invasores de células escamosas y un 40% corresponden a displasias graves o carcinomas in situ y el 10% restante son displasias leves o moderadas (17).

El tabaco y el alcohol se consideran factores etiológicos importantes, la posible relación con *Candida albicans* no está del todo clara (19,21)

Existen pocos estudios publicados sobre eritroplasia. La prevalencia de esta entidad se estima en un rango que va de 0.02 a 0.83% y la mayoría de las cifras conocidas son de estudios realizados en Asia (20). No hay una clara preferencia de género y se presenta principalmente en la edad media y la tercera edad (14,21).

QUEILITIS ACTÍNICA

Son queratosis actínicas que se localizan en la semimucosa labial, consisten en proliferaciones de queratinocitos epidérmicos, citológicamente aberrantes que aparecen en respuesta a una exposición prologada a la radiación UV. Afecta principalmente a la mucosa del labio inferior.

Debido a esta razón, es más frecuente en personas que realizan sus actividades al aire libre (campesinos, pescadores, obreros de la construcción, entre otros), en personas de raza blanca y ojos claros. Ocurre predominantemente en individuos del sexo masculino que superan los 40 años de edad (21) (Figura 7).

El estudio sobre el tiempo de evolución y la palpación del labio para distinguir alguna induración en la base de la lesión, son de gran utilidad para valorar cualquier transformación o cambio como:

- Borramiento del límite cutáneo-mucoso labial
- Pérdida de la turgencia labial
- Descamación labial

Es importante destacar que la queilitis actínica es una de las principales causas de cáncer de labio. Su porcentaje de transformación varía entre 12 y 20% (19,21).

Figura 1. Leucoplasia homogénea. Tomada de: Blanco CA, Otero REM, Peñamaría-Mallón M, Blanco-Carrión A. Desórdenes orales potencialmente malignos. Manifestaciones clínicas. RCOE 2013; 18(2):101-110.



Figura 2. Leucoplasia homogénea en piso de boca. Tomada de: Blanco CA, Otero REM, Peñamaría-Mallón M, Blanco-Carrión A. Desórdenes orales potencialmente malignos. Manifestaciones clínicas. RCOE 2013; 18(2):101-110.

Figura 3. Eritroleucoplasia. Tomada de: Blanco CA, Otero REM, Peñamaría-Mallón M, Blanco-Carrión A. Desórdenes orales potencialmente malignos. Manifestaciones clínicas. RCOE 2013; 18(2):101-110.





Figura 4. Leucoplasia nodular. Tomada de: Blanco CA, Otero REM, Peñamaría-Mallón M, Blanco-Carrión A. Desórdenes orales potencialmente malignos. Manifestaciones clínicas. RCOE 2013; 18(2):101-110.



Figura 5. Leucoplasia verrugosa proliferativa. Tomada de: Blanco CA, Otero REM, Peñamaría-Mallón M, Blanco-Carrión A. Desórdenes orales potencialmente malignos. Manifestaciones clínicas. RCOE 2013; 18(2):101-110.

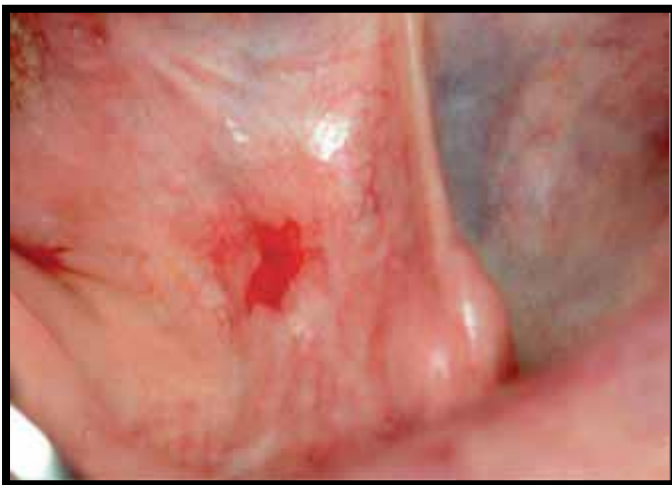


Figura 6. Eritroplasia en piso de boca. Tomada de: Blanco CA, Otero REM, Peñamaría-Mallón M, Blanco-Carrión A. Desórdenes orales potencialmente malignos. Manifestaciones clínicas. RCOE 2013; 18(2):101-110.

Figura 7. Queilitis actínica. Tomada de: Blanco CA, Otero REM, Peñamaría-Mallón M, Blanco-Carrión A. *Desórdenes orales potencialmente malignos. Manifestaciones clínicas.* RCOE 2013; 18(2):101-110.



Figura 8. Fibrosis submucosa en labio superior. Tomada de Santana GJ. *Atlas de patología del complejo bucal. 2a ed. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2010.*



Figura 9. Fumador invertido. Tomada de Santana GJ. *Atlas de patología del complejo bucal. 2a ed. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2010.*



Figura 10. Liquen plano reticular. Tomada de: Baladé MD, Llamas MS, Cerero LR, Esparza GG. Las lesiones blancas de la mucosa en el ámbito del precáncer oral. RCOE 2009;14(2): 179-197.



Figura 9. Liquen plano bucal erosivo. Tomada de: Baladé MD, Llamas MS, Cerero LR, Esparza GG. Las lesiones blancas de la mucosa en el ámbito del precáncer oral. RCOE 2009;14(2): 179-197.

FIBROSIS SUBMUCOSA

La fibrosis submucosa es una rara alteración que se caracteriza por una atrofia epitelial acompañada de una dureza o rigidez de la submucosa y de una decoloración peculiar. Su comienzo es insidioso y de evolución crónica cuyo origen y desarrollo no están claros (Figura 8).

Comienza con la aparición de vesículas y posteriormente como un signo fundamental es el blanqueamiento de la mucosa.

La característica de la enfermedad es una alteración fibroelástica de la submucosa que causa rigidez. A nivel de la faringe las bandas fibrosas reducen su abertura; en la mucosa bucal estas bandas se sitúan en dirección vertical y junto con el daño a los pilares y al espacio retromolar provocan trismo, la lengua puede ser tomada por completo perdiendo todas sus papilas, los labios son afectados con frecuencia y se puede percibir una banda fibrosa alrededor de todo el perímetro bucal.

La atrofia del epitelio, la fibrosis del tejido conjuntivo y la disminución de los vasos sanguíneos, parecen favorecer la carcinogénesis. Pindborg relata 40 casos de fibrosis submucosa en 100 pacientes con carcinoma bucal.

Afecta a ambos sexos, pero es más frecuente en mujeres y en edades entre los 40 y 60 años. Fue descrita entre los habitantes de la India y otros pueblos asiáticos donde tiene una gran prevalencia (22).

LIQUEN PLANO

Es una enfermedad inflamatoria crónica, recidivante, de naturaleza autoinmune, con manifestaciones bucales frecuentes y es considerada por la OMS como una alteración potencialmente maligna (19,21).

Es la enfermedad mucocutánea más frecuente de la cavidad bucal, su prevalencia en la población en general se estima entre el 0.5-4%.

Afecta principalmente a la población adulta entre los 30 y 70 años, con una edad media de aparición de 40-50 años. Es más frecuente en el sexo femenino, no tiene relación estacional ni predilección racial (21).

Como ya fue mencionado es autoinmune mediada por células en las que existe una interacción linfocito-epitelio dirigida contra antígenos de los queratinocitos basales que culmina con la degradación del estrato basal del epitelio. La interacción entre el epitelio y los linfocitos se divide en tres fases: reconocimiento de antígeno, activación de los linfocitos y apoptosis de los queratinocitos.

Las formas clínicas del Liquen plano son reticular (Figura 10), atrófico, ulcerativo o erosivo (19) (Figura 11) y queratótico o en placa.

Sus características histopatológicas son; hiperqueratosis y acantosis, degeneración hidrópica de la capa basal e infiltrado inflamatorio en banda.

Se han realizado diversos estudios para determinar la frecuencia de transformación maligna y esta varía desde un 0.03 a un 10% con una media de 2%. Las zonas donde se ha observado transformación maligna son la lengua y la mucosa yugal. Las formas clínicas queratóticas, erosivas y atróficas son de mayor riesgo (21).

LESIONES PALATINAS POR HÁBITO TABAQUICO INVERTIDO

El paladar de un fumador invertido, es una peculiar forma de queratosis que afecta principalmente el paladar y es producido por fumar varios tipos de cigarro o cigarrillos con la parte encendida dentro de la boca (Figura 9).

Es un hábito muy arraigado en los pueblos de la India y otros países asiáticos, comunidades de Colombia, Venezuela, Panamá, Aruba y las Antillas Menores.

El paladar de fumador invertido se considera una alteración con gran potencial de sufrir transformación maligna.

La causa de esta alteración es fácil de determinar porque es una consecuencia directa del calor producido por la combustión dentro de la boca y por los factores químicos.

Puede tener formas muy variadas, predominan las excrecencias queratósicas y nódulos blanquecinos sobre zonas eritematosas; pueden encontrarse áreas con queratinización difusa y ulceraciones superficiales y decoloración de la mucosa del paladar (22).

FACTORES DE RIESGO RELACIONADOS CON LAS ALTERACIONES DE LA MUCOSA BUCAL POTENCIALMENTE MALIGNAS

El avance tecnológico y la investigación científica, han permitido la identificación de factores directamente relacionados con algunas neoplasias malignas. Aunque la causa exacta del cáncer se desconoce, en la actualidad se considera de etiología multifactorial.

Clasificación de factores:

1. Factores intrínsecos. Son características propias del huésped, entre ellas: edad, sexo, nutrición, predisposición genética e inmunodeficiencias congénitas y adquiridas.
 - *Edad y sexo.* Tienen una íntima relación con las patologías se presentan en grupos de riesgo por edad y en uno o ambos sexos.
 - *Trastornos nutricionales.* Tales como las deficiencias proteicas, vitamínicas y de hierro así como las alteraciones metabólicas que acompañan a la desnutrición, pueden causar alteraciones en las mucosas que condicionan la aparición de cambios displásicos.
 - *Inmunodeficiencias.* El sistema inmunológico desempeña un papel importante en la patogenia del cáncer. Estas inmunodeficiencias pueden ser congénitas y se acompañan principalmente de linfomas o leucemia, o adquiridas que se deben generalmente a fármacos o enfermedades, por ejemplo; pacientes con infección por Virus de Inmunodeficiencia Adquiridas (VIH/SIDA), o pacientes en terapia con inmunosupresores por trasplante o enfermedades autoinmunes.
 - *Herencia.* Ha sido un factor muy discutido ya que se piensa que la prevalencia de ciertos tipos de cáncer y su relación con el sitio u órgano afectado, en determinados grupos raciales se relaciona más con factores ambientales, hábitos y dieta.

Otro factor intrínseco también mencionado es la diabetes y los trastornos hormonales que pueden favorecer la aparición de neoplasias malignas.

2. Factores extrínsecos. Son aquellos que provienen del medio donde se desenvuelve el individuo, ya sea laboral o ambiental, y se han clasificado como químicos, biológicos y físicos.

- *Químicos.* Entre los agentes estudiados destacan el tabaco que contiene más de 15 carcinógenos y su asociación con el alcohol, los alquitranes y los hidrocarburos policíclicos, entre otros más.
- *Biológicos.* Se han demostrado que algunos agentes virales contribuyen al desarrollo de tumores malignos, la presencia del virus de Ebstein Barr, virus del Papiloma Humano (sepa 16 y 18) y Herpes tipo II, en carcinomas bucales ha sido bien documentada.
- *Físicos.* El papel de las radiaciones X y UV en el desarrollo del cáncer ha sido considerada en la etiopatogenia del mismo. Otros factores físicos descritos son la irritación por prótesis parcial o total desajustada, retenedores deficientes, dientes fracturados u obturaciones desajustadas (23,24).

INICIACIÓN, PROMOCIÓN Y PROGRESIÓN DEL CÁNCER

Iniciación

Ocurre a nivel del genoma y las alteraciones pueden darse en los tumores benignos y malignos. Los agentes que actúan en esta primera etapa son físicos; rayos UV que dañan e ionizan y deprimen el gen de la proteína p53, los químicos; como los alquilantes, aminas aromáticas, nitrosaminas y grasas poliinsaturadas producen mutación irreversible, y por último los agentes virales que introducen sus oncoproteínas cambiando el código normal, activan los oncogenes y desactivan a los genes supresores (25).

La inestabilidad genómica es una característica fundamental de las células cancerosas, sin embargo diferentes factores extrínsecos no-genéticos (epigenéticos), participan significativamente y agregan mayor complejidad al inicio y a la progresión de la transformación maligna.

Las células cancerosas adquieren una variedad de propiedades especiales en la carcinogénesis y en la progresión tumoral, una de las más importantes son las alteraciones en las vías de señalamiento intracelular, capaces de ignorar las señales de su microambiente que normalmente mantienen a la proliferación celular bajo estricto control. Todos estos cambios hacen posible que la célula sobreviva, crezca, se divida y metastaticen.

El cáncer depende de la acumulación heredada de cambios genéticos/epigenéticos, que una célula transformada transmite a su progenie. El proceso de transformación maligna requiere de muchos años para ser completada (26).

Promoción

Es la etapa de crecimiento tisular con la formación del tumor. Participan los factores de crecimiento y los receptores a los factores de crecimiento, así como la angiogénesis y degradación de matrices celulares.

Los factores de crecimiento son péptidos producidos por las mismas células o por las vecinas y actúan como facilitadores de mitosis incorporando en fase S a algunas células que se encuentran en fase G0 o G1 prolongada.

Los factores de crecimiento se sintetizan en una célula y luego migran al espacio intercelular ejerciendo sus acciones sobre las células vecinas. Entre los factores que influyen y que son marcadores moleculares encontramos el EGF, PDGF y FGF.

Los receptores de membrana son compuestos glucoproteicos que se unen a los factores de crecimiento y transmiten los mensajes de proliferación (25).

Progresión

Esta etapa implica la capacidad de invadir tejidos vecinos o a distancia, por parte de la célula tumoral maligna (25).

Los cambios genéticos que ocurren durante la progresión tumoral se acompañan de cambios histológicos.

Los genes relacionados al cáncer se han identificado principalmente por mutaciones, las cuales aumentan o disminuyen la función de las vías de señalamiento. Los proto-oncogenes (genes normales) al mutar incrementan su función y se convierten en oncogenes.

Los oncogenes codifican proteínas que promueven la pérdida del control de crecimiento, aceleran la proliferación, conducen a la inestabilidad genética, evaden la apoptosis y promueven la metástasis.

Los genes que han perdido su función en el proceso del desarrollo del cáncer son llamados genes supresores tumorales (GST).

Los GST codifican proteínas que generalmente inhiben la proliferación celular, mantienen la diferenciación celular, facilitan la adhesión celular y permiten la reparación del ADN. La pérdida de su función bloquea estas regulaciones y contribuye al desarrollo del cáncer.

Los principales GST que codifican las proteínas intracelulares mantienen una directa relación con el ciclo celular, por ejemplo; p53, pRB, entre otros.

En general los diferentes oncogenes responden a los diferentes carcinógenos, generándose anormalidades específicas (25,26).

Las células neoplásicas tienen un incremento en su metabolismo y requieren mayor aporte de oxígeno, por ello los genes codifican los factores que estimulan la angiogénesis tumoral, que es necesaria para iniciar la cascada metastásica.

Los factores angiogénicos forman vasos que tienen paredes porosas que les permite la entrada y salida de las células malignas y la liberación de proteinasas que degradan la matriz celular, permitiendo la migración de estas células.

Lo fundamental de esta etapa es comprender las dificultades que debe superar una célula maligna para colonizar en un lugar distante de su sitio de origen (25).

.

CICLO CELULAR

Nuestro cuerpo se compone de billones de células diferenciadas que cumplen una función específica y deben reproducirse para reemplazar a las células que llegadas a su madurez o diferenciación, deben morir (25).

Sin embargo, el cáncer rompe las reglas básicas del comportamiento celular. Las células malignas presentan defectos en los circuitos regulatorios que controlan la proliferación celular normal y su homeostasis.

Las células cancerosas presentan dos principales características hereditarias: se reproducen sin ajustarse a las restricciones normales del crecimiento y división celular, e invaden y colonizan territorios normalmente destinados a otras células (26).

Es importante destacar que los errores ocurridos en las células, se desarrollan dentro del ciclo celular y en los sitios de control dentro del mismo.

El ciclo celular consta de cuatro tiempos o fases; G1 Y G2 implican una actividad metabólica para el crecimiento en masa de la célula, la fase S consiste en la replicación del ADN para heredar a cada célula hija la misma carga genética y la fase M o de división celular como su nombre lo indica es la división de todo el material celular para originar las dos células hijas.

Cuando la célula no está en actividad proliferante se dice que ha salido del ciclo celular y se encuentra en estado de quiescencia o G0, un claro ejemplo son las neuronas.

El tránsito por las cuatro fases está dirigido por una red de interacción de proteínas compleja y finamente regulada.

Como ocurre en otros procesos celulares es necesaria la presencia de un estímulo que la célula sea capaz de interpretar para comenzar el ciclo. A este proceso se le conoce como transducción de señales y es mediado por complejos proteicos de funciones específicas denominadas transducisomas.

Aquellas proteínas que constituyen el estímulo o señal extracelular que le indica a la célula que entre en proliferación, son conocidas como factores de crecimiento (llamados por algunos autores *Citoquinas*), su función no solo es la proliferación celular, también la diferenciación celular.

Una vez que el ligando (factor de crecimiento) se une a su receptor en la membrana celular, se produce un cambio conformacional que se traduce en una actividad enzimática sobre otras proteínas que forman parte de la vía de señalización en la célula. En las vías de señalización para factores de crecimiento se ha encontrado que las reacciones predominantes son la fosforilación.

Transición G1/S

La producción de Ciclina D promueve el inicio del recorrido por las fases del ciclo celular. Al formar un complejo con la CDK adecuada (4 ó 6) se activa la acción cinasa de esta última, cuyo sustrato principal es la proteína RB (Proteína del Retinoblastoma).

Esta proteína juega un importante papel en el control de la proliferación celular y es una proteína supresora de tumor. La fosforilación parcial de Rb por el complejo ciclina D/CDK, dejan en libertad a los E2Fs activantes (factores de transcripción, que son bloqueados por la Rb hipofosforilada, y que son esenciales para la expresión de genes que dan continuidad al ciclo) los cuales tienen la capacidad de reemplazar al complejo represor p107/E2F4 de sus promotores blanco en etapa G1 temprana.

Esta acción desemboca en la activación en la activación transcripcional de la ciclina E y fosfatasa cdc25A, la cual, es mediada por c-myc. En caso que la ciclina D estuviera ausente, la ciclina E es capaz de ejercer la misma función y así iniciar el ciclo celular.

La fosfatasa cdc25A remueve grupos fosfatos inhibidores de CDK2 y permite así la formación del complejo ciclina E/CDK2, que culmina en la inactivación de la proteína Rb.

Los E2Fs activantes promueven también la expresión de ciclina A, ciclina B y proteínas de la maquinaria de replicación en la transición de G1/S. Así el bloqueo de los E2Fs activantes inhiben la producción de proteínas que intervienen en la progresión de la etapa S, asegurando que se sinteticen solo las necesarias.

Transición G2/M

La fase G2 del ciclo celular es el lapso entre el fin de la replicación (fase S) y el inicio de la fase M. Al igual que en G1 la célula aumenta en tamaño y duplica sus organelos citosólicos. Por su parte, la fase M o división celular comprende la división nuclear (mitosis) y la división citoplásmica (citocinesis), siendo la etapa final del ciclo celular.

El complejo ciclina B/CDK1, llamado también factor promotor de la fase M o MPF, es el factor principal en esta transición. Es activado por la cinasa polo y translocado al núcleo en prometafase coincidiendo con la desintegración de la membrana nuclear, por lo cual uno de sus trabajos es fosforilar las proteínas de la lámina nuclear, un paso fundamental para que el núcleo se disocie en vesículas y deje libres a los cromosomas que también son formados por intervención del MPF y otros como la cinasa Aurora B, importante también para la segregación cromosómica.

La citocinesis para la separación de las células hijas, ocurre solo después de que se hubo terminado la mitosis, pues ambos procesos están vinculados espacial y molecularmente y este mismo marca el final de un ciclo celular (27).

Puntos de control en el ciclo celular

Normalmente el ciclo celular se desarrolla sin interrupción, bajo el monitoreo, control y regulación de los mecanismos ya mencionados. Las células normales tienen la capacidad de interrumpir el ciclo celular, cuando ocurre un daño celular y se afecta la maquinaria bioquímica o la información genética involucrada en el ciclo.

Si ocurre la interrupción celular, en cualquiera de las fases, ésta tiene la finalidad de dar tiempo a la reparación para continuar el proceso del ciclo, en caso de que no se pueda reparar, se activa la muerte programada o conocida como apoptosis.

La finalidad es evitar que se produzcan células hijas con alteraciones en la información genética, de lo contrario si la célula no muere y queda con un ADN dañado, entonces continúa hacia la transformación maligna.

Existen sitios o moléculas que reciben el nombre de *puntos de control o verificación* que están integrados por una variedad de moléculas, encargadas de que las fases y eventos del ciclo se lleven a cabo en orden.

- *Punto de control de G1*

Llamado punto de restricción, el cual se percata de que se cumplan todos los requisitos para que la célula pase a G1 tardío y a las siguientes fases del ciclo. Las moléculas que participan son principalmente: Complejos Ciclina D/CDK4 o ciclina D/CDK6, inhibidores de quinasa, proteína Rb y p53.

Actualmente el punto de restricción se encuentra ausente en muchos tipos de Cáncer, de ahí que una célula pueda proliferar.

- *Punto de control de S*

Tras la exposición a agentes que dañan el ADN, como las radiaciones, las células muestran una inhibición de la síntesis de ADN y se ha encontrado una supresión en el Complejo ciclina A/CDK2, por lo que éstas moléculas se consideran como el punto de control en esta fase.

- *Punto de control de G2*

En este punto de control, participan el Complejo ciclina B/CDK2 y su inhibidor p34, se encuentra normalmente en el citoplasma y posteriormente pasa al núcleo conforme la célula pasa de G2 a M.

La reacción de los mismos ante la radiación o la lesión, es retener a los complejos ciclina B y se detiene el ciclo celular.

- *Punto de control del huso mitótico*

Este punto detiene la evolución del ciclo celular, hasta que todos los cromosomas están unidos apropiadamente al huso.

La integridad de los diferentes puntos de control se considera clave en el mantenimiento de la estabilidad genética, ya que una de las causas más frecuentes de su activación es, precisamente, la alteración del ADN.

Las alteraciones estructurales o funcionales que impiden el funcionamiento de los "frenos" o controles del ciclo, pueden llevar a la progresión de ciclos celulares alterados y, por lo tanto, a la oncogénesis.

Las alteraciones más comunes en el cáncer son la expresión aberrante de reguladores positivos (ciclinas), o la pérdida de funciones reguladoras negativas (inhibidores de CDKs); algunas de estas alteraciones se han asociado estrechamente, con algún tipo particular de cáncer (28).

IMPORTANCIA DEL DIAGNÓSTICO DE LAS ALTERACIONES DE LA MUCOSA BUCAL POTENCIALMENTE MALIGNAS

La detección precoz en estadios asintomáticos, permite realizar exámenes preventivos que conduzcan a una identificación temprana de malignización, ya que garantiza no sólo un aumento en las tasas de supervivencia, sino también una mejora en la calidad de vida en consecuencia de tratamientos menos agresivos y mutilantes (29).

Se sabe de la transformación de las alteraciones de la mucosa bucal potencialmente malignas en un verdadero cáncer por estudios que han sido realizados en hospitales y estos demuestran que entre el 1 y 18% de las alteraciones sufren esta transformación y que existe una influencia de la zona geográfica de origen, hábitos socio-culturales y componentes genéticos de la población (30).

Sin embargo, la falta de conocimiento de los síntomas iniciales de cáncer, la automedicación o la cultura de no visitar al odontólogo hasta que se tiene la sospecha de que se tiene algún problema, confirman la importancia de aumentar la percepción pública de la existencia del cáncer bucal, sus síntomas y la necesidad de visitar al profesional si ésta persiste más de 3 semanas.

La mejor inversión para reducir la morbilidad y mortalidad por cáncer bucal es educar a los clínicos para que incorporen el examen bucal de forma rutinaria en su práctica diaria y de esta forma intervenir precisamente en su progresión a cáncer (3).

Ante la presencia de una alteración sospechosa en un sitio de riesgo y con datos relacionados con la etiología del cáncer se recomienda:

1. Historia clínica detallada
2. Examen cuidadoso de la cavidad bucal (Inspección, palpación y observación de todo el sistema)
3. Estudio minucioso de la lesión
4. Descripción de la lesión (Localización, tipo de lesión, contorno, superficie, color, consistencia, tamaño, síntomas y tiempo de evolución)

5. Examen extrabucal para la búsqueda de adenopatías (la presencia de ganglios linfáticos de consistencia dura e indoloros, con movilidad restringida o adheridos sugieren metástasis).
6. Remitir al área de especialidad en Patología bucal para la realización de estudios histopatológicos para confirmar o descartar dicha alteración (17).

METODOLOGÍA DEL DIAGNÓSTICO DE LAS ALTERACIONES DE LA MUCOSA BUCAL POTENCIALMENTE MALIGNAS

Dentro del estudio clínico del paciente existen herramientas de diagnóstico que son un elemento para tener un mayor grado de seguridad y que complementan los datos proporcionados por la clínica, uno de ellos son las tinciones con colorantes que evidencian los niveles de actividad metabólica entre las células normales y las malignas, lo que se traduce en la afinidad por determinados colorantes.

AZUL DE TOLUIDINA

Una vez localizada la alteración en la mucosa, se aclara la cavidad bucal con una solución llamada “pre rinse” durante 20 segundos (después se aclara con agua por 20 segundos), se coloca la solución con el azul de toluidina durante 60 segundos y después un nuevo aclarado con la solución llamada “post rinse” durante 20 segundos. Se repite la tinción utilizando la solución con azul de toluidina y se aclara dos veces con agua.

Se procede a la observación de la alteración, se colorea de azul y no se elimina mediante el aclarado y debe considerarse como sospechosa y sobre la que hay que practicar una biopsia (31).

BIOPSIA

Es un procedimiento quirúrgico para la obtención de tejido de un organismo vivo, para su estudio microscópico, básicamente con una finalidad diagnóstica.

La biopsia bucal está indicada para la confirmación de lesiones sospechosas de malignidad como la leucoplasia, eritroplasia y ulceraciones sin causa aparente.

Existen diferentes tipos de biopsia; entre ellas:

- Biopsia incisional. Consiste en la remoción de una muestra representativa de la lesión y tejido adyacente normal con el objetivo de establecer un diagnóstico definitivo de forma previa al tratamiento.

- Biopsia escisional. Es la remoción completa de la lesión con un doble objetivo; diagnóstico y terapéutico. Esta biopsia solo es posible cuando el tamaño de la alteración permite la escisión completa con márgenes sanos.

Es importante destacar que son preferibles las biopsias escisionales en lesiones de pequeño tamaño (<1 cm), por el contrario, en lesiones de gran tamaño son preferibles biopsias incisionales. Si existen diversas lesiones deben efectuarse varias biopsias. La tinción con azul de toluidina puede resultar útil en la elección de las áreas a estudiar (32).

A pesar de que la biopsia es fundamental, no deja de ser un método de diagnóstico que en ocasiones se debe complementar con otros estudios como la inmunohistoquímica (33,34).

CITOLOGÍA EXFOLIATIVA

La citología exfoliativa bucal se define como el estudio e interpretación de los caracteres de las células que se descaman natural o artificialmente de la mucosa bucal. Consiste en observar al microscopio la morfología de las células epiteliales superficiales después de su toma, fijación y tinción.

Es una técnica sencilla, no agresiva y aceptada por los pacientes. Sin embargo, el uso de la citología exfoliativa para el diagnóstico de atipias epiteliales y especialmente para el carcinoma bucal perdió importancia, sobre todo debido a su baja sensibilidad representada por el elevado número de falsos negativos que deriva de la inadecuada técnica de muestreo y en la interpretación citológica.

En la última década se han experimentado un cambio en los métodos de diagnóstico de un nivel histopatológico a un nivel molecular. Gracias a la aplicación de nuevas técnicas moleculares, la citología exfoliativa ha resurgido como un método fácil y rápido para conseguir muestras de ADN (29,34).

Los cambios moleculares que participan en la carcinogénesis pueden ser identificados en células exfoliadas. El análisis molecular permitirá el diagnóstico precoz, identificando los cambios antes de que estos sean clínicamente visibles, así como la valoración de la progresión de estas alteraciones y sus respuestas a distintos tratamientos (29).

MARCADORES MOLECULARES

Un *biomarcador* o *marcador molecular* es una característica que es medida y evaluada objetivamente como un indicador de procesos biológicos normales, patológicos o respuestas farmacéuticas a una intervención terapéutica.

De una forma más precisa el término hace referencia a una sola especie molecular que está presente en las muestras de un sujeto con una determinada enfermedad o condición (4,5).

El análisis molecular puede identificar entre las células normales una población de células cancerígenas que poseen mutaciones específicas (33).

La obtención de material no solo puede ser de las células obtenidas en la citología exfoliativa, también la saliva es una importante herramienta diagnóstica debido a que está en contacto directamente con la mucosa bucal, la descamación de las células y sus productos pueden ser detectados, lo que hace posible estudiar a los marcadores en la saliva de pacientes con alguna alteración en la mucosa bucal potencialmente maligna (34).

El método de recolección es indoloro, seguro y no traumático. Hu sostiene que la utilización de la saliva puede demostrar marcadores más específicos para las patologías bucales.

La utilización de la saliva se considera una nueva alternativa no invasiva con relación a las biopsias, convirtiéndose en una efectiva modalidad para el diagnóstico (4,35).

Existen diferentes tipos de marcadores moleculares que pueden proporcionar información adicional a la recopilada en el examen clínico y el estudio histopatológico, ya que presentan alteraciones en su expresión o actividad en condiciones neoplásicas y de los cuales los más conocidos para cáncer bucal se muestran en la siguiente tabla: (1,4,14,36,37) (Tabla 3).

Tabla 3. Marcadores moleculares.

Grupo	Marcadores
Marcadores de crecimiento tumoral	Telomerasa, Endotelina-1, Ciclina D, ki-67, Galectinas, p120, AgNOR, Bcl-2
Marcadores de supresión tumoral y respuesta antitumoral	p53, Proteína del Retinoblastoma, Inhibidores de la ciclina dependiente de la quinasa, bax, células dendríticas, cadenas z
Marcadores de angiogénesis	VEGF/VEGF-R, NOS2, PD-ECGF, FGF
Marcadores de invasión tumoral y potencial metastásico	MMP, Proteína de unión a calcio, integrinas, caderinas y caterinas
Marcadores celulares de superficie	Carbohidratos, HLA, Antígeno CD57
Marcadores intracelulares	Cyfra21-1, Citoqueratinas
Marcadores de queratinización anómala	Filagrinas, involucrina, proteínas desmosomales, antígeno de la sustancia intracelular
Productos del ácido araquidónico	Araquidonato 5- lipooxigenasa
Enzimas	LDH, GSTS

MARCADORES DE CRECIMIENTO TUMORAL

- *Telomerasa*

Es una enzima cuyo rol es mantener la integridad telomérica y actúa enlongando los extremos cromosómicos erosionados. El tamaño de las secuencias teloméricas terminales varía dependiendo de diversos procesos biológicos. Después de un cierto número de divisiones celulares, la célula adquiere una longitud telomérica crítica, por lo cual puede resultar en la pérdida de secuencias de regiones subteloméricas que podrían llevar a la muerte celular.

El ADN telomérico funciona como un “reloj mitótico” el cual permite la salida de la célula del ciclo celular cuando los telomeros llegan a ser cortos, si no es identificado por los sitios de control del ciclo celular que normalmente los llevaría al primer estadio de mortalidad, llegan a la segunda etapa denominada crisis.

La mayor parte de células que entran en esta etapa mueren, mientras que una pequeña subpoblación con defectos cromosómicos sobrevivirán a la etapa por renovación en la producción de telomerasa y a consecuente estabilización de sus telomeros que lleva a una proliferación indefinida (38).

En la mayoría de las células de un adulto, la telomerasa no está presente ya que la enzima no está siendo expresada. Sin embargo, en algunas células cancerosas ésta función es necesaria reactivando el gen que codifica la telomerasa (5,31).

En las investigaciones realizadas, la telomerasa se expresó en el 75% de los tejidos tumorales, así que la detección de la actividad de la telomerasa podría ser de valor diagnóstico del cáncer bucal. Sin embargo, solo es considerado como un marcador coadyuvante para el diagnóstico (4).

- *Endotelina-1 (ET-1)*

Los vasos sanguíneos que irrigan los tumores presentan alteraciones tanto morfológicas como funcionales. Estas características pueden ser relevantes para favorecer el crecimiento y expansión del tumor modificando el flujo sanguíneo al mismo.

Uno de los factores que está implicado en la regulación del flujo sanguíneo en condiciones normales y patológicas es la *Endotelina-1*, que es un péptido producido por las células endoteliales y que presenta un potente efecto vasoconstrictor (39).

Participa no solo en la biología vascular, sino también en diversos procesos incluyendo la inflamación, la cicatrización y la carcinogénesis.

La expresión de Endotelinas y sus receptores se asocia con un alto grado de agresividad, invasión y metástasis (el aumento a nivel sistémico es más notorio en pacientes con metástasis ganglionar).

Autores han reportado una elevación significativa de ET-1 en los carcinomas bucales, a pesar de ello sus niveles en saliva no parecen ser un buen marcador de transformación a malignidad (4).

- *Ciclinas*

Las ciclinas son una familia de proteínas involucradas en la regulación del ciclo celular. Forman complejos con enzimas quinasa dependientes de ciclinas (CDKs) activando la función quinasa (4).

La ciclina D1 controla el ciclo celular, permitiendo la progresión desde la fase G1 a la fase S (36). Siendo este su efecto, es evidente que la sobreexpresión anormal de la ciclina D1 conduce a la proliferación celular (40).

La sobreexpresión de las ciclinas A y E, se relacionan con la agresividad de la enfermedad. La ciclina B, se incrementa en casos positivos a los virus del papiloma humana (VPH) 16 ó 18, los cuales son la principal causa de cáncer (27). La ciclina D se

ha visto aumentada en múltiples tipos de cáncer y el riesgo aumenta cuando existe un decremento de zinc y/o deficiencias nutricionales. En el cáncer bucal se correlaciona con la proliferación celular, metástasis y pobres diagnósticos (4,27).

- *ki-67*

Es una proteína nuclear no histónica expresada en las células durante las fases activas del ciclo celular (G1, S, G2, M) y ausente en las células en estado de reposo (G0). Por lo tanto, puede ser empleada para medir la fracción de crecimiento en los tejidos normales y en las neoplasias malignas (4,41).

La capa basal de epitelio bucal es la zona donde en condiciones normales se ubica el compartimiento celular en proliferación, mientras que en la capa suprabasal incluye las zonas de maduración celular. Entonces, la detección de ki-67 en la capa suprabasal es un marcador objetivo de displasia epitelial. El pronóstico de los tumores se relaciona con su capacidad proliferativa y una forma precisa de medir el índice de proliferación es detectando ki-67 (40). De esta forma es más útil como predictor de la respuesta al tratamiento radioterápico y evolución clínica en los tumores de cabeza y cuello (42).

- *Galectinas*

Constituyen una familia de proteínas extremadamente conservadas a través de la evolución, participan en diversos eventos biológicos (4,43).

Estas proteínas han sido involucradas en fenómenos de inmunomodulación, adhesión celular, regulación del crecimiento, inflamación, embriogénesis, reproducción, metástasis y proliferación. En observaciones realizadas en los últimos años, sugieren que la expresión de galectinas 1, 2, 3, 4 y 7 a nivel de células tumorales tiene una relación directa con el grado de invasividad y metástasis de ciertos tumores como el de tiroides, carcinoma de cabeza y cuello y de colon (41).

En el caso del cáncer bucal, la sobreexpresión de 1, 3 y 7 son marcadores de comportamiento biológico y progresión del tumor en el carcinoma de células escamosas (4).

- *p120*

Es un nuevo componente en la familia de las cateninas. Se trata de una proteína asociada a la proliferación nuclear en estadios precoces de la fase S. Se localiza junto al centrómero del brazo largo del cromosoma 11. Las alteraciones en el complejo E-caderina-p120 pueden jugar un papel muy importante en la progresión tumoral. Una pérdida de expresión de este complejo indica que la neoplasia se encuentra en situación de progresión (36).

- *AgNOR*

Las proteínas AgNOR se han definido como anillos de ADN nuclear que codifica para el ARN ribosomal necesario para la síntesis protéica. Son argiofílicas y constituyen un indicador de proliferación nuclear. Las variaciones de estos parámetros con respecto a las células normales han sido reiteradamente reportadas en la literatura para evaluación de malignidad. Es el único marcador de este grupo que tiene una importante asociación con el pronóstico y el grado de malignidad.

El análisis de esta proteína puede ser utilizado como un método de rutina para el diagnóstico del cáncer bucal (36,44).

- *Bcl-2*

La proteína bcl-2 se encuentra en la membrana mitocondrial (37), es regulada por la proteína p53. Forma parte del sistema de regulación que controla el ciclo celular y la inducción de la apoptosis.

Altas concentraciones de bcl-2 previene la inducción de varias formas de apoptosis, dando lugar al desarrollo de carcinomas, favoreciendo las mutaciones y progresión tumoral (45,46).

La función fundamental de la proteína consiste en inhibir la apoptosis permitiendo que las células con ADN lesionado no mueran. La proteína bcl-2 no transforma las células por sí misma, pero las hace susceptibles de ser transformadas por otros oncogenes (37).

MARCADORES DE SUPRESIÓN TUMORAL Y RESPUESTA ANTITUMORAL

- *p53*

El gen p53 es el segundo gen supresor tumoral, la pérdida de su función se implica en el desarrollo de cáncer de colon, mama, pulmón y cerebro (47).

Es una fosfoproteína formada por 393 aminoácidos, tiene un papel muy importante en el control del ciclo celular, actuando como factor de transcripción, de estabilidad genómica, diferenciación celular y apoptosis. Las aberraciones del gen p53 son las alteraciones genéticas más frecuentes del cáncer bucal (36).

El gen p53 se encuentra en el brazo corto del cromosoma 17 y codifica un factor de transcripción nuclear. Resulta esencial para inducir la respuesta de la célula ante el daño del ADN, deteniendo el ciclo celular en caso de mutación (4,42,43).

Por esta razón en los últimos años ha sido nombrado “el guardián del genoma” (36). Si se repara la lesión, el ciclo continúa, pero si no se repara se induce la apoptosis de la célula mediante la expresión de genes como Bax.

La alteración de la proteína p53 produce inestabilidad genómica, siendo las células incapaces de evitar la proliferación o activar la apoptosis cuando está comprometida la integridad del ADN, de manera que son capaces de acumular las mutaciones para completar la carcinogénesis (48).

La sobreexpresión o mutación de p53, se ha demostrado con mayor frecuencia en células de carcinoma de la mucosa bucal (31), que en cualquier otro cáncer humano (49).

- *Proteína del Retinoblastoma*

La proteína supresora de tumores Retinoblastoma (Rb) es una proteína “hub” o central que juega un rol central en el control del ciclo celular en células eucariotas y su inactivación funcional se encuentra asociada a la progresión de cáncer en humanos (50).

Es un factor del punto de comprobación de G1; por lo tanto es la llave en el punto R. Koontongkaew y col. encontraron una sobreexpresión de esta proteína en un 58.49% de los carcinomas bucales estudiados.

La desregulación de la pRb da lugar a aberraciones de distintas proteínas celulares, como CD1 y CDK4; este mecanismo es necesario para el desarrollo de cáncer bucal y faríngeo (36).

- *Inhibidores de la ciclina dependiente de la quinasa*

Las CDKs se definen como subunidades catalíticas con actividad serín-treonín quinasa que presentan una alta homología de secuencia y son capaces de unirse a subunidades reguladoras llamadas ciclinas. El papel principal que se ha asignado tradicionalmente a las CDKs es el de dianas moleculares de los puntos de control para detener el ciclo celular (51).

Existen dos familias de CDKIs: la familia de p21 y la familia de INK4. La p21 es el gen inhibidor universal de las CDKs; se localiza en el cromosoma 6. En condiciones normales forma un complejo con las ciclinas como ya se había mencionado. Hay una asociación entre la expresión de p21 y el grado de diferenciación tumoral (36).

- *Bax*

Cofactor de p53 que actúa en la inducción de la apoptosis. Es inducido por la p53. Bajos niveles de Bax se han relacionado con mal pronóstico del carcinoma de células escamosas (36).

- *Células dendríticas*

Pueden generar una respuesta antitumoral importante. Una sobreexpresión de ellas indica buen pronóstico (36).

- *Cadenas zeta.*

Se han identificado recientemente como parte de receptor de células T, que participan en la defensa tumoral. La carencia de expresión de las cadenas zeta en tumores se ha asociado a menor supervivencia (36).

MARCADORES DE ANGIOGÉNESIS

- *VEGF/VEGF-R (Factor de crecimiento endotelial vascular/receptor)*

El factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) es una citoquina con múltiples funciones (6,36) se ha situado como el principal de los factores angiogénicos, por su potencia y su implicación en múltiples mecanismos.

Hay alteraciones oncogénicas que pueden activar la expresión de VEGF, como por ejemplo la mutación en el gen supresor de tumores p53.

No sólo activa un programa de proliferación en el endotelio, también pone en marcha propiedades citoprotectoras, descritas hasta ahora en capilares de desarrollo, esta propiedad es fundamental en múltiples situaciones, incluyendo entre otras isquemia/reperfusión, neoplasia, inflamación, perfusión de órganos destinados al trasplante, shock y reendotelización de superficies denudadas.

El VEGF-A es considerado el principal factor angiogénico tumoral ya que no solo promueve la angiogénesis del endotelio normal, sino también del linfático, afectando doblemente a la diseminación del tumor (52).

- *NOS2 (Óxido nítrico tipo sintasa II)*

El óxido nítrico es un radical libre con una corta vida media, requiere para su síntesis del aminoácido L-arginina y de una molécula de oxígeno en presencia de las isoenzimas sintasas de óxido nítrico, es producido por muchas células del organismo como las células neuronales, endoteliales y polimorfonucleares.

Participa en la regulación de procesos como la señalización celular, neurotransmisión, inmunológicos, tono vascular, entre otros.

La formación de radicales libres como el óxido nítrico contribuyen para el desarrollo de carcinogénesis bucal, por daños al ADN ya sea por alteraciones en sus bases nitrogenadas o por ruptura de la doble hebra, que conduce a variaciones en los genes supresores de tumores como el p53 y aumento en la expresión de oncogenes (53).

Se considera el responsable de la angiogénesis en los cánceres y también de la diseminación tumoral. El enzima NOS2 se ha encontrado en las metástasis linfáticas (31,10).

El NO está involucrado en la transformación celular y en las formación de lesiones neoplásicas, así mismo el uso de medicamentos específicos para inhibirlo reducen la metástasis. Se puede aseverar que los radicales libres son mediadores de la iniciación y promoción del cáncer (53).

- *PD-ECGF (Factor derivado de las plaquetas, células endoteliales y factor de crecimiento)*

Son receptores de la tirosina quinasa de superficie celular, para los miembros de la familia del factor de crecimiento derivado de plaquetas. Subunidades de PDGF-A y-B son factores importantes que regulan la proliferación celular, la diferenciación celular, el crecimiento celular, el desarrollo y muchas enfermedades incluyendo el cáncer. Es una citoquina angiogénica que deriva de las plaquetas. Se han encontrado en los microvasos del carcinoma de células escamosas oral (6,36).

- *FGF (Factor de crecimiento fibroblástico)*

Son una familia de polipéptidos que regulan la proliferación y diferenciación celular (6,36). Es uno de los principales factores angiogénicos que es sintetizado por las células tumorales así como por las células endoteliales (54).

En la mucosa bucal el factor de crecimiento fibroblástico interviene en la transmisión de señales entre el epitelio y el tejido conectivo para producir crecimiento epidérmico, angiogénesis y producción de colágeno. Se expresa de forma aberrante en la tumorigénesis (44).

El FGF-1 no está directamente relacionado con el proceso de proliferación celular en el carcinoma de células escamosas, aunque una menor concentración de él en la carcinogénesis puede influir en una pobre diferenciación (6,36).

Por ello se considera que el FCF juega un papel importante en la transición del fenotipo benigno a maligno en los tumores de otras partes del cuerpo como en el cerebro (54).

MARCADORES DE INVASIÓN TUMORAL Y POTENCIAL METÁSTASICO

- *MMP (Metaloproteínas de matriz)*

Las MMP son proteasas extracelulares requeridas en numerosos procesos relacionados con el desarrollo, la regeneración y la enfermedad. La degradación de proteínas extracelulares es esencial para que cualquier célula individual pueda interactuar con su ambiente circundante y para que los organismos multicelulares funcionen y se desarrollen.

Las Metaloproteínas de matriz juegan un papel central en la proliferación y progresión de células cancerosas. Uno de los acontecimientos clave en la malignización del tumor es la degradación de la ECM (Matriz extracelular) por las MMP, y esta acción es de suma importancia para el crecimiento del tumor, la invasión del tejido y es fundamental para la angiogénesis.

Las Metaloproteínas en los procesos antes mencionados y en muchos tejidos cancerosos se detectan una elevada expresión y activación. En general, el papel de las MMP es crear un ambiente favorable para el desarrollo del tumor, microambiente que promueven la malignización (55).

- *Proteína de unión a calcio*

Estas son expresadas principalmente por células del sistema nervioso central, esencialmente por células astrogliales y tejidos derivados de la cresta neural, como los tumores de melanocitos.

La proteína funcional, que se compone de los heterodímeros y homodímeros de la subunidad A1 y B, está implicada en una variedad de actividades reguladoras intracelulares como extracelulares. Intracelularmente, esta proteína interviene en la regulación de la fosforilación, regulación de algunas actividades enzimáticas, homeostasis de calcio y proliferación celular (56).

Están localizadas en el citoplasma o el núcleo de una amplia variedad de células y están implicadas en la regulación de la progresión del ciclo celular y la diferenciación celular.

El mayor uso de estas proteínas ha sido el de marcadores tumorales. Esto ha permitido resolver diagnósticos de tumores indiferenciados. En muchos tumores la expresión de S100 se ha visto alterada en comparación a los niveles normales, incluso respondiendo diferentes estadios de la progresión tumoral, relacionándola principalmente con metástasis tumoral (4).

- *Integrinas*

Son una familia de receptores de superficie celular. Estos receptores transmembrana están compuestos por 2 subunidades: alfa y beta. La expresión de la integrina α y β es inducida durante la génesis del tumor y la reparación epitelial.

Existen diversos estudios que demuestran que la integrina α y β se expresan en el carcinoma de células escamosas de la cavidad oral.

En un estudio realizado por Hamidi y cols., el 41% de las leucoplasias expresaban la integrina α y β , que podía estar asociada a procesos de reparación epitelial, inflamación o transformación maligna. La expresión de esta integrina parece ser necesaria, pero no suficiente para que se produzca dicha transformación (36).

- *Caderinas y caterinas*

Su función principal es el mantenimiento de la polaridad y la arquitectura tisular. La expresión de estas moléculas es inversamente proporcional a la diferenciación tumoral. (36) También se asocia a la progresión, proliferación y metástasis (37).

MARCADORES CELULARES DE SUPERFICIE

- *Carbohidratos.*

Un aumento del complejo mucínico en la superficie celular se relaciona con un aumento del grado de displasia (6,36).

- *HLA*

Las moléculas HLA clase I, señalan los autores, son glicoproteínas polimórficas transmembrana que se expresan en forma constitutiva en casi todas las células nucleadas.

Una de las razones esenciales que permitiría explicar los hallazgos desalentadores se refiere a la posibilidad de que las células neoplásicas evadan los mecanismos inmunes de defensa destinados a su destrucción. Este escape puede atribuirse a pérdida de AAT, defectos en la expresión de antígenos de clase I del sistema mayor de histocompatibilidad (HLA-A, HLA-B y HLA-C), alteraciones en el procesamiento de los antígenos, ausencia de señales accesorias de estimulación y producción de señales inmunosupresoras por las células tumorales. Cualquiera de los mecanismos comentados hace que las células malignas dejen de ser susceptibles a la destrucción mediada por mecanismos inmunológicos.

La transformación celular maligna se acompaña con frecuencia de alteración en la expresión y función de antígenos HLA de clase I. Así, las células malignas se tornan resistentes a los mecanismos de citotoxicidad.

El desarrollo de anticuerpos monoclonales antiHLA clase I facilitó enormemente la comprensión de los mecanismos de presentación antigénica y destrucción celular. Actualmente se emplean múltiples anticuerpos monoclonales para determinar el fenotipo HLA de las células neoplásicas (57).

- *Antígeno CD57.*

Se encuentra en la membrana de las células linfoides y neurales. En leucoplasias orales con displasia moderada o severa existe un aumento del porcentaje de linfocitos CD57, respecto a los tejidos normales (6,36).

MARCADORES INTRACELULARES

- *Cyfra 21-1*

Es un fragmento soluble de la citoqueratina 19 (CK19), la cual es un componente de la proteína del citoesqueleto con un peso molecular de 40 kDa, es una citoqueratina de tipo ácido con un pH isoelectrónico de 5.2. Sheard reportó una elevación de Cyfra 21-1 extracelular concomitantemente con un aumento significativo de Cyfra 21-1 intracelular durante la apoptosis; además, la muerte celular independiente de caspasas se da en presencia de la Z-VAD inhibidor de las caspasas, el cual no permite medir la Cyfra21-1.

Por lo tanto, la liberación de Cyfra 21-1 se ha sugerido que se produce en las células durante la etapa intermedia de la apoptosis, como consecuencia de la activación de las caspasas y el consecuente aumento extracelular. Según Zhong un aumento en la concentración de Cyfra 21-1 en saliva es un valor clínico potencial para la detección del cáncer oral, así como la predicción de la recurrencia del tumor. Sin embargo, la determinación de la concentración de Cyfra 21-1 en saliva en los pacientes con cáncer oral no es de gran alcance para predicción de la supervivencia (4).

- *Citoqueratinas*

Son estructuras proteicas de las células epiteliales. Existen 19 citoqueratinas, que se dividen en 2 subfamilias. Los cambios en la expresión de estas proteínas no se pueden considerar predictores del desarrollo de displasia. La malignización de las lesiones orales se asocia con la desaparición de las citoqueratinas. Se ha visto que la expresión de CK19 en la capa de células suprabasal de la mucosa oral puede utilizarse como marcador diagnóstico de lesiones precancerosas orales.

Y la expresión de CK19 se ha localizado en las fases iniciales de la carcinogénesis (36).

MARCADORES DE QUERATINIZACIÓN ANÓMALA

- *Filagrinas*

Son proteínas ricas en histidina, que se encuentran en las capas granular y cornea del epitelio normal. Son responsables de la agregación de queratina entre los filamentos, en los estadios finales de la diferenciación de los queratinocitos.

En las leucoplasias orales las filagrinas aparecen en el estrato corneo y en los carcinomas bucales forman perlas de queratina.

Se supone que su expresión es independiente del grado de atipia histológica (36).

- *Involucrina*

Es un producto de diferenciación de los queratinocitos y se piensa que su expresión es independiente de la agresividad tumoral o de la atipia histológica (36).

- *Proteínas desmosomales*

Constituyen un complejo. En un estudio realizado sobre la glicoproteína desmosomal 1 se observó que su expresión estaba muy reducida en tumores primarios poco diferenciados y cuando existían metástasis en ganglios linfáticos cervicales (36).

- *Antígeno de la sustancia intercelular*

Se encuentra parcial o totalmente ausente en el 92% de las leucoplasias orales con displasia y en un 26 % de las leucoplasias sin displasia. La pérdida de expresión de este antígeno se observa en el 95 % de los carcinomas bucales (36).

PRODUCTOS DEL ÁCIDO ARAQUIDÓNICO

- *Araquidonato 5-lipoxigenasa*

Araquidonato 5-lipoxigenasa también conocido como 5-lipoxigenasa o de 5-LO es una enzima que en los humanos está codificada por el gen ALOX5. Araquidonato 5-lipoxigenasa es un miembro de la familia de las enzimas lipoxigenasa. Se transforma en leucotrienos y ácidos grasos esenciales es un objetivo actual para la intervención farmacéutica en un número de enfermedades.

Los metabolitos de la lipoxigenasa, incluyendo la prostaglandina E2, el ácido hidroxieicosatetraenoico y el leucotrieno B₄, se encuentran incrementados en el carcinoma escamoso bucal. Sin embargo, no se ha profundizado en el estudio del papel que desempeñan en la potencialidad de malignización (46).

ENZIMAS

- *LDH (Lactato deshidrogenasa)*

La LDH es una enzima detectable en el citoplasma de casi todas las células del ser humano, que se convierte extracelular después de la muerte celular. Por lo tanto, su presencia extracelular está siempre relacionada con la necrosis celular y lesión tisular. La similitud entre el perfil de isoformas de la LDH en toda la saliva y el epitelio oral apoya la hipótesis de que la LDH salival es predominantemente de origen extraglandular, por consiguiente, la concentración de LDH en la saliva, como una expresión de necrosis celular, podría ser un indicador específico para las lesiones orales que afectan la integridad de la mucosa bucal.

La LDH generalmente se encuentra aumentada en varias afecciones orales como la enfermedad periodontal, procesos traumáticos y el cáncer bucal, en este último ha sido asociada a un pronóstico desfavorable y la recurrencia de las lesiones.

Las isoformas de la LDH más predominante en saliva son la LDH-4 y la LDH-5, del mismo modo autores aseguran que sus niveles son similares en plasma; teniendo en cuenta esto la LDH es considerada como un biomarcador inespecífico para el cáncer bucal debido a que se puede encontrar aumentada por diversos procesos que ocurren en la cavidad bucal (4).

- *GST (Glutation S-transferasa)*

Pertenecen a una familia de enzimas de gran importancia en mecanismos de desintoxicación celular, eliminando xenobióticos o sustancias nocivas para las células.

Está implicada en el desarrollo de resistencia de tumores frente diversos fármacos anticancerígenos. Se ha observado que la expresión de hGST P1-1 es elevada en algunos tumores humanos como cánceres de pulmón, colon, ovario, testículos, vejiga, bucal y riñón. Por tanto el uso de inhibidores específicos de la enzima podría potenciar la eficacia de la quimioterapia sobre tumores resistentes a drogas anticancerígenas (58).

TÉCNICAS MOLECULARES

En la actualidad existen numerosas técnicas para el estudio de las alteraciones producidas en el cáncer o en las alteraciones de la mucosa bucal potencialmente malignas donde, se identifican los biomarcadores que pueden darnos algún dato de carcinogénesis.

Una de las técnicas más utilizadas son la PCR (Reacción en cadena de la polimerasa); que es un método enzimático de amplificación de secuencias específicas de ADN para obtener millones de copias mediante el ADN polimerasa, donde identifica la amplificación de genes, modificación de secuencias específicas de ADN, genotipificación, detección de mutaciones, marcadores genéticos y expresión de genes. Su ventaja es que el límite de detección es muy alto, sin embargo, requiere material genético bicatenario y técnicas de visualización; es semicuantitativa y presenta frecuentes falsos positivos por contaminación leve.

Otra técnica, que es nueva dentro de las técnicas tradicionales de la biología molecular es la técnica *Microarray* (microarreglos) que consiste en la miniaturización del proceso de hibridación para analizar un número elevado de muestras en un único experimento. Su aplicación es para monitorización de niveles de biomarcadores, detección de cambios en el material genético, determinación de dianas farmacológicas y evaluación de interacciones entre proteínas. Es una técnica cuantitativa sencilla, accesible de alta validez, reproducibilidad y sensibilidad.

Las alteraciones detectables mediante estas técnicas son la mutación, delección, amplificación, translocación y las modificaciones en la expresión génica o en el nivel de metilación.

Se han observado que los cambios en los patrones de metilación pueden aparecer dos años antes del desarrollo de un cáncer bucal, por lo que se ha propuesto utilizar estas modificaciones como biomarcadores para la detección y pronóstico de esta patología.

Otras técnicas como la Inmuno-histoquímica, que detecta moléculas mediante uniones específicas antígeno-anticuerpo. Localiza las proteínas específicas en tejidos o células.

Su ventaja es que se puede emplear en muestras congeladas o en formol, su desventaja es que es semicuantitativa.

E.L.I.S.A. que es un ensayo inmunoenzimático que puede ser directo e indirecto, cualitativo/cuantitativo/semicuantitativo. Su ventaja es que es sencillo, rápido, económico automatizable, y se pueden analizar varias muestras simultáneamente, la desventaja es que requiere técnicas de visualización de la reacción enzimática.

La citometría de flujo consiste en pasar las células por un fluido colocado bajo una fuente de luz que permite su visualización. Evalúa los marcadores, fenotípicos, ciclos celulares, apoptosis y recuento celular. Su ventaja es que es rápida, permite valorar el contenido total de ADN de una población celular, la desventaja es que requiere células en suspensión.

Otra mencionada nulamente es la técnica Western blot que funciona a partir de electroforesis en gel para separar proteínas según su peso molecular y realiza su detección mediante anticuerpos específicos. Examina cambios en niveles proteicos. Su ventaja es que es una técnica con alta sensibilidad y permite detectar las proteínas y su peso, su desventaja es que es una técnica semicuantitativa, poco específica, laboriosa y requiere técnicas de visualización (59).

Recientemente se han llevado a cabo investigaciones para detectar los marcadores moleculares mediante las técnicas antes descritas, cabe aclarar que no todos los marcadores han sido estudiados (Tabla 3).

Biomarcador	Técnica	Observaciones	Autor/año
Ciclina D1	ELISA	Aumenta, se relaciona con la progresión celular y mal pronóstico.	Shpitzer, 2009
Cyfra 21-1	ELISA	Está relacionada con la recurrencia.	Zhong, 2007
Endotelina-1	ELISA	Buen marcador para diagnosticar liquen plano.	Chong, 2011
Galectinas 1,3 y 7	Análisis inmunohistoquímico	Aumentada, relacionada con la progresión del tumor.	Alves, 2011
KI-67	ELISA	Aumentada, relacionada con la progresión celular y mal pronóstico.	Shpitzer, 2009
Lactato deshidrogenasa	Espectrofotometría	Indicador de necrosis celular, se relaciona con mal pronóstico y recurrencia.	Shpitzer, 2009
Metaloproteínasas 2 y 9	ELISA	Aumentada, relacionada con metástasis.	Shpitzer, 2007, 2009
p53	PCR	Su disminución se asocia a la capacidad de aberraciones celulares.	Liao, 2000

S100P	Western Blot	Se aumenta en el cáncer bucal, se relaciona con la progresión, metástasis y angiogénesis.	Dowling, 2008.
Telomerasa	PCR ELISA	Biomarcador de cáncer pero no diferencia estadio de la lesión.	Zhong, 2005.

Tabla 3. Biomarcadores y técnicas. Tomada de: López-Durán M, Campo-Trapero J, Cano-Sánchez J, Díez-Pérez R, Bascones-Martínez A. Aplicación de las técnicas de biología molecular en oncología oral. Av. Odontoestomatol 2010;26(4):189-196.

MARCADORES ESPECÍFICOS DE LAS ALTERACIONES DE LA MUCOSA BUCAL POTENCIALMENTE MALIGNAS

Actualmente, no existe un marcador específico que marque el inicio del proceso de malignización de las alteraciones de la mucosa bucal potencialmente malignas, sin embargo; la alteración con más estudios es la leucoplasia y se han identificado ciertos marcadores que están implicados en la transformación de la misma. (Tabla 4) (44,60,61,62,63,64).

Autor	Marcador	Descripción
Mutirangura et al, 1996 Leucoplasia	Telomerasa	Se activa en las fases tardías de las alteraciones de la mucosa bucal potencialmente malignas.
Garzino-Demo et al, 1998 Leucoplasia	Integrinas	La usencia de polarización restrictiva a nivel basal de integrina $\alpha 6$, puede asociarse a estadios iniciales de enfermedad, pero NO se puede considerar como marcador específico de malignidad en cavidad bucal.
Lui et al, 1998 Leucoplasia	Ki-67	El estrato superficial del epitelio bucal muestra un incremento de actividad proliferativa, de forma más marcada en Leucoplasia Bucal con displasia severa.

Hamidi et al, 2000 Leucoplasia	Integrinas	La expresión de la integrina $\alpha 5\beta 1$ podría asociarse a transformación maligna de leucoplasia bucal.
Iwasa et al, 2001 Leucoplasia	p53, AgNOR	La proporción de lesiones que dan positivo para p53 y los parámetros de AgNOR, se van incrementando conforme se produce la alteración epitelial desde hiperplasia hasta displasia moderada y severa.
Chattopadhyay et al, 2002 Leucoplasia	AgNOR	La media de sus valores aumenta gradualmente desde un epitelio normal hasta un epitelio con displasia en leucoplasia y cáncer.
Kövesi et al, 2003 Leucoplasia	ki-67 y p53	El aumento de apoptosis y de los valores de ki-67 podría indicar un diagnóstico desfavorable en leucoplasia.
Cervigne et al, 2009 Leucoplasia	microRNA***	La sobreexpresión de los miR-21, 181b y miR-345 es potencialmente útil en la identificación de leucoplasias con riesgo de transformación maligna.

Caldeira et al, 2011 Leucoplasia	Inmunoexpresión de p53 y el número de AgNOR	La alteración en su patrón de inmunoexpresión parece asociarse con la expresión temprana de carcinogénesis bucal.
Bremmer et al, 2011 Leucoplasia	Ploidia	El ADN anaploide en las leucoplasias se asocia a mayor riesgo y a progresión a cáncer, pero su valor como biomarcador en LO es limitado.
González, 2007 Liquen Plano	p53	Se ha demostrado una frecuente activación del sistema p53 y por la falta de asociación con los marcadores de apoptosis
Rocabert Queilitis actínica	p53, cadherina, ki-67 y bcl-2	Expresa altos niveles de p53, bajos niveles de E-cadherina, inmunomarcación intensa de ki-67, p53 y bcl-2, que indican probable progresión a neoplasia.
Nieves et al, 2014	Citoqueratinas	Los carcinomas de células escamosas expresan CK14, CK19 es detectada en el epitelio cerca de carcinomas escamosos, lo que lo sugiere como un agente biológico fundamental de progresión maligna.

<p>Santos, 2005 Leucoplasia</p>	<p>ki-67 y p53</p>	<p>La expresión de ki-67 ha sido tomada como un buen marcador de proliferación celular de lesiones premalignas y permite conocer con mayor certeza el grado de displasia. p53 es una de las alteraciones que inician el crecimiento de células preneoplásicas que proliferan en las lesiones.</p>
<p>Werkmeister</p>	<p>EGFR</p>	<p>Su sobreexpresión del oncogen erbB-2 indica que la lesión puede producir un proceso de carcinogénesis.</p>
<p>Pérez, 2004</p>	<p>AgNOR</p>	<p>Revelan cambios en la actividad de síntesis de proteínas que es una característica de las células malignas, por ello se considera como marcador de riesgo de malignidad.</p>

Tabla 4. Autores y marcadores moleculares.

PREVENCIÓN

A los profesionales de la salud les corresponde, además de realizar tratamiento odontológico, la educación para la salud de los pacientes, es decir dar a conocer los factores de riesgo y las recomendaciones necesarias para prevenir el Cáncer bucal.

En México, la Secretaría de Salud, a través del Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de las Enfermedades, edito un manual de contenidos educativos, en el que desde edades tempranas mediante programas de salud bucal se da a conocer información preventiva y señales de alerta en la población escolar con el fin de que se tenga conocimiento de los factores de riesgo para presentar cáncer bucal y la identificación de posibles lesiones premalignas mediante un autoexamen realizado frente a un espejo, observando y palpando labios (interno y externo), dientes y encías, cara interna de las mejillas, lengua, piso de la boca y paladar. Se recomienda, además, que al localizar ulceraciones, agrandamientos con cambio de coloración, dolor, ardor o dificultad para mover la lengua se debe acudir de manera inmediata al odontólogo (13).

El uso de marcadores moleculares para el diagnóstico precoz del Cáncer, respecto a las alteraciones potencialmente malignas, como ya había sido mencionado antes, es de vital importancia para atacar a la enfermedad en su estadio más temprano, y con ello comenzar a prevenir la evolución de la enfermedad, de tal modo que no se vea comprometida la vida del paciente. Son técnicas complementarias a las básicas como la citología y la biopsia, pero que tienen un gran futuro como elementos de diagnóstico más específico.

El factor clave en la falta de mejora del pronóstico a través de los años es el hecho de que una significativa proporción del carcinoma bucal no es diagnosticado o tratado hasta que llegan a una etapa avanzada. Este retraso en el diagnóstico no solo es por el paciente, también por el profesional de la salud que no investiga las lesiones y se le suma que estas son asintomáticas.

Además el diagnóstico precoz o temprano aumenta la calidad de vida ya que no son necesarios tratamientos agresivos como los usados en lesiones avanzadas (34).

V. CONCLUSIONES

Es importante tomar en cuenta que la prevención de la transformación de las alteraciones potencialmente malignas en su inicio es vital, no solo para realizar tratamientos más conservadores, sino para darle al paciente una mejor calidad de vida después de controlar la enfermedad, esto no solo aplica a cáncer bucal ya que la mayor parte de los cánceres son controlados cuando se realiza un diagnóstico precoz o temprano.

Recordemos que para que se produzca esta transformación se necesitan varias alteraciones no solo genéticas, sino también epigenéticas que no llevan a un cambio de malignidad, si no que condicionan el entorno de la célula con las alteraciones y la hace más propensa a sufrir este cambio.

Aunque la evidencia científica tenga muy pocos estudios acerca del uso de los marcadores moleculares como un auxiliares en el diagnóstico precoz de las alteraciones potencialmente malignas, no significa que este limitado, sino que tiene un amplio campo que desarrollar y estudiar.

Los marcadores son una tecnología que puede utilizarse combinada con las técnicas que son básicas en el diagnóstico de cáncer bucal (Biopsia y citología) e incluso utilizarlas con otro elemento existente en la boca, que es la saliva.

La obtención de la muestra mediante la saliva no causa molestia ni dolor al paciente y funciona de una manera efectiva, no hay necesidad de raspar la mucosa ya que la exfoliación natural del epitelio se encuentra inmersa en este fluido.

Dentro de todos los marcadores que se asocian al cáncer bucal existen pocos, que han sido asociados al proceso de transformación de las alteraciones potencialmente malignas, en el caso específico de la leucoplasia que es la alteración más frecuente y con mayor número de estudios para identificar los marcadores involucrados dentro de esta transformación.

El primero en nombrar el p53, que se presenta en la mayoría de las leucoplasias y liquen plano, la importancia de este marcador es su función dentro del ciclo donde identifica las aberraciones en el ADN y por ello detiene el ciclo celular evitando la reproducción de células con alteraciones y hace que el ADN repare el daño, si no sucede esto, manda a la célula a apoptosis para que no forme una alteración en el epitelio.

Es un gen supresor tumoral que al sufrir una alteración por algún factor físico, químico o biológico pierde su función.

El siguiente es ki-67 que también es frecuente en las leucoplasias, su alteración produce una proliferación celular descontrolada en las alteraciones potencialmente malignas y define con mayor certeza el grado de displasia del epitelio.

El marcador AgNOR expresa un aumento conforme pasa de hiperplasia a displasia, se ha encontrado que se asocia con la expresión temprana de la carcinogénesis y por ello puede ser útil como marcador de malignización de las alteraciones potencialmente malignas.

Las citoqueratinas en específico la CK19 que suele no expresarse en la cancerización y CK14 se encuentra cerca de los carcinomas escamosos y es un factor biológico para la progresión a malignidad.

El Bcl-2 que es un marcador de proliferación celular, en el caso de la queilitis actínica puede marcar un progreso a malignización.

En el caso de las integrinas a y b, su falta de expresión se asocia a estados iniciales de la enfermedad, sin embargo no se usa como marcador específico de malignidad.

En el caso de las alteraciones de la mucosa como la fibrosis submucosa, lesiones por hábito tabáquico y eritroplasia no existe evidencia que describa marcadores específicos de estas, sin embargo la mayoría de las alteraciones se relacionan con p53.

Los marcadores que no fueron encontrados en los estudios revisados, que son la mayoría de los descritos en el apartado de marcadores moleculares también juegan un papel muy importante en etapas tardías del proceso de cancerización e incluso en un cáncer clínicamente franco y por esta razón no significa que jamás aparecerán en etapas tempranas de dicho proceso.

Aunque no exista algún marcador específico para detectar el proceso inicial de cancerización de las alteraciones potencialmente malignas, si podemos emplear alguno de los encontrados en los estudios, para identificar aquella alteración de la mucosa sospechosa la cual, mediante la historia clínica y la identificación de factores de riesgo es más propensa a convertirse en cáncer bucal.

Nuestra labor como odontólogos de primer contacto es tener el conocimiento y la habilidad para identificar estas alteraciones sospechosas y realizar técnicas que pueden ser empleadas en el consultorio, como el azul de toluidina y de esta forma estar seguros de nuestra sospecha y diagnóstico para referir al paciente de manera oportuna y de esta forma le sean aplicados estudios de rutina y estudios más específicos como la aplicación de técnicas moleculares para detectar, diagnosticar y tratar de una forma correcta al paciente.

Cabe mencionar que la complejidad de estas nuevas técnicas moleculares son utilizadas en niveles terciarios de atención a la salud (nivel hospitalario) ya que necesitan de aparatos y técnicas específicas para poder aplicarse de manera correcta y segura al paciente, con ello aseguramos una atención más completa y un tratamiento efectivo que ayude a controlar esta enfermedad que está siendo cada vez más frecuente entre la población y que llega a ser mortal.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cuevas CB. Identificación de factores y marcadores de riesgo para cáncer oral. [Tesis de Maestría]. Xalapa Enriquez; 2008.
2. Gallegos-Hernández JF. Cáncer de la cavidad oral. Un reto para la salud de la población mexicana en la próxima década. GAMO 2012;11(2):65-67.
3. Warnakulasuriya S. Diagnóstico precoz del cáncer oral. Retraso diagnóstico. Rendimiento de nuevas herramientas diagnósticas. RCOE 2013;18(2):113-114.
4. Madera AM. Biomarcadores de cáncer oral en saliva. Av Odontoestomatol 2013;29(6):293-302.
5. Devi DS. Salivary biomarkers. A review. J.Pharm.Sci&Res 2013;5(10):210-212.
6. Rebolledo CM, Harrys RJ, Rincón OJ. Diagnóstico y marcadores moleculares del potencial maligno de la leucoplasia oral: una revisión. Revista Nacional de Odontología 2012;8(15):95-101.
7. De la Fuente HJ, Muñoz MP, Patrón BC, Ramírez TM, Rojas MH, Acosta TL. Aumento de la incidencia de carcinoma oral de células escamosas. Salud(i)Ciencia20 2014: 636-642.
8. Argiles HJ, López-Soriano F, El cáncer y su prevención. Vol1. Barcelona, España: Univ de Barcelona;1998.
9. De la Garza SJ, Juárez SP. El cáncer. Monterrey, México: Universidad Autónoma de Nuevo León; 2014.
10. OMS. Cáncer. [Internet][Citado el 10 de diciembre de 2014] Disponible en: <http://www.who.int/topics/cancer/es>
11. Muñoz A. Cáncer: genes y nuevas terapias. 2a ed. Madrid, España: Editorial Hélice;1997.
12. Sachin CS, Gargi SS, Jagdish VT. Oral potentially malignant disorders: A proposal for terminology and definition with review of literatura. J Oral Maxillofac Pathol 2014;18(1):77-80.

13. De la Rosa GE, Anaya SG, Godoy RL. Manual para la detección de alteraciones de la mucosa bucal potencialmente malignas. Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades. México, DF. 2004.
14. Van der Waal I. Potentially malignant disorders of the oral and oropharyngeal mucosa; terminology, classification and present concepts of management. *Oral Oncol* 2008;45(4-5):317-23.
15. Saap PJ, Eversole LR, Wysocki GP. Patología oral y maxilofacial contemporánea. 2a ed. Elsevier España, 2005. Pp. 184-193.
16. Fernández CS et al. Perfil epidemiológico de los tumores malignos en México. Secretaría de Salud. Subsecretaría de prevención y promoción de la salud. Dirección general de epidemiología. México, DF. 2011. Pp 42.
17. Aguas SC, Lanfranchi TH. Lesiones premalignas o cancerizables de la cavidad oral. *Revista de la Facultad de Odontología (UBA)* 2004;19(47):21-30.
18. García GV. Expresión de antígenos sanguíneos y proteínas de choque térmico en el carcinoma oral de células escamosas, lesiones potencialmente malignas y mucosa control. [Tesis de Doctorado] Madrid, España; 2012.
19. Blanco CA, Otero REM, Peñaranda-Mallón M, Blanco-Carrión A. Desórdenes orales potencialmente malignos. Manifestaciones clínicas. *RCOE* 2013; 18(2):101-110.
20. Baladé MD, Llamas MS, Cerero LR, Esparza GG. Las lesiones blancas de la mucosa en el ámbito del precáncer oral. *RCOE* 2009;14(2): 179-197.
21. Suñe A. Desórdenes potencialmente malignos de cavidad oral. [Tesis de Posgrado] Argentina; 2014.
22. Santana GJ. Atlas de patología del complejo bucal. 2ª. Ed. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2010. Pp301.
23. González LB. Diagnóstico de lesiones premalignas y cáncer bucal. Toluca, México: UAEM; 1994.
24. Thoma KH. Patología oral. España: Editoriales Salvat; 1973.
25. Martín CM, Civetta JD. Carcinogénesis. *Salud Publica Mex* 2001;53:405-414.
26. Valdespino-Gómez VM, Valdespino-Castillo VE. Iniciación y progresión del cáncer: un sistema biológico. *GAMO* 2011;10(6):358-365.
27. Quezada RM. El ciclo celular, sus alteraciones en el cáncer y como es regulado en células troncales embrionarias. *ContactoS* 2007; 65:5-12.

28. Rodríguez FL, Hernández BE, Reyes EJ. Ciclo celular: características, regulación e importancia en el cáncer. *Biotecnología Aplicada* 2004;21(2):60-69.
29. Diniz-Freitas M, García-García A, Crespo-Abelleria A, Martins-Carneiro JL, Gándara-Rey JM. Aplicaciones de la citología exfoliativa en el diagnóstico del cáncer oral. *Med Oral* 2004;9:355-61.
30. Brunotto MN. Revisión sistémica sobre factores de riesgo genotípico de desórdenes potencialmente malignos bucales y cáncer bucal. [Tesis de Maestría] Escuela de Salud Pública-Facultad de Ciencias Médicas-Universidad Nacional de Córdoba; 2013.
31. Barbany JR. Cáncer oral. Métodos de diagnóstico (*screening*) rápido en la consulta odontológica. *Av. Odontoestomatol* 2008;24(1):123-128.
32. Seoane JM, González-Mosquera A, Velo-Noya J. La biopsia oral en el contexto del precáncer y del cáncer oral. *Av. Odontoestomatol* 2008;24(1):89-96.
33. Acha A, Ruesga MT, Rodríguez MJ, Martínez de Pancorbo MA, Aguirre JM. Applications of the oral scraped (exfoliative) cytology in oral cancer and precancer. *Med Oral Pathol Oral Cir Bucal* 2005;10:95-102.
34. Mehrotra R, Gupta A, Singh M, Ibrahim R. Application of cytology and molecular biology in diagnosing premalignant or malignant oral lesions. *Mol Cancer* 2006;5(11):1-10.
35. Markopoulos AK, Michailidou EZ, Tzimagiorgis G. Salivary markers for oral cancer detection. *The Open Dentistry Journal* 2010;4:172-178.
36. Chimenos-Küstner E, Font-Costa I, López-López J. Oral cancer risk and molecular markers. *Med Oral Pathol Oral Cir Bucal* 2004;9:377-384.
37. Nakamura RM, Wu JT, Nagle RB. *Cancer diagnostics: Current and future trends*. Totowq-New Jersey: Humana Press; 2004.
38. Cottliar AS, Slavutsky IR. Telomeros y actividad de la telomerasa: su participación en el envejecimiento y desarrollo neoplásico. *Medicina (Buenos Aires)* 2001;61(3):435-441.
39. Ferrero HE, García VA, Labalde MM, Diéguez CG, Hidalgo PM. Efecto de la Endotelina-1 sobre las arterias tumorales de pacientes con neoplasia colorrectal. *Rev Esp Enferm Dig (Madrid)* 2008;100(6):327-331.

40. Arévalo F, Arias SC, Monge E. Inmunoexpresión de p53 y ciclina D1 en adenomas de vesícula biliar. *Rev Esp Enferm Dig* 2007;99(12):694-697.
41. García GV, González-Moles MA, Bascones MA. Expresión de bcl-2, ki-67 y caspasa 3 en lesiones cancerosas e la mucosa oral. Resultados preliminares. *Av. Oodntoestomatol* 2006;22(5):263-269.
42. García-Montesinos-Perea B, Val-Bernal JF, Saiz-Bustillo R. Epidermoid carcinoma of the lip: An immunohistochemical study. *Med Oral Pathol Oral Cir Bucal* 2005;10:454-461.
43. Rabinovich GA, Rubinstein N. Galectinas: una nueva familia de proteínas involucradas en la regulación de la respuesta inmune. *Medicina (Buenos Aires)* 2001;61:85-92.
44. Pérez MA, Itoiz ME. Marcadores histoquímicos de cancerización de campo en la mucosa bucal. *Revista de la Facultad de Oodntología (UBA)* 2004;19(47):9-13.
45. Salamanca-Gómez F. Células troncales, cáncer y p53. *Gac{ Méd Méx* 2009;145(5):441-442.
46. Gelmann EP, Sawyers CL, Rauscher FJ, *Molecular Oncology*. Cambridge University Press;2014.
47. Mesa-Junco J, Montañó-Loza A, Aguayo-González A. Bases moleculares del cáncer. *RIC* 2006;58(1):56-70.
48. Ruiz AA, Rivero SJ, Peña AA, Pinar SB, Hernández MA, Lara J. Cáncer de cabeza y cuello. *Biocáncer [Revista en formato electrónico]* 2004 [Citado el 10 de diciembre de 2014] Disponible en:
<http://www.biocancer.com/journal/210/cancer-de-cabeza-y-cuello>
49. Baudo JE. Diagnóstico del carcinoma escamoso de la mucosa bucal. Cinco casos clínicos. *Av. Oodntoestomatol* 2005;21(4):203-209.
50. Chemes LB. La proteína supresora de tumores Retinoblastoma. Caracterización de su dominio AB Y mecanismo de interacción con la oncoproteína E7 del virus del papiloma humano. [Tesis de Doctorado]. Buenos Aires: Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales; 2010.

51. Cerqueira EA. Implicación de las quinasas dependientes de ciclinas en el ciclo celular y respuesta frente al daño al ADN. [Tesis Doctoral] Madrid: Universidad Autónoma de Madrid; 2009.
52. González-Pachecho FR, Castilla MA, Álvarez-Arrollo MV, Deudero JJ, De Solís AJ, Yagüe S, et al. Papel del factor de crecimiento endotelial vascular en la protección de las células endoteliales. *Nefrología* 2004;24(1):6-7.
53. Sánchez N, Ortiz R, Solórzano E, Urdaneta L. Influencia del óxido nítrico en patologías bucales. *Acta Bioclínica* 2011;1(1):1-12.
54. Morales C, Zurita M, Olivares C, Zurita I, Vaquero J. Inhibición farmacológica del factor de crecimiento fibroblástico básico (FCFb) en un modelo experimental de tumor neuroectodérmico. *Neurocirugía* 2000;11:373-376.
55. Cascales AM, Álvarez-Gómez JA. Metaloproteínas, matriz extracelular y cáncer. *An R Acad Nac Farm* 2010;76(1):59-84.
56. S/A. Bioquímica y aplicación clínica de la proteína S100. *Revista Bioanálisis*. [Internet]. 2014 [Citado el 9 de noviembre de 2014]. 1(1):1-2. Disponible en: <http://revistabioanalisis.com.ar/arxius/notas/bioquimicaproteinas.pdf>
57. Hicklin DJ, Ferrone S. Pérdida de antígenos de Histocompatibilidad clase I y cáncer. *Science and Medicine* 2002;111(4):87-92.
58. Ortiz SE, Lo Bello M, García FL. Glutathion S-Transferasa P1-1 humana y Glutathion reducido; estudio termodinámico de su interacción. [Internet] [Citado el 9 de noviembre de 2014]. Disponible en: http://campus.usal.es/quimfis/resumen/Emilia_Ortiz.pdf
59. López-Durán M, Campo-Trapero J, Cano-Sánchez J, Díez-Pérez R, Bascones-Martínez A. Aplicación de las técnicas de biología molecular en oncología oral. *Av. Odontoestomatol* 2010;26(4):189-196.
60. Santos GA, Abad HM, Fonseca SE, Cruz HJ, Bullón SA. P53 and proliferation in oral leucoplakia. *Oral Medicine and Pathology* 2005;10:1-8.
61. Nieves S, Apellaniz D, Tapia G, Maglia A, Mosqueda-Taylor A, Bologna-Molina R. Citoqueratinas 14 y 19 en quistes y tumores de origen odontogénico. Una revisión. *Odontoestomatología* 2014;16(24):45-55.

62. Berga MC. Marcadores salivales en lesiones potencialmente malignas de la cavidad oral y en carcinoma oral de células escamosas. [Internet] 2013-2014 [Citado el 03 de mayo de 2015]

Disponible en:

<http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/81304/sarrion.pdf;jsessionid=0F0CEAF11DB36081760AC2EBE35CF6E5.tdx1?sequence=1>

63. González MM. Mecanismos reguladores del ciclo celular en el liquen plano oral. Posibles bases moleculares en un epitelio predispuesto a la transformación maligna. Av. Odontoestomatol 2007;23(5): 225-235.

64. Rocabert MD. Queratosis actínica. Revisión. [Internet] [Citado el 03 de mayo de 2015]. Disponible en:

<http://www.postgradofcm.edu.ar/ProduccionCientifica/TrabajosCientificos/44.pdf>