



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

BIOMARCADORES DE CARCINOMA DE CÉLULAS
ESCAMOSAS DE LA CAVIDAD ORAL

TESINA

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

CIRUJANA DENTISTA

P R E S E N T A:

LESLY VIRIDIANA AGUILAR MARTÍNEZ

TUTORA: Dra. SILVIA MALDONADO FRÍAS

CD.MX.

2021



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

1.	INTRODUCCIÓN	9
2.	OBJETIVOS	10
3.	BIOMARCADORES	11
	3.1 Generalidades	11
	3.2 Descubrimiento y desarrollo	12
	3.3 Criterios de validación	13
	3.4 Definición y clasificación	15
4.	BIOMARCADORES EN CÁNCER ORAL DE CÉLULAS ESCAMOSAS	20
	4.1 . Generalidades y marcadores tumorales	20
	4.2 Marcadores de supresión tumoral y de respuesta antitumoral	25
	4.3 Marcadores de crecimiento tumoral	27
	4.4 Marcadores de angiogénesis	29
	4.5 Marcadores de invasión tumoral y potencial metastásico	30
	4.6 Marcadores tumorales independientes	32
5.	BIOMARCADORES SALIVALES Y NUEVOS BLANCO MOLECULARES EN COCE	37
	5.1 Análisis salival para biomarcadores	37
	5.2 Marcadores salivales y sus técnicas de análisis	37
	5.3 MicroRNAs (miRNAs) nuevos marcadores tumorales	43
6.	CONCLUSIÓN	46
7.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47



ÍNDICE DE FIGURAS

Fig.- 1 Marco para el desarrollo de biomarcadores.	13
Fig.- 2 Pasos en el marco de la evaluación de biomarcadores.	14
Fig.- 3 Biogénesis del micro-ARN.	43

ÍNDICE DE IMÁGENES

Img.- 1 Leucoplasia en suelo de boca.	21
Img.- 2 Lesión en mucosa yugal.	22
Img.- 3 Lesión eritematosa en borde lateral de la lengua.	22
Img.- 4 Tinciones de CD97 en diferentes pacientes.	28
Img.- 5 Tinciones inmunohistoquímica para la expresión del TROP2.	33

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla.- 1 Las MMPs durante la progresión del cáncer.	31
Tabla.- 2 Biomarcadores salivales y técnicas empleadas para su análisis.	39
Tabla.- 3 Posibles biomarcadores de COCE en saliva.	40

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro.- 1 Usos clínicos de marcadores tumorales.	23
Cuadro.- 2 Biomarcadores asociados con la clasificación histopatológica de COCE.	33



ABREVIATURAS

ADN. Ácido desoxirribonucleico.

ARN. Ácido ribonucleico.

AGO2. Del inglés Protein argonaute-2- proteína argonauta-2.

BEST. Del inglés Biomakers, endpoints, and others tools - biomarcadores, de punto final y otras herramientas.

BRCA. Del inglés BReast CAncer -Cáncer de mama.

BQP. Del inglés Biomarker Qualification Program - programa de calificación de biomarcadores.

CD. Células dendríticas.

CDER. Del inglés Center for drug evaluation and research - centro de evaluación e investigación de medicamentos.

CDK. Quinasas dependientes de ciclinas.

CDKIs. Inhibidores de ciclinas dependientes de quinasas.

CK. Citoqueratinas.

CPAs. Células presentadoras de antígeno de superficie.

COCE. Carcinoma oral de células escamosas.

COL3A1. Gen alfa1 de colágeno tipo III.

CYP27A1. Del inglés cytochrome p450 family27 subfamily A member1.

INK4.- Del inglés Inhibitors of CDK4- inhibidores de CDK4

EGF. Factor de crecimiento epidérmico.

EGF-R. Factor receptor de crecimiento epidérmico.

ELISA. Del inglés Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay- ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas.

ET-1. Endotelina-1.

EV. Vesículas extracelulares.

FDA. Del inglés Food and Drug Administration - Administración de medicamentos y alimentos.



HER. Receptor epidérmico humano.

HIF-1alfa. Factor de hipoxia 1 alfa.

HPLC. Del inglés High performance liquid chromatography- cromatografía líquida de alta resolución.

HSP. Proteína de choque térmico.

IL. Interleucinas.

hTERT. Telomerasa transcriptasa inversa humana.

INR. Cociente internacional normalizado.

kDA. Kilodalton.

LC. Del inglés liquid chromatograph- cromatógrafo de líquidos.

LDH. Lactato deshidrogenasa.

MAGE-A12. Del inglés Melanoma associated-antigen12- antígeno 12 asociado a melanoma.

MALDI-MS. Del inglés Matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry- espectrometría de masas desorción/ionización laser asistida por matriz.

MAOB. Del inglés Monoamine Oxidase B- Monoamino oxidasa B.

MiARN. Micro-Ácido Ribonucleico.

MMP. Metaloproteínas de Matriz.

MS. Del inglés mass spectrometer- espectrómetro de masas.

NAB2. Del inglés NGFI-A-binding protein 2- proteína 2 de unión NGFI-A.

NIH. Del inglés National Institutes of Health- Institutos Nacionales de Salud



NPIP4. Del inglés Nuclear pore complex interacting protein family member B4- Miembro de la familia de proteínas que interactúan con el complejo de poros nucleares B4.

PCR. Del inglés polymerase chain reaction- reacción en cadena de la polimerasa.

PD-ECGF. Factor de crecimiento de células endoteliales derivado de plaquetas.

PRB. Proteína de retinoblastoma.

RB.- Retinoblastoma

RISC. Del inglés RNA-interference silencing complex- complejo de silenciamiento inducido por ARN.

RHAMM. Del inglés Receptor for Hyaluronan Mediated Motility- receptor de motilidad mediado por hialuronato.

RT-PCR. Del inglés Reverse transcription polymerase chain reaction- reacción en cadena de la polimerasa transcriptasa inversa.

SIAE. Del inglés Sialic Acid Acetylase- acetilasa del ácido siálico.

TNF-R. Receptor del factor de necrosis tumoral.

TP. Tiempo de trombina.

TRFIA. Del inglés time-resolved fluoroimmunoassay- fluoroinmunoensayo de resolución temporal.

TROP. Trofoblasto.

VEGE/VEGF-R. Factor de crecimiento endotelial vascular/receptor.

VP. Virus del papiloma humano.



GLOSARIO

Angiogénesis.- Proceso en el cual se desarrollan nuevos vasos sanguíneos a partir de una red vascular existente, requiere de activación de receptores de superficie de células endoteliales. (23)

Antiangiogénico.- Nombre dado a los fármacos especializados en evitar la angiogénesis tumoral. (23)

Apoptosis.- Tipo de muerte celular en la que una serie de procesos moleculares en la célula conduce a su muerte. (12)

Biomarcador.- Característica que es medida y evaluada objetivamente como un indicador de procesos biológicos normales, procesos patogénicos o respuestas farmacológicas a una intervención terapéutica.

Biopsia.- Toma de muestra de células o tejido para ser examinados. (12)

Carcinogénesis.- Proceso por el cual las células normales se transforman en células cancerosas. (12)

Carcinoma in situ.- Nombre dado a la forma más temprana de cáncer, este no ha roto la capa basal, encontrándose solamente en epitelio. (12)

Displasia.- Afección precancerosa. Estas se clasifican como leve moderada o severa, dependiendo de cuan anormal se vea el tejido en el microscopio. (12)

Epitelio.- Capa delgada de tejido que cubre los órganos, glándulas y otras estructuras internas del cuerpo. (12)

Eritroplasia.- Término que se usa para describir cierto tipo de cambios en tejido, esta es un área roja plana o levemente elevada que, al ser raspada, suele sangrar con facilidad. (12).

Eritroleucoplásia.- Área que presenta manchas rojas y blancas.



Exofítica.- Es una lesión sólida, circunscrita, que hace relieve franco sobre de la mucosa oral normal detectable a la inspección y a la exploración, y generalmente es de consistencia blanda, elástica o duroelástica. (43)

Genómica.- Estudio de todos los genes que se encuentran en un organismo.

Inmunoblot.- (o Western blot) Una técnica mediante la cual se separan proteínas por electroforesis en gel de poliacrilamida y después se transfieren electroforéticamente a un papel de nitrocelulosa o una membrana similar, donde son detectadas con anticuerpos que reconocen los antígenos que hay en ellas.

Leucoplasia.- Cambio en el tejido que se observa como un área blanca o grisácea. (12)

Microarreglos de ADN.- Es una tecnología en desarrollo para el estudio de la expresión de muchos genes a la vez. Consiste en colocar miles de secuencias génicas en lugares determinados del portaobjetos llamado chip. El apareamiento de las bases complementarias entre la muestra y las secuencias de genes en el chip producen una cantidad de luz que se puede medir. Las áreas que producen luz identifican los genes que se expresan en esa muestra.

Proteómica.- Es el estudio de los proteomas el cual es un conjunto de proteínas expresadas por un genoma, una célula o un tejido.



1. INTRODUCCIÓN

El cáncer es una de las principales causas de muerte en el mundo, tan solo en el 2020 se reportaron casi 10 millones de decesos, siendo el cáncer de mama y el pulmonar los de mayor incidencia. Los factores de riesgo asociados a esta enfermedad se presentan con mayor frecuencia debido al cambio en los hábitos de vida y conducta que los pacientes han adoptado en las últimas décadas, dando lugar a un incremento en el número de casos de esta enfermedad y proyectando un incremento en el número de pacientes que presentarán algún tipo de cáncer en los siguientes años.

El carcinoma oral de células escamosas es el cáncer más común en cabeza y cuello, representando el 90% de los tumores que se presentan en esta zona anatómica, el índice de supervivencia y pronóstico favorable es muy bajo, y aún no se ha logrado que el periodo de supervivencia de estos pacientes incremente a pesar de los avances tecnológicos dentro del campo de la salud.

La biomedicina ha contemplado que la investigación de nuevas herramientas moleculares puede contribuir significativamente en el tratamiento del cáncer, razón por la cual, los biomarcadores moleculares son de gran interés dentro de la comunidad científica, ya que estos proveen información valiosa que se sucede en procesos biológicos, de ahí que su valor predictivo en la patología sea de gran interés. El uso de los biomarcadores en el campo médico tiene cientos de años, pero el término como tal es relativamente nuevo.

Los investigadores consideran que el estudio de los biomarcadores es un campo prometedor por su gran variedad de usos, siendo los principales. el de diagnóstico, predisposición y pronóstico de las enfermedades, haciendo hincapié que el costo beneficio es bastante favorable.

En el área de la medicina bucal, el desarrollo de nuevos marcadores moleculares es de lo más prometedor para una detección temprana de la



enfermedad y mejorar las condiciones de los pacientes que cursan con un carcinoma en cavidad oral. Teniendo como objetivo incrementar la sobrevivencia de estos pacientes que hasta la fecha tiene una estimación de 5 años a partir del diagnóstico.

2. OBJETIVOS

Objetivo general

Identificar las características de los biomarcadores y su importancia en el carcinoma de células escamosas de cavidad oral.

Objetivos específicos

Describir que es un biomarcador.

Identificar los criterios utilizados para definir y clasificar un biomarcador.

Identificar los biomarcadores en el carcinoma de células escamosas (COCE).

Describir los nuevos blancos moleculares como biomarcadores de COCE.



3. BIOMARCADORES

3.1 Generalidades

Históricamente el término biomarcador es relativamente nuevo, pero su concepto tiene miles de años. Han transcurrido más de 40 años desde que utilizo el término de biomarcador para describir los niveles séricos de ribonucleasa durante un ensayo en pacientes con mieloma múltiple. (1,2)

Un ejemplo histórico del uso de biomarcadores antes de su definición es el papiro de Edwin Smith, en este se describe la práctica médica egipcia (1500 a.C.) en la que el grado de lesiones se evalúa controlando el pulso. Así como este escrito encontramos muchos más ejemplos del uso de los biomarcadores. (1)

El uso de biomarcadores en la investigación médica básica, clínica y farmacéutica se ha vuelto muy común gracias a la necesidad de conocer acerca de los efectos adversos y el interés por la medicina personalizada. Esta tiene como objetivo una mejor atención médica en la cual se adaptan las opciones de medicamentos, dosis e intervenciones a cada paciente y las posibles predisposiciones a enfermedades o afecciones. (3)

Existe una confusión sobre las definiciones de los biomarcadores provocada por sus conceptos fundamentales, dada por su uso en la investigación y la práctica clínica, esto provocó que hace unos años durante una conferencia conjunta de liderazgo de la Administración de Drogas y Alimentos de los E.U.A (FDA) y los Institutos Nacionales de Salud (NIH), se evidenciaran las diferencias que existen entre los líderes de cada agencia federal, por lo tanto, se formó un grupo de trabajo conjunto para forjar definiciones comunes y hacerlas disponibles públicamente a través de un documento en línea actualizado continuamente: el recurso “Biomarcadores, puntos finales y otras herramientas” (BEST). (3)



Una definición bastante acertada de marcador biológico o biomarcador, es una amplia subcategoría de signos médicos que se puede medir de forma precisa y reproducible, utilizados para medir una interacción entre un sistema biológico y un agente de tipo químico, físico o biológico, la cual es evaluada como una respuesta funcional o fisiológica que ocurre a nivel celular o molecular y está asociada a la probabilidad del desarrollo de una enfermedad. (4,5)

Desde el punto de vista médico, los biomarcadores son sustancias trazables con la capacidad de clasificar condiciones binarias (por ejemplo, estados normales y de enfermedad, etc.) o multi-condicional (como los estadios de enfermedades, etc.), que son de gran importancia para el examen de la actividad del organismo. Muchos son los ejemplos del empleo de biomarcadores en la medicina actual. Uno de ellos es las diversas técnicas físico-química o inmunohistoquímicas de alta sensibilidad desarrolladas para la detección de carcinógenos en sangre u orina. La evaluación de una muestra con el uso de biomarcadores es compleja; por lo que es importante establecer la relación entre la exposición y la enfermedad, para minimizar efectos adversos, esta información permite establecer un diagnóstico adecuado, una intervención preventiva efectiva, desarrollo y evaluación de tratamientos e identificación de individuos sensibles. (6,7)

3.2 Descubrimiento y desarrollo

Existen diversas metodologías (como imagenología, técnicas bioquímicas, etc.) para el nuevo descubrimiento de biomarcadores, este se da normalmente por el análisis de una gran cantidad de analitos y/o pruebas en pequeños grupos de individuos o muestras. (8)

El desarrollo de nuevos biomarcadores incluye diversos pasos que pueden ser interactivos, incluido el descubrimiento inicial y la calificación (Fig.1). (8)

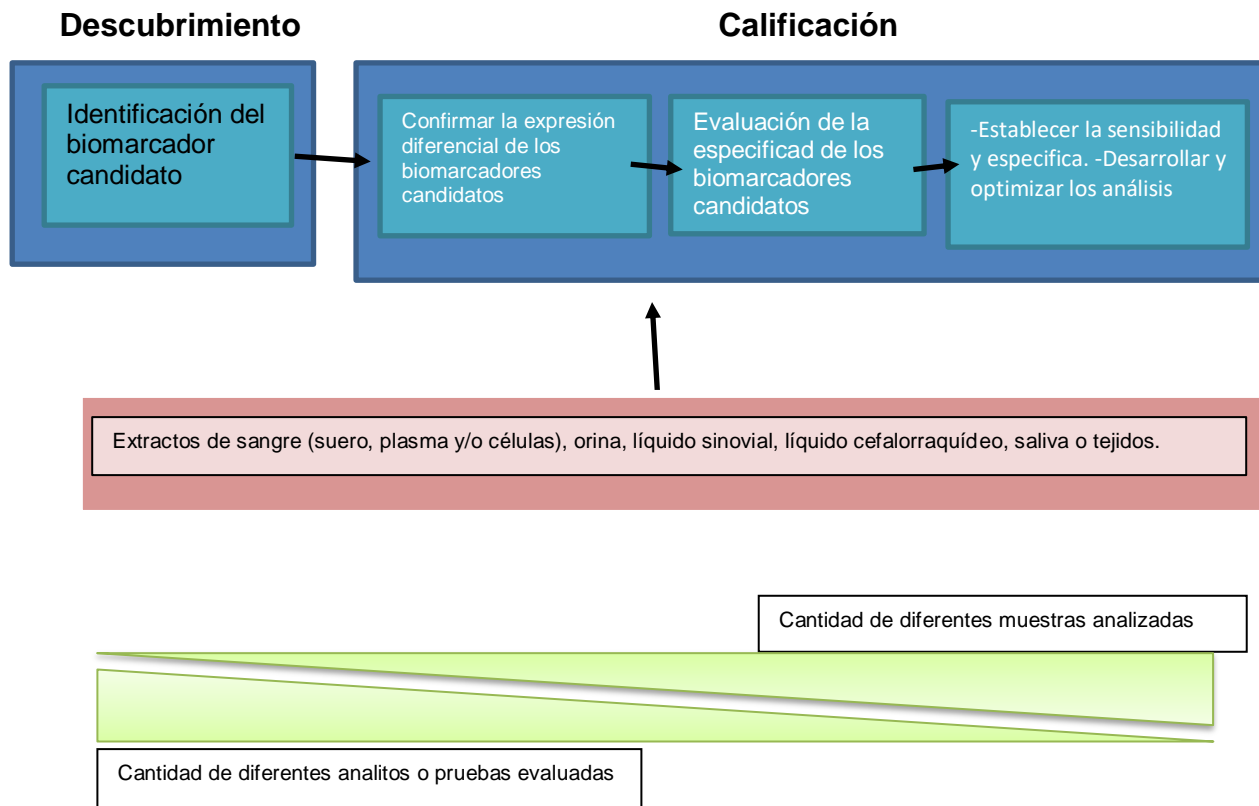


Figura 1. Marco para el desarrollo de biomarcadores. Editado de: Kraus VB. Biomarkers as drug development tools: discovery, validation, qualification and use. Nature Reviews Rheumatology 2018.

3.3 Criterios de validación

Para ser utilizado un biomarcador en estudios, es fundamental su validación, el proceso de selección y la aprobación requiere una especificidad, fiabilidad y sensibilidad como medida de riesgo, estableciendo su exactitud, precisión y garantía de la calidad del procedimiento analítico y la interpretación de datos, que deben ser comparados con otras variables. Debemos señalar que el proceso de validación requiere pasos específicos e interdependientes de validación analítica, calificación mediante una evaluación probatoria y utilización (Fig. 2). (3,7)

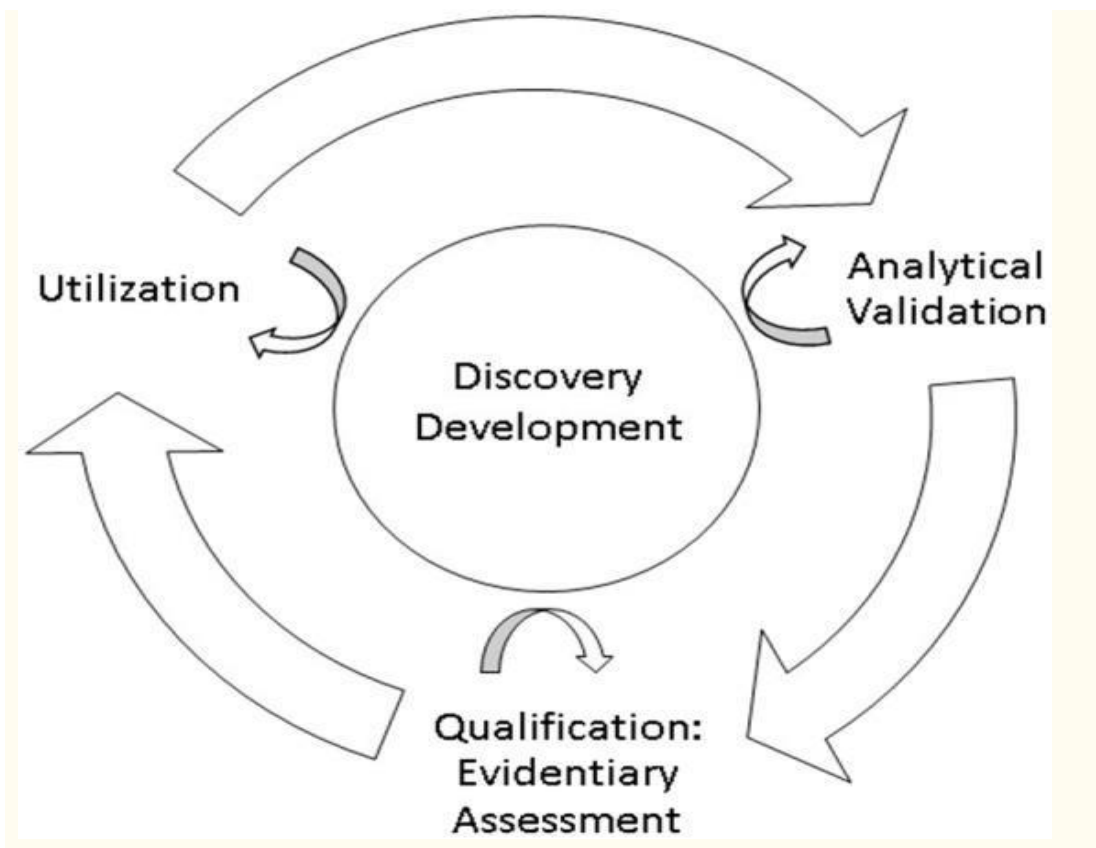


Figura 2. Pasos en el marco de evaluación de biomarcadores. Tomado de Califf RM. Biomarker definitions and their applications. Exp Biol Med (Maywood) 2018.

La validación analítica es la exactitud con la que el test identifica las mutaciones o el genotipo de interés. Incluyendo la sensibilidad analítica y la especificidad analítica, y que el biomarcador tiene la capacidad de predecir o medir el concepto médico relevante (es decir, la validación clínica). (9)

La validación clínica es la capacidad de una prueba de diagnosticar o predecir la presencia o ausencia de una enfermedad. Es decir, si al utilizar otras cohortes, la prueba sigue ofreciendo resultados correctos. (9)



Al establecer si los biomarcadores (y las pruebas utilizadas para evaluarlos) son aptos para su propósito, la validación informa esencialmente cualquier uso potencial de un biomarcador en todas las categorías de biomarcadores. (3)

A continuación, se muestra un ejemplo de la importancia de la validación de un biomarcador en los siguientes usos.

- Se puede usar un *biomarcador de pronóstico* para enriquecer a pacientes con pronóstico desfavorable con el fin de aumentar el poder estadístico de un ensayo clínico. El uso de una prueba analíticamente inválida o de un biomarcador de pronóstico no informativo podría provocar que no se muestre un efecto del tratamiento debido a un enriquecimiento insuficiente para los pacientes que tienen una mayor probabilidad de eventos que podrían resultar en un poder estadístico inadecuado.(4)
- Se pueden utilizar *biomarcadores de predicción* para identificar a los pacientes que probablemente respondan al tratamiento. Sin embargo, el uso de una prueba no válida analíticamente o de un biomarcador predictivo no informativo podría conducir a un ensayo con poca potencia debido a un efecto del tratamiento menor al esperado. (4)

3.4 Definición y clasificación

Se han definido varios subtipos de biomarcadores de acuerdo con sus supuestas aplicaciones. Es importante saber que un solo biomarcador puede cumplir con múltiples criterios para diferentes usos, pero es esencial el desarrollar la evidencia para cada definición, por lo tanto, aunque estas puedan superponerse, cada una tiene características específicas. (3,4)

Según el glosario de BEST Resource, cada biomarcador pertenece por lo menos a 1 de las 7 categorías definidas, las cuales son:



Biomarcador de diagnóstico

Un biomarcador de diagnóstico es utilizado para detectar y/o confirmar la presencia de una enfermedad o afección de interés y la identificación de individuos con un subtipo de la enfermedad. Estos no solo se usan para identificar a personas con una enfermedad, sino para redefinir la clasificación de la enfermedad, por ejemplo Farrel en 2008 menciona que el cloruro del sudor se puede utilizar como biomarcador de diagnóstico para confirmar la fibrosis quística. (3,4).

Biomarcador de seguimiento

Este tipo de biomarcadores se evalúan repetidamente a lo largo del tiempo y se pueden utilizar en la evaluación de:

- Progresión de la enfermedad, este incluye nuevos efectos, empeoramiento de las anomalías existentes o aumento y disminución de la gravedad.
- Respuesta de una enfermedad o afección a los tratamientos, ya sea a favor o en contra (4)

El cociente internacional normalizado (INR) o el tiempo de protrombina (TP) se pueden utilizar como biomarcadores de seguimiento para evaluar si se ha logrado el efecto deseado de la anticoagulación en pacientes que reciben warfarina como describe Holbrook en el 2012. (4)

Biomarcador farmacodinámico/respuesta

Estos biomarcadores son utilizados para demostrar que se ha producido una respuesta biológica en un individuo expuesto a un producto médico o agente ambiental. Un cambio en un biomarcador de respuesta proporciona evidencia temprana que un tratamiento podría tener un efecto sobre un criterio de valoración clínico de interés o se puede utilizar para evaluar un criterio de valoración farmacológico relacionado con problemas de seguridad. Este tipo de biomarcadores a menudo son incluidos en la categoría



de biomarcador de seguimiento. Stohl y Hilbert en el 2012 ejemplifican este tipo de biomarcador, indicando que los linfocitos B circulantes se pueden usar como un biomarcador farmacodinámico de respuesta al evaluar a los pacientes con lupus eritematoso sistémico para evaluar la respuesta a un inhibidor del estimulador de linfocitos B. (3,4)

Biomarcador predictivo

Estos biomarcadores son utilizados para identificar persona con una mayor probabilidad de experimentar efectos favorables o desfavorables a la exposición de un producto médico, o agentes ambientales, en comparación a una persona con condiciones similares, pero sin el biomarcador. Ejemplo de ello, se presenta en la diferenciación de células escamosas en el cáncer de pulmón de células no pequeñas, y se puede utilizar como un biomarcador predictivo para identificar a los pacientes que deben evitar el tratamiento con pemetrexed, en los que es probable que tengan una peor supervivencia o un resultado de supervivencia libre de progresión en comparación con el tratamiento con otras quimioterapias estándar como docetaxel o cisplatino en combinación con gemcitabina como describe Scagliotti en el 2009. (4)

Biomarcador de pronóstico

Son utilizados para identificar la probabilidad de un evento clínico, recurrencia o progresión de la enfermedad en pacientes que tienen la enfermedad o afección médica de interés. Los biomarcadores de pronóstico se miden en una línea de base definida, que puede incluir un tratamiento de base. (3,4)

En oncología, los biomarcadores como el tamaño del tumor, el número de ganglios linfáticos positivos para células tumorales y la presencia de metástasis se han utilizado para indicar un pronóstico. Cada vez más, se utilizan indicadores moleculares o firmas medidas en tumores en lugar de, o además de estas características clínico-patológicas. (4) Las mutaciones de los genes 1 y 2 de BReast CAncer (BRCA1/0 2) se pueden usar como



biomarcadores de pronóstico al evaluar a mujeres con cáncer de mama, para evaluar la probabilidad de un segundo cáncer de mama (Basu et al. 2015).(4)

Biomarcadores como criterios de valoración sustitutos

Un biomarcador utilizado como resultado en ensayos clínicos es considerado un criterio de valoración sustituto. Estos son un pequeño subconjunto de biomarcadores bien caracterizados con una relevancia clínica evaluada. Para esto debe haber evidencia científica de que el biomarcador predice de manera consistente y precisa el resultado clínico, ya sea en beneficio o daño. (3,5)

Este tipo de biomarcadores se han vuelto de suma importancia en la industria farmacológica, ya que estos disminuyen los costos de los estudios del desarrollo de nuevos fármacos, así como el tiempo y los riesgos en los sujetos de prueba. Tanta es su importancia que la FDA diseñó El Programa de Calificación de Biomarcadores (BQP) que proporciona el mecanismo de desarrollo de nuevos biomarcadores para el proceso de desarrollo de nuevos fármacos. Cualquier interesado “externo” trabajara con el CDER en tal investigación. (1,10)

En el Resource BEST se realiza una distinción entre tres categorías de valoración considerados para servir como criterios de valoración sustitutos. Estas categorías describen su uso en toma de decisiones regulatorias de E.U.A., según el nivel de validación clínica. Estos son. (3,4)

Criterio de valoración sustituto validado: está respaldado por una justificación mecánica y datos clínicos que proporcionan pruebas sólidas de que un efecto sobre este predice un beneficio clínico específico. Es importante, ya que se puede utilizar como base para la aprobación de un producto médico sin la necesidad de estudios adicionales que demuestren su beneficio. (4)



Criterio valoración sustituto razonablemente probable: está respaldado por un fuerte fundamento mecanicista y/o epidemiológico, de modo que se espera que un efecto en el criterio de valoración sustituto esté correlacionado con un criterio de valoración destinado a evaluar el beneficio clínico en los ensayos clínicos, pero sin datos clínicos suficientes para demostrar que es un criterio de valoración sustituto validado. Dichos criterios de valoración pueden utilizarse para la aprobación acelerada de medicamentos y, potencialmente, también para la aprobación o autorización de dispositivos médicos. (4)

Criterio de valoración sustituto candidato: este se encuentra aún en evaluación por su capacidad para predecir el beneficio clínico. (4)

Existen grandes ventajas en el uso de biomarcadores como criterios de valoración sustitutos en ensayos. Esto se debe a que por ejemplo criterios de valoración clínicos primarios, como la supervivencia, pueden ocurrir con tan poca frecuencia que su uso en ensayos clínicos resulta poco práctico o incluso poco ético. (3)

- La evidencia radiográfica de la reducción del tumor (tasa de respuesta) y la supervivencia libre de progresión en ciertos tipos de cáncer se ha considerado razonablemente probable que prediga una mejora en la supervivencia general con ciertas terapias y ha respaldado la aprobación acelerada de medicamentos para tratar estos tipos de cáncer.(4)

Biomarcador de seguridad

Un biomarcador medido antes o después de una exposición a un producto médico o un agente ambiental para indicar la probabilidad, presencia o extensión de la toxicidad como efecto adverso. Todos los biomarcadores de seguridad tienen en común la capacidad de detectar o predecir efectos adversos de exposición o fármacos. Las aminotransferasas hepáticas y la bilirrubina se pueden usar como biomarcadores de seguridad al evaluar la hepatotoxicidad potencial. (3,4)



Biomarcador de susceptibilidad de riesgo

Estos biomarcadores indica la posibilidad de desarrollar una enfermedad o afección médica en una persona que actualmente no tiene una enfermedad o afección clínicamente aparente. El concepto es similar a los biomarcadores de pronóstico, excepto que la clave está en la asociación del desarrollo de la enfermedad en lugar del pronóstico. La infección con ciertos subtipos de virus del papiloma humano (VPH) se puede utilizar como un biomarcador de susceptibilidad/riesgo para identificar a las personas con predisposición a desarrollar cáncer de cuello uterino. (3,4)

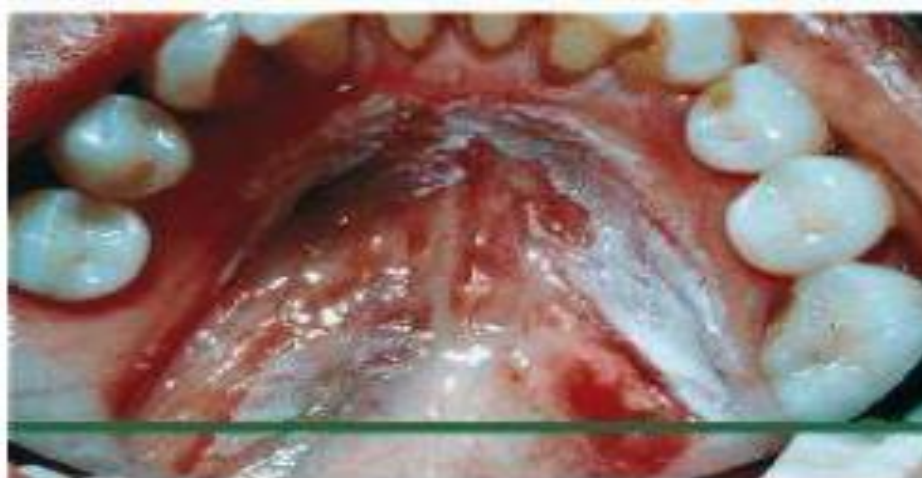
4. BIOMARCADORES EN CÁNCER ORAL DE CÉLULAS ESCAMOSAS

4.1 Generalidades y marcadores tumorales

Las neoplasias malignas de la cavidad bucal constituyen del 3 al 5 % de todas las neoplasias y son unos de los diez tipos de cáncer más frecuente en el mundo. El carcinoma oral de células escamosas (COCE) es la más común de origen epitelial en la cavidad bucal, representa aproximadamente un 90% de todas ellas. Suele afectar en su mayoría a hombres mayores de 40 años de edad, y alcanza su mayor índice en grupos de 60 y más años, constituye el 3 % de los cánceres diagnosticados en hombres y el 2 % en mujeres. (11, 12,13).

Los sitios anatómicos más frecuentemente afectados son el labio inferior, los bordes laterales de lengua y el suelo de la boca. Su etiología es multifactorial, aunque está íntimamente relacionada con factores como el tabaquismo y el alcoholismo. Tiene una serie de presentaciones clínicas diferentes. En el estadio temprano puede aparecer como una lesión eritematosa (eritroplasia) asintomática o una lesión blanca (leucoplasia), o ambas (eritroleucoplasia). Puede también aparecer como una erosión, una

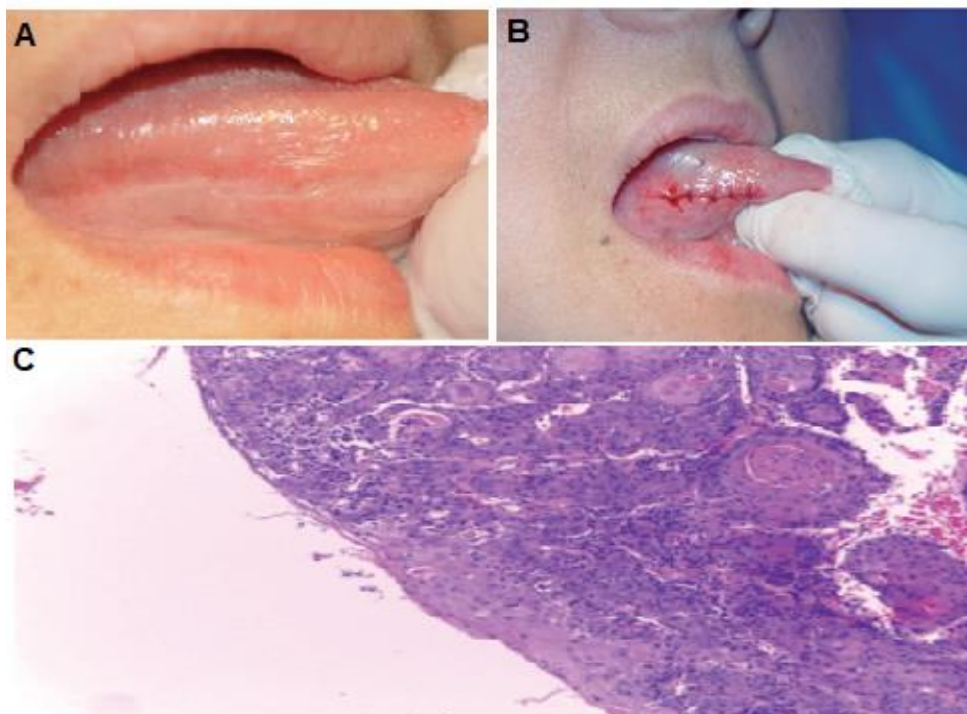
úlceras pequeñas, una masa exofítica, o una lesión periodontal. En estadios avanzados puede presentarse como una masa exofítica grande con o sin ulceraciones, úlcera profunda con una superficie vegetante irregular, bordes elevados y un infiltrado duro de los tejidos bucales. La forma más temprana de cáncer de células escamosas se llama *carcinoma in situ*. Esto significa que las células cancerosas están solamente en la capa de células llamada *epitelio*. El diagnóstico de las lesiones precancerosas empieza con el examen clínico, pero el estudio histopatológico es el que proporciona la información de si existe displasia y cuál es el grado de esta. (Img.1, 2, 3) (11,12, 13)



Img. 1. Leucoplasia localizada en el suelo de la boca en una mujer fumadora de 52 años de edad. Tomada de: estudio de lesiones precancerosas de la mucosa bucal en el paciente geriátrico. Rev. Esp. De geriatría y gerontología 1999.



Img. 2. Mucosa yugal izquierda, lesión ulcerada, irregular, con induración, extendiéndose hasta la comisura, con áreas de leucoplasia y eritroplasia. Tomado de: carcinoma oral de células escamosas: Reporte de caso y revisión de literatura. ODONYOVOS-Int.j.Dental.2016



Img. 3. Borde lateral derecho de la lengua con cicatriz lineal que en el extremo anterior presenta lesión tipo placa eritematosa de 5mm, superficie lisa y aterciopelada (A), se realizó biopsia excisional y se suturo con catgut 6/0 (B), estudio histopatológico muestra COCE invasor muy bien diferenciado (C). Editado de: carcinoma oral de células escamosas diagnosticado precozmente: Reporte de caso y revisión de literatura. ODONYOVOS-Int.j.Dental.2019



En las últimas décadas ha habido grandes avances en los tratamientos personalizados en pacientes oncológicos gracias a un importante desarrollo científico. Cada vez es más frecuente encontrar investigaciones orientadas hacia la búsqueda de nuevos marcadores, con una mayor especificidad. El mayor interés de estas investigaciones es el tratamiento individualizado y personalizado apropiado para cada paciente, así como la prevención y detección temprana de las afecciones. (Cuadro I). (14)

Cuadro I. Usos clínicos de marcadores tumorales.

- Determinar riesgo de desarrollar la enfermedad.
- Screening para la enfermedad.
- Establecer diagnóstico:
Diferenciar enfermedad benigna de maligna.
Determinar el tipo de malignidad.
- Determinar pronóstico:
Para enfermedad primaria, predecir recaída.
Para enfermedad metastásica, predecir progresión.
- Predecir supervivencia.
- Predictor de respuesta a la terapia:
Hormonal.
Quimioterapia.
Nuevas terapias.
- Monitorizar la enfermedad:
Para enfermedad primaria, predecir recaída.
Para enfermedad metastásica, seguimiento de enfermedad detectable

Editado de: Laboratorio clínico y oncología: De los aspectos básicos del cáncer a los tumores más frecuentes y la utilidad de los marcadores tumorales como métodos diagnósticos.

Idealmente cualquier biomarcador debe cumplir ciertas características para ser considerado como ideal o de utilidad, estas son:

- Estar presente en los tumores.
- Ser secretado por el tumor.
- Ser detectado en sangre.
- Ser cuantificable en forma fácil y reproducible.



- No estar regulado por procesos no tumorales.
- Correlacionarse con el desarrollo de la lesión maligna, tanto en presencia como en ausencia de tratamiento.

Aunque la leucoplasia oral es considerada una lesión cancerizable, aún existen problemas metodológicos en identificar cuáles son potencialmente malignas, debido a la ausencia de marcadores de pronóstico y clínicos precisos. Por esta razón, se estudia la posibilidad de emplear, de una forma selectiva, otros exámenes más específicos, que permitan valorar las alteraciones celulares. (14,15)

En base a la utilidad clínica el marcador tumoral ideal es aquel que pueda ser 100% específico (detectable solo en pacientes con cáncer) y 100% sensible (detectable en estadios tempranos). Un marcador tumoral es una sustancia de las células cancerosas u otras células que está presente, en respuesta al cáncer o algunas afecciones benignas. Este ofrece información del cáncer, como el grado de malignidad, la posibilidad de la terapia dirigida o respuesta al tratamiento. (14,16)

Existen dos tipos de marcadores tumorales con diferentes usos en el tratamiento del cáncer:

- Marcadores circulantes: se encuentran en la sangre, orina u otros líquidos del cuerpo de algunos pacientes, su propósito es el siguiente:
 - Calcular el pronóstico
 - Detectar en cáncer residual o recurrente después del tratamiento.
 - Evaluar la respuesta al tratamiento o si existe resistencia a este.
- Marcadores en tejido tumoral: en general es una muestra del tumor extraída mediante biopsia, y sus propósitos son los siguientes:



- o Diagnosticar, estadificar o clasificar el cáncer.
- o Calcular un pronóstico.
- o Elegir el tratamiento adecuado.

Estos marcadores se miden mediante varias muestras extraídas en diferentes momentos del tratamiento y después de este, así se permite observar los cambios en las concentraciones a lo largo del tiempo. (16)

Existe una gran diversidad de biomarcadores de cáncer oral de células escamosas, aunque en su mayoría muchos marcadores tumorales no son específicos de un tipo particular de cáncer y aun no se dispone de marcadores de diagnóstico temprano sensibles y fiables para el COCE. (17)

4.2 Marcadores de supresión tumoral y de respuesta antitumoral

PRB (proteína de retinoblastoma): este es un controlador negativo del ciclo celular al inhibir el factor de transcripción E2F. Es punto clave en la comprobación de G₁ (COCE bien definido) La desregulación de la pRb da lugar a aberraciones de distintas proteínas celulares, como la CD1 y la CDK4; este mecanismo es necesario para el desarrollo del cáncer oral y faríngeo. (17,18)

CDKIs (inhibidores de la ciclina dependiente de la quinasas): existen 2 familias de CDKIs, la familia p21 y la INK4. (17)

p21: es un inhibidor universal de las CDKs; se localiza en el cromosoma 6. Regulada positivamente por p53. Promueve la diferenciación y maduración celular inhibiendo la división celular, e induce la expresión de algunos factores protumorigénicos. Existe una asociación entre la expresión de p21 y el grado de diferenciación tumoral, a pesar de esto se han presentado discordancias como marcador de pronóstico. (15,17)

INK4: las proteínas pertenecientes a esta familia. Son polipéptidos de 15 a 19 kDa que comparten un 40% de homología entre sí. Los 4 miembros de este grupo se unen e inhiben exclusivamente a las quinas dependientes de ciclina tipo D. (17,19)



p16 (INK4a) es un gen supresor que modula la proliferación celular. Se localiza en la región 21 del brazo corto del cromosoma 9 y es un inhibidor del complejo ciclina d1/cdk4. Este efecto oncogénico depende de la inhibición de CDK4/CDK6 en el cáncer celular donde se inactiva RB, cuya inactivación por la proteína E7 sensibiliza a las células a la apoptosis dependientes de p53, pero la proteína E6 inhibe las funciones proapoptóticas de p53. Esta proteína ha sido estudiada en la infección de VPH en los carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello. (19,20)

p53: Es una fosfoproteína de 53 kDA formada por 392 aminoácidos, y tiene un papel importante al ser un medidor crucial de las respuestas celulares a daños de ADN, al ser un factor de transcripción de la diferenciación celular y la apoptosis. Las aberraciones del gen p53 son las más frecuentes en el cáncer oral se ha llegado a encontrar una sobreexpresión en un 47% de las lesiones caracterizables orales. Este gen no se detecta en los estudios inmunohistoquímico de células normales, en general se detecta en áreas adyacentes preinvasivas de carcinoma escamoso y lesiones displásicas. No es posible concluir que se trate de un biomarcador intermedio de riesgo, ya que su mutación es relativamente tardía en el proceso carcinogénico. Las alteraciones de expresión de la p53 en las lesiones premalignas se asocian a un aumento de la polisomía cromosómica. (15,17)

Bax: es un cofactor del p53 y es inducido por este. Bajos niveles se han relacionado con un mal pronóstico de COCE. (17)

Fas/FasL: mediadores de la apoptosis y pertenecientes a la familia del TNF-R. Se han encontrado sobreexpresión de FasL en el carcinoma de células escamosas. (17)

Células dendríticas (DC): constituyen un complejo sistema de células inductoras de respuestas primarias inmunes y son las células presentadoras



de antígeno más potentes (CPAs). Estas pueden generar una respuesta antitumoral importante, una sobreexpresión de ellas indican un buen pronóstico. (17,18)

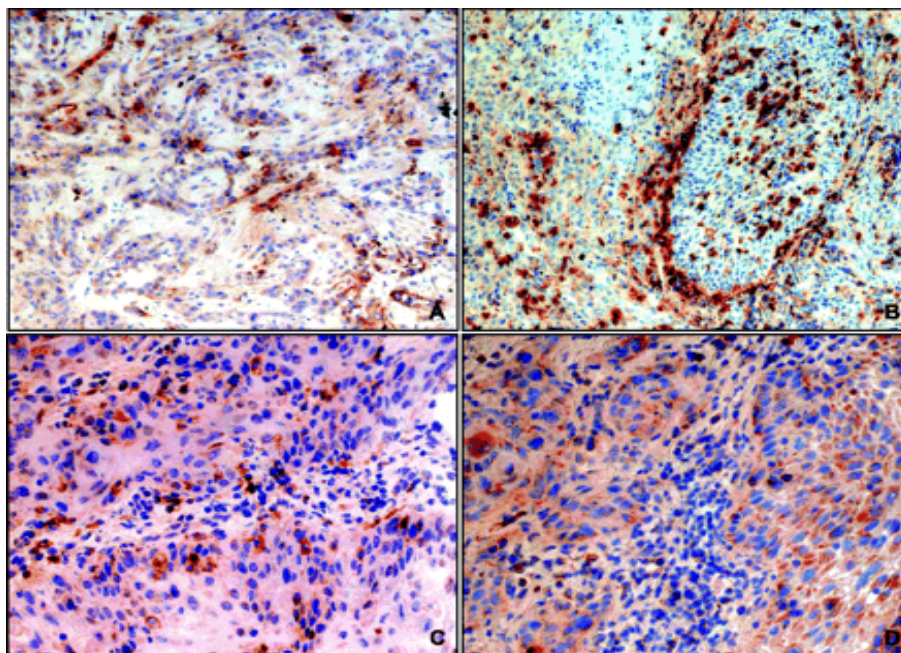
4.3 Marcadores de crecimiento tumoral

EGF (Receptor del factor de crecimiento epidérmico): también conocido como HER1 o ErbB1, es una glicoproteína transmembranal de 170kDA localizada en el cromosoma 7 y perteneciente a la familia ErbB de receptores con actividad de tirosina cinasa de membrana tipo 1. Este receptor tiene un papel importante en el desarrollo celular normal, una alteración puede desencadenar tumorigénesis, y se ha encontrado una sobreexpresión de este receptor en diferentes tumores humanos, incluido el COCE, sin embargo el aun no es claro su papel en al tumorigénesis. El oncogén erbB-2 se localiza en el brazo corto del cromosoma 17 y su sobreexpresión, en un 14,7% de los carcinomas orales, incrementa el potencial de metástasis. El erlotinib y el gefitinib son inhibidores competitivos del dominio tirosina cinasa de EGFR, que se utilizan como tratamiento en pacientes con mutaciones en EGFR, logrando índices de respuesta de hasta un 70%. Dentro de estas familias de receptores tenemos las proteínas CD97 Y CD55 las cuales pueden facilitar la adhesión de las células de COCE a las superficies circundantes lo cual daría lugar a metástasis y un pronóstico desfavorable. (imag.4) (15, 17,21, 22).

Ciclinas (ciclinas A, B1, D1, E): son esenciales en el control del ciclo celular. La activación da inicio el ciclo celular e incrementa la replicación. La proteína ciclina D1 tiene un importante papel en las etapas más tardías del proceso de malignización, estas se encuentran sobre expresada en los carcinomas de células escamosas orales y faríngeos. La ciclina B1 está presente en los grados G3 y G4 de pacientes de alto riesgo de COCE y es útil

en la predicción de metástasis oculta en ganglios linfáticos cervicales de carcinoma de lengua. (17,18)

Ki-67: es un marcador nuclear de proliferación celular que proporciona una estimación del índice de proliferación, ya que se expresa en todas las fases del ciclo celular excepto G₀. La positividad de Ki67 es un marcador de pronóstico asociado a un mayor riesgo de recaída y menor tasa de supervivencia. Este tiene una estrecha relación en el grado histológico de COCE. (17, 18,21)



Img. 4. A. Tejido obtenido del paciente 3, una fuerte inmunotinción de CD97 marrón marca claramente las células malignas, mientras que las células del estroma no malignas y los transeúntes son débilmente positivas o revelan una tinción inespecífica (x 10). B. Tejido obtenido del paciente 4, se detectó una fuerte inmunotinción de CD97 alrededor de los grupos de células tumorales y en las células malignas (x 10). C. El tejido obtenido del paciente 15, carcinoma T 1 N 0 M 0 con clasificación G1 fue débilmente positivo y se detectó inmunotinción de CD97 solo en unas pocas células (x 40). D. Por el contrario, los tumores G3 altamente malignos, como los obtenidos del paciente 11, con múltiples ganglios linfáticos y metástasis a distancia, revelaron una fuerte expresión de CD97 y la inmunotinción se detectó en casi todos los compartimentos celulares de las células OSCC (x 40). Editado de: Expression of the Epidermal Growth Factor Seven-Transmembrane Member CD97 Correlates with Grading and Staging in Human Oral Squamous Cell, Carcinomas. Cáncer epidemiology, biomarkers y prevention, 2005.



HSP27 y 70 (proteína de choque térmico): son proteínas multidimensionales que actúan como proteína acompañante y antioxidante y desempeñan un papel en la inhibición de la apoptosis y la remodelación citoesquelética de actina. Parecen estar asociadas a las mutaciones del gen p53. La proteína HSP27 se encuentra en la mucosa oral y en pequeños tumores. En el caso de HPS70 se detecta en niveles elevados en el carcinoma oral de células escamosas. Estas interactúan con Bcl2, dando soporte al efecto de proliferación. (17,23)

Telomerasa: es una ribonucleoproteína con dos componentes con actividad enzimática a nivel nuclear, situados en el extremo de los cromosomas eucariotas. La actividad telomérica es esencial para controlar el potencial indefinido de la división y de la inmortalidad de las células eucariotas, esta actividad se utiliza como marcador en lesiones preneoplásicas o neoplásicas de la mucosa oral. La detección sobre todo de la subunidad hTERT, puede ser útil como marcador de diagnóstico adicional, específicamente en la detección precoz de COCE. (15,17, 18)

4.4 Marcadores de angiogénesis

La angiogénesis es muy importante en el crecimiento y metástasis de los tumores sólidos, razón por la cual ha sido una de las temáticas más estudiadas. Judah Folkman en 1971 demostró que el crecimiento tumoral depende de la angiogénesis, de no ser capaz de desarrollarla, no se desarrollara más allá de los 2 a 3 mm. Algunos factores de crecimiento son conocidos como promotores de la angiogénesis. (17, 24)

VEGF/VEGF-R (factor de crecimiento endotelial vascular /receptor): es una citoquina multifuncional desempeñando un papel fundamental en las funciones fisiológicas normales y de la angiogénesis. Este estimula el



crecimiento vascular endotelial celular, la supervivencia y proliferación. El VEGF es el principal mediador de la angiogénesis en el cáncer, su expresión está regulada por la expresión de oncogenes, una variedad de factores de crecimiento y la hipoxia. Durante la oncogénesis la producción de VEGF se expresa en concentraciones mayores, con actividad de modificación citoesquelética y antiapoptosis. En el 2004 la FDA aprobó el avastin, siendo este el primer fármaco antiangiogénico del mercado. (17,24)

PD-ECGF (Factor de crecimiento de células endoteliales derivado de plaquetas): es una citoquina angiogénica derivada de plaquetas. En el carcinoma oral de células escamosas se ha encontrado una alta expresión de este, aunque se observa una mayor densidad de microvasos tumorales no se ha determinado una correlación entre la puntuación del PD-ECGF y el recuento de microvasos. (17)

4.5 Marcadores de invasión tumoral y potencial metastásico

MMPs (metaloproteinasas de matriz extracelular): pertenecen a la familia de endoproteinasas zinc-dependientes que intervienen en los procesos fisiológicos de organogénesis, cicatrización, involución uterina y también en diversas condiciones patológicas, como la inflamación, enfermedades autoinmunes y carcinogénesis. Las MMPs son las principales mediadoras de alteraciones observadas en el microambiente tumoral durante la progresión del cáncer (tabla 1). Durante el crecimiento tumoral, desempeñan un rol fundamental que consiste en la degradación del tejido conectivo y los componentes de la membrana basal, además de activar los factores de crecimiento, los receptores de superficie para moléculas de adhesión y las quimiocinas. La asociación de las MMPs a diversos tipos de cáncer hace que estas sean consideradas como blancos en el tratamiento de los mismos por medio de inhibidores, en el caso del carcinoma oral de células escamosas se le relaciona con el estadio del tumor. (17, 24,25)

METALOPROTEINASAS DE MATRIZ (MMP)			
ROL	MOLÉCULA	ACTIVIDAD	EFECTO
Invasión celular	MMP-1, 2 y 9.	Proteólisis	Descomponer barreras físicas
Proliferación celular	MMP1, 2, 3, 7, -9, 11, 19.	Clivaje de proteínas ligadas al IGF	Proliferar
	MMP -3, 7.	Encubrimiento de los ligandos unidos a membrana de EGFR	
	ADAM10	Encubrimiento de E-cadherina	
	MMP-2, -9 y -14	Activación de TGF- β	
	MMP-7 (anclado a CD44)	Encubrimiento de HB-EGF	
Angiogénesis tumoral y Vasculogénesis	MMP-1, 2, 3, 8, 9, 10, 11 y 13	Degradación de colágeno-IV, perlecano. Liberación de VEGF y bFGF	Regular corriente arriba
		Degradación de colágeno-IV, -XVIII, perlecano, endostatina y angiostatina	Regular corriente abajo
Adhesión celular, migración y transición epitelial-mesenquimal (TEM)	MMP-2	Degradación de colágeno-IV	Promover la migración
	MT1-MMP	Degradación de laminina-5	
	MMPs	Integrina como sustrato	
	MMP-2, 3, 9, 13 y 14	Sobreexpresión, relacionado con TEM	
	ADAM10, MMP-1 y 7	Encubrimiento de E-cadherina	
	MMP-28	Activación proteolítica de TGF- β	Potente inductor de TEM y migración celular

Tabla.1 Las MMPs durante la progresión del cáncer. Tomado de: El rol del VEGF en la angiogénesis fisiológica y tumoral, Med 39 2017.

Integrinas: son moléculas transmembranales de adhesión a la superficie celular que regulan muchos procesos celulares clave, como la división y la movilidad. Estos receptores transmembrana están compuestos por 2 subunidades: alfa y beta, Existen diversos estudios que demuestran que las integrina se expresa en el carcinoma de células escamosas de la cavidad oral. (17)

Cadherinas y cateninas: Son una clase de proteínas transmembrana restringidas al tejido que desempeñan funciones importantes en la adhesión intercelular homofílica y participan en el mantenimiento de la integridad de la

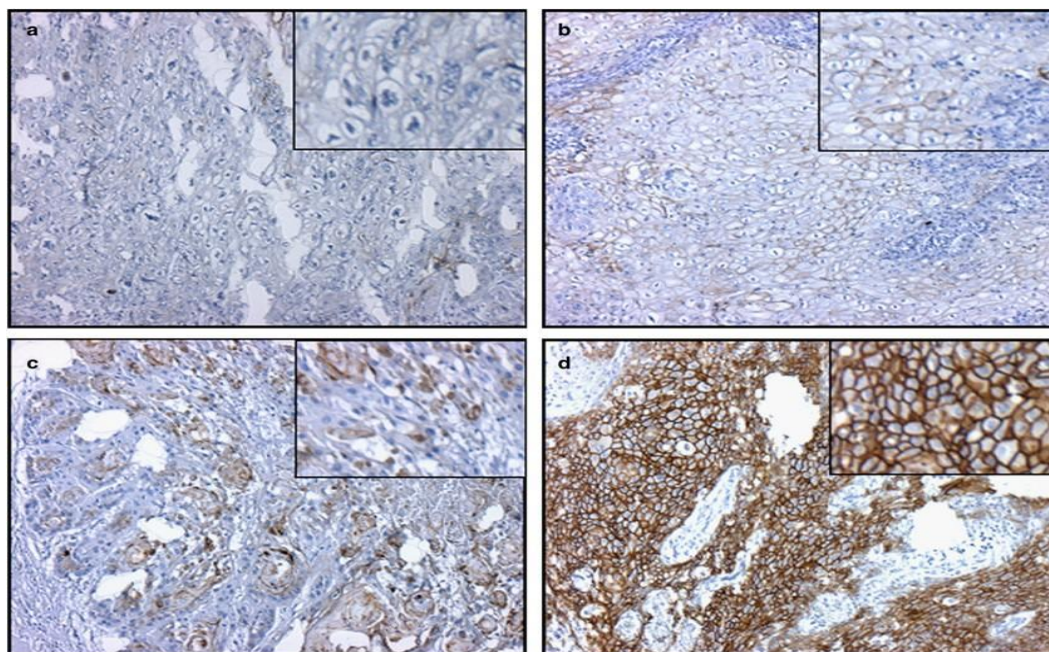


arquitectura del tejido. La investigación de las cadherinas es un área de interés, ya que son marcadores potencialmente de predicción del tratamiento. La expresión de estas moléculas es inversamente proporcional a la diferenciación tumoral. En el COCE se identifican E-cadherina y N-cadherina. (17, 26)

Factor HIF-1alfa: la expresión de este factor es un evento temprano asociado a la carcinogénesis oral. Se ha identificado como un marcador de pronóstico en el COCE, la expresión de este puede predecir la progresión y supervivencia de los pacientes. (17,27)

4.6 Marcadores tumorales independientes

TROP-2 (TROFOBLASTO 2) recientemente se descubrió que la sobreexpresión del antígeno de superficie celular del trofoblasto humano TROP2 está asociada a una significativa disminución de la supervivencia, lo que demuestra que este es un marcador pronóstico independiente en pacientes con COCE. En el estudio realizado un 58% de las muestras detecto este marcador, lo que indica una posible diana terapéutica novedosa. (Imag. 4) (17,28)



Img.5 Tinción inmunohistoquímica para la expresión de TROP2 en el carcinoma oral de células escamosas; aumento original $\times 100$. Obsérvese la inmunotinción membranosa homogénea de las células tumorales. (a) Muestra de tumor TROP2-negativo (puntuación 0); (b) expresión débil (puntuación 2); (c) expresión moderada (puntuación 6) y (d) expresión fuerte (puntuación 12). Editado de: TROP2: a novel prognostic marker in squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Mod Pathol* 21, 2008.

RHAMM: receptor de motilidad mediado por hialuronato, este receptor es parte de un complejo multimolecular. La expresión de estas proteínas se correlaciona con la clasificación de estadio del COCE. (17, 29)

MAGE-A12: los antígenos A asociados a melanoma, se activan en una variedad de tumores diferentes, por lo que su expresión es específica de células cancerosas. El MAGE-A12 es un marcador de diagnóstico adicional útil en la detección temprana de COCE. (17,30)

Cuadro 2. Biomarcadores asociados con la clasificación histopatológica de COCE.

Sistema de calificación	Enfermedad progresiva	
	Riesgo bajo	Alto riesgo
Gx	Angiogénesis + proteína p53 en región central y periférica	↑ Receptor, del activador del plasminógeno de tipo uroquinasa



	HIF-1 alfa	<ul style="list-style-type: none"> ↑ Transcriptasa inversa de telomerasa humana ↑ Inhibidor tisular de metaloproteinasa-2 ↓ E-cadherina ↑ Trofoblasto 2 ↓ Tríada frágil de histidina ↑ p63 ↑ Queratina 8 Cambio de E-cadherina a N-cadherina ↑ RHAMM
G1	Angiogénesis + proteína p53 en región central y periférica	↑ Receptor, del activador del plasminógeno de tipo uroquinasa
	p16, p53 y Ki-67	↑ Transcriptasa inversa de telomerasa humana
	Transcriptasa inversa de la telomerasa humana	↑ Inhibidor tisular de metaloproteinasa-2
	Syndecan-1	↓ E-cadherina
	HIF-1 alfa	↑ Trofoblasto 2
	MAGE-A12	↓ Tríada frágil de histidina
	CD97	<ul style="list-style-type: none"> ↑ p63 ↑ Queratina 8 Cambio de E-cadherina a N-cadherina ↑ RHAMM
G2	Angiogénesis+proteína p53 en región central y periférica	↑ Receptor, del activador del plasminógeno de tipo uroquinasa
	Syndecan-1	<ul style="list-style-type: none"> ↑ Transcriptasa inversa de telomerasa humana ↑ Inhibidor tisular de metaloproteinasa-2 ↓ E-cadherina ↑ Trofoblasto 2 ↓ Tríada frágil de histidina



		↑ p63
		↑ c-Met
		↑ Queratina 8
		Cambio de E-cadherina a N-cadherina
		↑ RHAMM
G3	Angiogénesis + proteína p53 en región central y periférica	↑ Receptor del activador del plasminógeno de tipo uroquinasa
	p16, p53 y ↑ Ki-67	↑ Transcriptasa inversa de telomerasa humana
	Galectina-1	↑ p53 + ↓ p63
	Metaloproteinasa-7 de matriz activa	↑ Inhibidor tisular de metaloproteinasa-2
	CD97	↓ E-cadherina
		↑ Trofoblasto 2
		↓ E-cadherina con Delta Np63 y Delta Np73L
		Tríada frágil de histidina
		↑ CD109
		↑ Ciclina B1
		↓ Sindecán-1 celular
		↑ Ki-67 y ↑ p53 en el frente invasivo del tumor profundo
		↑ p63
		↑ c-Met
		↑ Queratina 8
		Cambio de E-cadherina a N-cadherina
		↑ Aurora-B
		↑ RHAMM
		↑ Superóxido bismutasa 2 de manganeso (SOD2)
		↑ Podoplanina



		↑ WNT-1 asociado con beta-catenina, E-cadherina, gamma-catenina y Ki-67
G4	Metaloproteinasa-7 de matriz activa	↑ Receptor del activador del plasminógeno de tipo uroquinasa
	CD97	↑ Transcriptasa inversa de telomerasa humana ↑ Inhibidor tisular de metaloproteinasa-2 ↓ E-cadherina ↑ Trofoblasto 2 ↓ E-cadherina con Delta Np63 y Delta Np73L Tríada frágil de histidina ↑ CD109 ↑ CXCR4 ↓ Sindecán-1 celular ↑ Antígeno Ki-67 y p53 en el frente invasivo del tumor profundo ↑ p63 ↑ c-Met ↑ queratina 8 Cambio de E-cadherina a N-cadherina ↑ Aurora-B ↑ RHAMM ↑ Superóxido dismutasa 2 de manganeso (SOD2) ↑ Podoplanina ↑ WNT-1 asociado con beta-catenina, E-cadherina, gamma-catenina y Ki-67

↑ Aumento ↓ Disminución Gx diferenciación de COCE no se puede evaluar, G1 COCE bien diferenciado, G2 COCE moderadamente diferenciado G3 COCE pobremente diferenciado G4 se define como COCE indiferenciado. Tomado y editado de: Potential biomarkers in saliva for oral squamous cell carcinoma Oral Oncology 46 (2010).



5. BIOMARCADORES SALIVALES Y NUEVOS BLANCOS MOLECULARES EN COCE

5.1 Análisis salival para biomarcadores

Durante las últimas décadas el estudio de la saliva para la detección de nuevos biomarcadores de COCE ha tomado una importante relevancia dada su gran relación con este. El contacto directo de la saliva con el cáncer oral hace que la medición de marcadores tumorales sea una alternativa más atractiva y no invasiva a las pruebas de suero, teniendo en cuenta que el diagnóstico de cáncer oral se realiza en estadios avanzados, es necesario el estudio de marcadores que se expresen en estadios iniciales para poder llevar a cabo un diagnóstico precoz. (29,30)

A pesar de los diversos estudios realizados hasta la fecha no existe un marcador ideal, pero podemos tener en cuenta diversos marcadores ya existentes en suero que se han presentado en saliva. En este apartado hablaremos de los marcadores de COCE ya registrados y aquellos nuevos que representan un potencial marcador.

5.2 Marcadores salivales y sus técnicas de análisis

En comparación a la biopsia de tejido, los fluidos corporales han atraído más la atención para la identificación de biomarcadores, los fluidos como la sangre son una mejor opción para la detección y diagnóstico de enfermedades, debido a las ventajas de su accesibilidad, procedimiento poco invasivo, bajo costo y muestreo múltiple. Hasta ahora se han realizado cientos de investigaciones sobre los marcadores de COCE en fluidos corporales, los más confiables para su detección son incluyen la sangre y saliva. (Tabla 2)(17)



Proteómica salival

La saliva está preprogramada para tener una determinada composición en respuesta a diversos eventos en la cavidad bucal. Con los avances en espectrometría de masas, existe un desarrollo continuo en la proteómica salival y la búsqueda e identificación de marcadores de COCE. Este enfoque también se utiliza para identificar marcadores séricos en sangre, aunque estos niveles no eran los suficientemente sensibles para la detección y diagnóstico primarios, pueden ser significativos en recurrencia y pronóstico. (17)

Genómica salival.

El ADN específico del tumor en la saliva podría usarse como un biomarcador de COCE. Diversos estudios han demostrado que diversos cambios en el ADN Y ARN de diversas proteínas en la saliva pueden determinarse como posibles marcadores de cáncer oral. (Tabla 3) (17)

Marcadores de crecimiento tumoral

Telomerasa: a pesar de su alta expresión como marcador de COCE, los niveles en saliva no presentan una alta discrepancia entre las etapas clínicas tempranas o tardías e igualmente en pacientes con metástasis. Detectable a través de PCR-ELISA de telomerasa. (31,32)

ET-1: la familia de las endotelinas, son potentes vasoconstrictores que no solo participan en la biología vascular, sino también en diversos procesos incluyendo la inflamación, cicatrización y carcinogénesis. Se han reportado niveles elevados de ET-1mRNA y proteína ET-1 en cáncer oral, estos están asociados a un alto grado de agresividad, invasión y metástasis, pero lamentablemente sus niveles en saliva no parecen ser un buen marcador. (31,33)

TABLA 2.- BIOMARCADORES SALIVALES Y TÉCNICAS EMPLEADAS PARA SU ANÁLISIS			
Biomarcador	Técnica	Observaciones	Autor y año
8-Oxoguanina ADN glicosilada	ELISA	Disminuye.	Shpitzer, 2009
Ácido hidroxieicosatetraenoico	Cromatografía de gases, espectrometría de masas y la dilución de isótopos estables.	Aumentan, están involucrados en los procesos de metástasis e invasión tumoral.	Metzger, 1995
Carbonilos	Oxidación de proteínas	Aumentados, indica daño oxidativo de proteínas.	Shpitzer, 2009
Ciclina D1	ELISA	Aumenta, se relaciona con la progresión celular y mal pronóstico.	Shpitzer, 2009
Cistatinatruncada SA-I	SELDITOF	Aumenta, se relaciona con estadios de tumor.	Shintani, 2010
Cyfra 21-1	ELISA	Se relacionada con la recurrencia.	Zhong, 2007
DUSP1	PCR	Se aumentan en el cáncer oral.	Brinkmann, 2012
Endotelina-1	ELISA	Buen marcador para diagnosticar liquen plano.	Cheng, 2011
Fosfato sérico	ELISA	Disminuye.	Shpitzer, 2009
Galectinas 1, 3 y 7	Análisis inmunohistoquímico	Aumentada, relacionadas con la progresión del tumor.	Alves, 2011
Maspín	ELISA	Su disminución se relaciona con el crecimiento, progresión y metástasis.	Shpitzer, 2009
Interleuquina 1 beta	ELISA- PCR	Se aumentan en el cáncer oral.	Brinkmann, 2012 Elashoff, 2012
Interleuquina 8	ELISA- PCR	Se aumentan en el cáncer oral.	Brinkmann, 2012 Elashoff, 2012
Ki67	ELISA	Aumentan, relacionadas con la progresión celular y mal pronóstico	Shpitzer, 2009
Lactato deshidrogenasa	Espectrofotometría	Indicador de necrosis celular, se relaciona con el mal pronóstico y la recurrencia.	Shpitzer, 2009
M2BP	ELISA	Se eleva principalmente en estadios iniciales del cáncer oral.	Brinkmann, 2012 Elashoff, 2012
Metaloproteinasas 2 y 9	ELISA	Aumentan, relacionada con la metástasis.	Shpitzer, 2007, 2009
p53	PCR	Su disminución se asocia a la capacidad de aberraciones celulares.	Liao, 2000
S100P	Western Blot Espectrometría de masas	Se aumenta en el cáncer oral, se relaciona con la progresión, metástasis y angiogénesis.	Dowling, 2008
SAT1	PCR	Se aumentan en el cáncer oral.	Brinkmann, 2012 Elashoff, 2012
Telomerasa	PCR ELISA	Biomarcador de cáncer pero no diferencia estadio de la lesión.	Zhong, 2005
Transferrina	Eco-2D MALDI-TOF Western Blot y ELISA.	El aumento de los niveles salivales de transferrina se correlaciona con el tamaño y etapa del tumor.	Jou, 2010

Editado de: Biomarcadores de cáncer oral en saliva, Madera Anaya, Avances de Odontología 2013



Molécula	Saliva	
	Proteómica	Genómica
Albúmina	X a	
CA125	X b	
Catalasa	X d	
CD44	X d	X j
CD59	X d	
Cofilin-1	X e	
Cyfra 21-1	X b	
Endotelina-1	X g	
Glutación	X h	
IL-1 α	X c	
IL-1 β	X c	X m
IL-6	X c	
IL-8	X c	X m
M2PB	X c	
MRP14	X d	
Anticuerpo p53	X c	
Profilin	X d	
S100	X e	
Telomerasa	X i	X i
TNF- α	X c	
TPA	X c,f	
Transferrina	X e	
Transtiretina	X e	
α -amilasa	X a	
β fibrina	X e	
ADN (hipermetilación del promotor)		X k
DUSP1		X l
HA3		X l
S100P		X l
OAZ		X m
SAT		X m

*El método analítico utiliza un enfoque proteómico o genómico para la identificación de estos biomarcadores potenciales incluye. a. MALDI-MS b. Ensayo inmunoradiométricos c. ELISA d. Inmunoblot e. LC/MS f. TRFIA g. RT-PCR en tiempo real h.HPLC i. PCR y ELISA j. microarreglo de ADN k. PCR específica de metilación l. RT-PCR y microarreglos de ARN m. Reacción cuantitativa en cadena de la polimerasa en tiempo real y microarreglos de ARN. Tabla 3. Tomada y editada de Potential biomarkers in saliva for oral squamous cell carcinoma. Oral Oncology 2010



Ki-67: estudios han demostrado que los altos niveles de Ki-67 observados en saliva de pacientes con COCE están relacionados con la gravedad y un mal pronóstico. (31)

Galectinas: constituyen una familia de proteínas extremadamente conservadas durante la evolución. La intensa inmunoexpresión de galectinas 1, 3, 7,9 sugiere la participación de estas proteínas en la carcinogénesis oral y su uso como marcador de progresión del tumor del COCE. (31,34)

Marcadores de supresión tumoral

p53: Liao y colaboradores describen que la mutación del codón 63 del gen p53 en saliva podría ser un biomarcador de COCE. Además que la cantidad de ADN recuperado de la saliva en la mayoría de los casos es suficiente para permitir una amplificación por PCR que permita la búsqueda de mutaciones. (31,35)

Marcadores de invasión tumoral

MMP-2 Y MMP-9: metaloproteinasas asociadas al proceso de metástasis y estadios finales de la lesión. A pesar de ser considerados marcadores de COCE, a pesar de eso en estudios recientes se demostró que existe una incertidumbre considerable en torno al uso de biomarcadores salivales singulares para la detección del COCE. (31,36)

S100p (proteína de unión al calcio): se encuentra localizada en el citoplasma o núcleo celular y están implicadas en la regulación de diversos procesos celulares. En el cáncer oral aumenta se le relaciona con la progresión, metástasis y angiogénesis tumoral. (31)



Marcadores enzimáticos

LDH (lactato deshidrogenasa): es una enzima detectable en el citoplasma de casi todas las células del humano. Su expresión extracelular está relacionada con la necrosis celular y lesión tisular. Se considera que la expresión de LDH en saliva es predominante de origen extracelular, por consiguiente su concentración en saliva como expresión de necrosis celular podría ser un indicador específico de lesión oral. Lamentablemente es considerado un marcador inespecífico, ya que su elevación puede ser dada por diversos factores. (31)

Marcadores intracelulares

Cyfra-21: es un fragmento soluble de la citoqueratina 19 (CK19). Se ha sugerido que la liberación de Cyfra-21 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. A pesar de eso algunos estudios demuestran que su concentración en saliva no es de gran alcance para la predicción de supervivencia y al igual que el MMP-9 su expresión puede darse en diversas enfermedades y etapas celulares, es importante explorar su efectividad como biomarcador de diagnóstico en cada condición y correlacionar sus niveles en diversos biofluidos. (31,37)

Interleucinas (IL): son un conjunto de citoquinas reguladoras de la activación, diferenciación, proliferación y quimiotaxis celular del sistema inmune. Estas también activan anticuerpo y regulan a otras citocinas.

En el COCE se expresan mayormente las IL- 1 alfa y beta, IL4, IL6, IL8 e IL10. Estas favorecen la carcinogénesis, al promover la generación de radicales libres, la supervivencia e infiltración celular y la angiogénesis. Las Interleucinas más prometedoras como marcador salival son IL6 e IL8, ya que

han demostrado aumentos significativos en sujetos con COCE en comparación a controles sanos. (17, 31,38)

5.3 MicroRNAs (miRNAs) nuevos marcadores tumorales

Los microRNAs son pequeñas moléculas de ARN no codificantes de aproximadamente 22nucleotidos de longitud, que regulan la expresión genética a nivel pos-transcripcional. Generalmente se expresan de manera específica de tejido, y los cambios de expresión pueden correlacionarse con un estado de enfermedad. (Fig.3) (39,40)

Biogénesis del micro-ARN

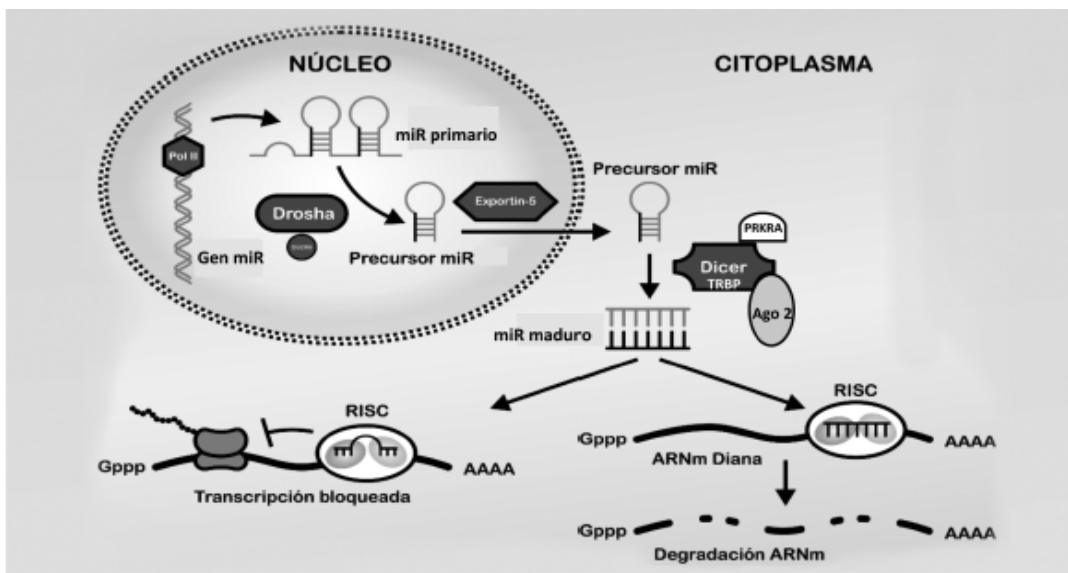


Fig.3 tomada de: ¿Qué son los microARNs?: posibles biomarcadores y dianas terapéuticas en la enfermedad osteoporótica. Rev Osteoporos Metab Miner 2016

Los miRNA representan un 2-3% del genoma humano y se calcula que pueden regular la expresión de aproximadamente un 60% de los genes, un solo miRNA puede regular alrededor de 200 transcritos diferentes, con la posibilidad de que cada uno actúe con una vía celular distinta. Los miRNA pueden secretarse a través de Ev y/o formando complejos de proteína-miRNA con moléculas como la lipoproteína de alta densidad y AGO2, formando parte del complejo RISC. Sus diversas características los hacen más prometedores



como biomarcadores de próxima generación para el diagnóstico y pronóstico del cáncer. (39,40)

Estudios anteriores sugieren que los trastornos potencialmente malignos comunes y las afecciones precancerosas, se correlacionan con miRNA aberrante, pero el mecanismo de transformación sigue sin estar claro. Sin embargo, la investigación de transformaciones neoplásicas desconocidas en busca de lesiones o afecciones precancerosas puede proporcionar una nueva perspectiva de los mecanismos de tumorigénesis. Además, la expresión diferencialmente significativa de miRNA entre tejido normal, posibles trastornos malignos y muestras cancerosas orales indica que el miRNA puede utilizarse como marcador de pronóstico independiente. (40)

Se han desarrollado marcadores de diagnóstico molecular para varios tumores y algunos biomarcadores se utilizan clínicamente. Sin embargo en COCE tiene pocos marcadores disponibles para el diagnóstico temprano. El uso de fluidos corporales como la saliva o el suero se ha mostrado muy prometedor en el diagnóstico temprano del cáncer, pero hay pocos datos que indiquen que transcripciones o proteínas salivales están reguladas al alza o baja en pacientes con cáncer. (41)

Diversas investigaciones han estudiado las diversas concentraciones de microARN en pacientes con COCE y se han demostrado una gran diferencia de niveles en pacientes con carcinogénesis y pacientes muestra (sanos).

Según Su Young Oh colaboradores su estudio aporta novedad al demostrar que los niveles de miRNA de MAOB, NAB2, COL3A1, NPIP4, CYP27A1 y SIAE se redujeron significativamente en la saliva de pacientes con cáncer oral. En el presente estudio, a medida que disminuía la edad del grupo de control y de los pacientes, la precisión de algunos miRNA candidatos como biomarcadores tendía a aumentar y variar de acuerdo a la edad, lo cual nos



da la edad como un factor a considerar en la evaluación de dichos marcadores. (42)

Según Gai C y colaboradores durante su estudio de se expresaron 8miARN exclusivamente solo en pacientes con COCE (miR-27a-3p, miR-302b-3p, miR-337-5p, miR-373-3p, miR-494-3p, miR-517b y miR-520d- 3p, miR-645) se evaluaron por medio de qRT-PCR. (41)

Estudios recientes han demostrado que la expresión aberrante de diferentes miRNA, como miR-195-5p, miR-375, miR-143, miR-26b, miR-155-5p y miR-483-5p, estaban asociados a cáncer oral. Por lo tanto, los miRNA pueden tener valor pronóstico y diagnostico en el cáncer oral y pueden servir como dianas para nuevas estrategias terapéuticas. (40)



6. CONCLUSIÓN

El uso de biomarcadores en la industria farmacológica, medicina clínica e investigación en general es parte del futuro, en especial en la creación de medicina personalizada, el avance en su estudio y utilidad promete una mejor calidad de vida y tratamientos en diversas afecciones, en especial en el cáncer para su detección e identificación temprana, así como el uso de fármacos más específicos para cada paciente.

El uso de marcadores en COCE es un tema muy prometedor, el uso de estos ayudaría a tener una detección temprana y así poder aumentar el índice de éxito en supervivencia. Lamentablemente el estudio es relativamente nuevo y con la existencia de múltiples biomarcadores presentes en diversos tipos de cáncer, se complica el poder definir marcadores específicos para cada uno. Por este motivo se ha apostado por el estudio de biomarcadores en saliva, tomando en consideración que es el fluido más cercano a la lesión, aunque también es complicado ya que este es un medio muy saturado de elementos, esto aunado al hecho de que existe una gran variedad de marcadores presentes en diversas lesiones orales complica la clasificación de marcadores específicos.



7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mattes WB, Goodsaid F. Regulatory landscapes for biomarkers and diagnostic tests: Qualification, approval, and role in clinical practice. *Exp Biol Med* (Maywood). 2018 Feb; 243(3):256-261. doi: 10.1177/1535370217739629. Epub 2017 Nov 7. PMID: 29110507; PMCID: PMC5813865.
2. Timothy P. Karpetsky, Richard L. Humphrey, Carl C. Levy. Influence of Renal Insufficiency on Levels of Serum Ribonuclease in Patients With Multiple Myeloma, *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*. 1977 April; 58(4): 875–880. <https://doi.org/10.1093/jnci/58.4.875>
3. Califf RM. Biomarker definitions and their applications. *Exp Biol Med* (Maywood). 2018; 243(3):213-221. doi:10.1177/1535370217750088
4. FDA-NIH Biomarker Working Group. BEST (Biomarkers, EndpointS, and other Tools) Resource. Silver Spring (MD): Food and Drug Administration (US); Bethesda (MD): National Institutes of Health (US), www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK326791/ (2016, accessed 22 September 2017)
5. Strimbu K, Tavel JA. What are biomarkers?. *Curr Opin HIV AIDS*. 2010; 5(6):463-466. doi:10.1097/COH.0b013e32833ed177
6. Yuxin Lin, Fuliang Qian, Li Shen, Feifei Chen, Jiajia Chen, Bairong Shen, Computer-aided biomarker discovery for precision medicine: data resources, models and applications, *Briefings in Bioinformatics*, 2019 May; 20(3):952–975, <https://doi.org/10.1093/bib/bbx158> PMID: 29194464.
7. Arango V Sandra S. Biomarcadores para la evaluación de riesgo en la salud humana. *Rev. Fac. Nac. Salud Pública*. 2012; 30(1):75-82. ISSN 2256-3334
8. Kraus VB. Biomarkers as drug development tools: discovery, validation, qualification and use. *Nature reviews Rheumatology*. 2018 Jun; 14(6):354–62. DOI: 10.1038/s41584-018-0005-9



9. Gimenez P. Peel C. Biomarcadores en la práctica clínica. Validación y verificación. *Dianas*. 2014 Jun; 3(1): e20140914. ISSN 1886-8746 journal. *dianas.e20140914* URI <http://hdl.handle.net/10017/15181>
10. Sauer JM, Porter AC; Biomarker Programs, Predictive Safety Testing Consortium. Preclinical biomarker qualification. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2018; 243(3):222-227. doi:10.1177/1535370217743949
11. Yadira V. Boza Oreamuno. Carcinoma oral de células escamosas diagnosticado precozmente: Reporte de caso y revisión de literatura. *ODOVTOS-International Journal of Dental Sciences*. 2017. ISSN: 1659-1046. DOI: <http://dx.doi.org/10.15517/ijds.v0i0.28074>
12. Equipo de redactores y editores médicos de la sociedad americana contra el cáncer. Acerca del cáncer de orofaringe y cavidad oral. Actualizado 9 de marzo 2019. Disponible en: <https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-orofaringe-y-de-cavidad-oral/acerca/que-es-cancer-de-cavidad-oral.html>
13. García F, Moran M. Carcinoma de células escamosas de la cavidad oral. *Protocolos clínicos de la Sociedad Española de Cirugía Oral y Maxilofacial*. España. 2006. ISBN: 84-690-0011-X
14. Barba EJ. Laboratorio clínico y oncología: De los aspectos básicos del cáncer a los tumores más frecuentes y la utilidad de los marcadores tumorales como métodos diagnósticos. *Rev Mex Patol Clin Med Lab*. 2013; 60(3): 166-196
15. Campo J., Cano J., López M., Palacios B., Sánchez J.J., Bascones A. Marcadores de senescencia celular en cáncer y precáncer oral. *Av Odontoestomatol*. 2008 Feb; 24(1): 69-80. ISSN 2340-3152.
16. Instituto Nacional del Cáncer, Marcadores tumorales, 6may2019. [https://www.cancer.gov/espanol/cancer/diagnostico-estadificacion/diagnostico/hoja-informativa-marcadores-de-tumores#:~:text=Un%20marcador%20tumoral%20es%20una,afecciones%20benignas%20\(no%20cancerosas\).](https://www.cancer.gov/espanol/cancer/diagnostico-estadificacion/diagnostico/hoja-informativa-marcadores-de-tumores#:~:text=Un%20marcador%20tumoral%20es%20una,afecciones%20benignas%20(no%20cancerosas).)



17. Chimenos E, Font I, López J. Riesgo de cáncer oral y marcadores moleculares. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2004; 9. ISSN 1698-4447
18. Wu J-Y, Yi C, Chung H-R, Wang D-J, Chang W-C, Lee S-Y, et al. Potential biomarkers in saliva for oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncology*. 2010 Jan 1; 46(4):226–31. DOI:10.1016/j.oraloncology.2020.01.007
19. Roussel, M. The INK4 family of cell cycle inhibitor in cáncer. *Oncogen*, 1999; 18: 5311-5317. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1202998>
20. Fernández B M, Mora E, Prerffeti C W, Verdecchia D, Tellez R, Sosa E. Estudio en la expresión del p16INK4a y ki67 en diagnóstico de lesiones intraepiteliales de cabeza y cuello informe preliminar. *Rev. Venezolana de Oncología*. 2017; 29(2). ISSN: 07980582, ISSN: 23436239
21. Romero M, Laserna E, Varo G, Alonso-Cerezo M, Orera M, Oncología personalizada: principales biomarcadores en el pronóstico y tratamiento de tumores sólidos, *Revista del Laboratorio Clínico*. 2019; 12(3): 1-e8, ISSN 1888-4008, <https://doi.org/10.1016/j.labcli.2018.11.001>.
22. Mustafa T, Eckert A, Klonisch T, Kehlen A, Maurer P, Klintschar M, Erhuma M, Zschoyan R, Gimm O, Dralle H. Expression of the epidermal growth factor seven-transmembrane member CD97 correlates with grading and staging in human oral squamous cell carcinomas. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2005 Jan; 14(1) 108-119; PMID: 15668483
23. Vidyasagar A, Wilson NA, Djamali A. Proteína de choque térmico 27 (HSP27): biomarcador de enfermedad y diana terapéutica. *Reparación de tejido de fibrogénesis*. 2012 7 de mayo; 5 (1): 7. doi: 10.1186 / 1755-1536-5-7. PMID: 22564335; PMCID: PMC3464729.
24. Saavedra Torres JS, Zúñiga Cerón LF, Freyre Bernal SB, Muñoz Ordoñez GW, Salguero C. El rol de VEGF en la angiogénesis fisiológica y *Medicina (Bogotá)*. 2017 julio; 39(3).
25. Coronato S, Languens G, Girolamo V. Rol de las metaloproteinasas y sus inhibidores en la patología tumoral. *MEDICINA (Buenos Aires)* 2012; 72: 495-502. ISSN 0025-7680



26. Sung Woon PYO, Mitsuyoshi HASHIMOTO, Young Sill KIM, Chang Hyen KIM, Sang Hwa LEE, Keith R. JOHNSON, Margaret J. WHEELOCK, Je Uk PARK. Expression of E-cadherin, P-cadherin and N-cadherin in oral squamous cell carcinoma: Correlation with the clinicopathologic features and patient outcome. *Journal of Cranio Maxillofacial Surgery*. 2007; 35(1):1-9. ISSN 1010-5182, <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2006.11.004>.
27. P.Y. Lin, C.H. Yu, J.T. Wang, H.H. Chen, S.J. Cheng, M.Y. Kuo, et al. Expression of hypoxia-inducible factor-1 alpha is significantly associated with the progression and prognosis of oral squamous cell carcinomas in Taiwan. *J Oral Pathol Med*. 2008; 37(1): 18-25
28. Fong, D., Spizzo, G., Gostner, J. et al. TROP2: a novel prognostic marker in squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Mod Pathol*. 2008; 21:186–191. <https://doi.org/10.1038/modpathol.3801001>
29. Chicago Yamano, Y., Uzawa, K., Shinozuka, K., Fushimi, K., Ishigami, T., Nomura, H., Ogawara, K., Shiiba, M., Yokoe, H., Tanzawa, H. Hyaluronan-mediated motility: a target in oral squamous cell carcinoma. *Int J Oncol*. 2008; 32(5): 1001-1009. <https://doi.org/10.3892/ijo.32.5.1001>
30. Mollaoglu N, Vairaktaris E, Nkenke E, Neukam FW, Ries J. Expression of MAGE-A12 in oral squamous cell carcinoma. *Dis Markers*. 2008; 24(1):27-32. doi:10.1155/2008/359840.
31. Shpitzer, T., Hamzany, Y., Bahar, G., Feinmesser, R., Savulescu, D., Borovoi, I., Gavish, M., & Nagler, R. M. Salivary analysis of oral cancer biomarkers. *British journal of cancer*. 2009; 101(7): 1194–1198. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6605290>
32. Madera Anaya MV. Biomarcadores de cáncer oral en saliva. *Avances en Odontoestomatología* 2013; 29 (6): 293-302.
33. Zhong, L. P., Chen, G. F., Xu, Z. F., Zhang, X., Ping, F. Y., & Zhao, S. F. Detection of telomerase activity in saliva from oral squamous cell carcinoma patients. *International journal of oral and maxillofacial surgery*. 2005; 34(5): 566–570. <https://doi.org/10.1016/j.ijom.2004.10.007>



34. Xiang, S., Denver, R., Bailey, M., & Krum, H. Physiologic determinants of endothelin concentrations in human saliva. *Clinical chemistry*. 2003; 49(12): 2012–2019. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2003.020875>
35. Kasamatsu, A., Uzawa, K., Nakashima, D., Koike, H., Shiiba, M., Bukawa, H., Yokoe, H., & Tanzawa, H. Galectin-9 as a regulator of cellular adhesion in human oral squamous cell carcinoma cell lines. *International journal of molecular medicine*. 2005; 16 (2): 269–273.
36. Liao, P. H., Chang, Y. C., Huang, M. F., Tai, K. W., & Chou, M. Y. Mutation of p53 gene codon 63 in saliva as a molecular marker for oral squamous cell carcinomas. *Oral oncology*. 2000; 36(3): 272–276. [https://doi.org/10.1016/s1368-8375\(00\)00005-1](https://doi.org/10.1016/s1368-8375(00)00005-1)
37. A.M. AlAli, T. Walsh, M. Maranzano. CYFRA 21-1 and MMP-9 as salivary biomarkers for the detection of oral squamous cell carcinoma: a systematic review of diagnostic test accuracy. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2020; 49(8): 973-983, ISSN 0901-5027, <https://doi.org/10.1016/j.ijom.2020.01.020>.
38. Salvatierra Cáceres E, Salinas Rodríguez J, Hidalgo Rivas A, Sánchez Astorga M. Capacidad diagnóstica de los biomarcadores salivales interleucinas 6 y 8 para el diagnóstico de carcinoma de células escamosas de cavidad oral. *Avances en Odontoestomatología*. 2017 Abr; 33(2): 67–75. ISSN 2340-3152
39. Giner M., Montoya M.J., Vázquez M.A., Miranda C., Miranda M.J., Pérez-Cano R. ¿Qué son los microARNs?: posibles biomarcadores y dianas terapéuticas en la enfermedad osteoporótica. *Rev Osteoporos Metab Miner*. 2016 Mar; 8(1): 40-44. ISSN 2173-2345
40. Gai C, Camussi F, Broccoletti R, et al. Salivary extracellular vesicle-associated miRNAs as potential biomarkers in oral squamous cell carcinoma. *BMC Cancer*. 2018; 18(1):439. doi:10.1186/s12885-018-4364-z
41. Fang C, Li Y. Prospective applications of microRNAs in oral cancer. *Oncol Lett*. 2019; 18(4):3974-3984. doi:10.3892/ol.2019.10751



42. Oh SY, Kang SM, Kang SH, et al. Potential Salivary mRNA Biomarkers for Early Detection of Oral Cancer. *J Clin Med.* 2020; 9(1):243. Published 2020 Jan 16. doi:10.3390/jcm9010243
43. Bermejo-Fenoll A, López-Jornet P. Diagnóstico diferencial de las lesiones exofíticas de los tejidos blandos orales. *Med. oral patol. oral cir. Bucal.* 2005 Dic; 10(5): 470-471. ISSN 1698-4447