

# Herramientas invasivas y no invasivas para el diagnóstico de cáncer oral. Revisión de la literatura.

## *Invasive and non-invasive tools for the diagnosis of oral cancer. Literature review.*

Hammurabi de Jesús Pérez Brito\*

### RESUMEN

El cáncer oral es una neoplasia frecuente a nivel mundial; su diagnóstico se realiza de forma tardía por lo menos en un 50-60% de los casos, lo que empeora el pronóstico de los pacientes, ya que a mayor estadio, mayor es la tasa de mortalidad. Por lo tanto, es fundamental contar con herramientas que permitan realizar un diagnóstico temprano y tratamiento oportuno, sobre todo cuando existen lesiones premalignas clínicamente identificables. En el presente estudio se revisan las herramientas invasivas y no invasivas (modernas y antiguas) que han demostrado utilidad para el diagnóstico de cáncer oral; se basan tanto en técnicas ampliamente disponibles en la práctica clínica como en otras aún no disponibles, pero que podrían implementarse con una apropiada coordinación entre el profesional dedicado a la clínica y los investigadores.

**Palabras clave:** Cáncer oral, biomarcadores, herramientas no invasivas, diagnóstico temprano.

### ABSTRACT

*Oral cancer is a neoplasm that is frequent on a worldwide level and is diagnosed late in at least 50-60% of the cases. Its late detection worsens the prognosis of patients because it is associated with a greater mortality. Therefore, it is essential to have tools that allow a timely diagnosis when premalignant lesions present and when there are no clinically identifiable premalignant lesions. In the present study, we review the invasive and non-invasive tools (modern and old) that have proven useful for the diagnosis of oral cancer; they are based both on techniques widely available in clinical practice and on techniques not yet available, but that could be implemented with appropriate coordination between the clinic professional and the researchers.*

**Key words:** Oral cancer, biomarkers, non-invasive tools, early diagnosis.

### INTRODUCCIÓN

El cáncer oral es un término general que se refiere a neoplasias que se originan en los tejidos orales. El sitio principal donde se originan los cánceres orales son los tejidos submucosos, el epitelio y las glándulas salivales menores. Otros sitios comunes del carcinoma oral son alvéolos dentales, lengua, mucosa bucal y áreas del surco gingivobucal.<sup>1</sup>

Se estima que anualmente, se diagnostican tan solo en Estados Unidos de Norteamérica alrededor de 40,000 nuevos casos de cáncer oral; mientras que a nivel mundial ocurren anualmente alrededor de 600,000 casos incidentales y 300,000 muertes.<sup>2</sup> El 90% de los cánceres orales

son carcinomas de células escamosas (COCE), subtipo que tiene una de las tasas de mortalidad más altas en comparación con otros carcinomas.<sup>3</sup>

Aunque una detección oportuna mejora el pronóstico y la cavidad oral es fácilmente accesible, un alto porcentaje de pacientes son detectados en etapas avanzadas, lo cual se asocia con bajas tasas de supervivencia.<sup>4</sup> Por ejemplo, en una serie de 103 pacientes, Chen y sus colaboradores reportaron que el 23.3% de los COCE fueron diagnosticados en estadio I, el 14.6% en estadio II, el 43.7% en estadio III y el 18.4% en estadio IV, con tasas de supervivencia a cinco años de 62, 80, 42 y 19%, respectivamente.<sup>5</sup>

Con la finalidad de detectar y tratar de forma oportuna, así como de mejorar la supervivencia de los pacientes, se han buscado intensamente biomarcadores para la detección de carcinoma oral, entre los que se encuentran marcadores proteicos, de ADN y de ARN.<sup>6</sup>

\* Cirujano Dentista adscrito al Servicio Médico Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Villahermosa, México.

Recibido: 26 Abril 2016. Aceptado para publicación: 01 Diciembre 2017.

Un biomarcador es una característica que se mide y evalúa objetivamente como un indicador de procesos biológicos normales, procesos patogénicos o respuestas farmacológicas a una intervención terapéutica. En el cáncer, un biomarcador es una molécula o característica indicativa de cáncer. El biomarcador puede ser una molécula secreta por un tumor o puede ser una respuesta específica del cuerpo a la presencia de cáncer. Los biomarcadores genéticos, epigenéticos, proteómicos, glicómicos e imagenológicos pueden utilizarse para establecer el diagnóstico y pronóstico del cáncer y pueden ensayarse en biofluidos no invasivamente recolectados (como la saliva) o en tejidos y fluidos recolectados de forma invasiva.<sup>7</sup> Los marcadores diagnósticos pueden estar presentes en cualquier etapa durante el desarrollo del cáncer; además, pueden ser específicos para una etapa, tejido, recaída, seguimiento y edad.<sup>8</sup>

Técnicas de imagen y óptica también se han propuesto para el diagnóstico de cáncer oral *in vivo*, incluyendo la fluorescencia multifotón *in vivo* y espectroscopia Raman, entre otras.<sup>9-11</sup> Por otro lado, es importante no ignorar los signos clínicos tempranos que sugieren la presencia de cáncer oral. Una herramienta sin costo que puede ayudar a una detección oportuna, frecuentemente es ignorada.<sup>12</sup>

En el presente estudio se revisan las herramientas invasivas y no invasivas que han demostrado utilidad en el diagnóstico de cáncer oral.

### HERRAMIENTAS NO INVASIVAS

Las herramientas diagnósticas no invasivas son aquéllas que no involucran instrumentos que rompan la piel o penetren físicamente en el cuerpo; incluyen estudios de imagen, radiografías, tomografía computarizada, resonancia magnética, monitoreo Holter, electrocardiograma y pruebas que se realizan a partir de fluidos como saliva, orina y lágrima, entre otros.<sup>13</sup>

Entre las herramientas para el diagnóstico precoz, se encuentra la detección de signos clínicos tempranos de carcinoma oral, como induración y fijación. Muchos COCE se presentan en una de las siguientes maneras: a) como una mancha roja (eritroplasia), b) como una mancha blanca (leucoplasia), c) como una lesión ulcerosa endofítica o, menos comúnmente, d) como una masa más exofítica con márgenes rodados, ulceración central y friabilidad de tejido.<sup>14,15</sup>

Las características de advertencia de carcinoma oral pueden ser lesiones rojas (eritroplasia), lesiones mixtas rojas y blancas, una protuberancia endurecida o úlcera, úlcera con fisura, márgenes exofíticos elevados, dolor o entumecimiento, pérdida de piezas dentarias, un hueco

de extracción no cicatrizante, la fijación de tejidos a la mucosa profunda o superpuesta, agrandamiento de ganglios linfáticos, disfagia y pérdida de peso. El dolor bucal, por su parte, ha sido reportado como uno de los primeros síntomas de cáncer oral.<sup>16</sup>

También se ha despertado el interés por la búsqueda de biomarcadores de cáncer oral en saliva por su contacto directo con la lesión neoplásica, su facilidad de obtención, reproducibilidad y el nulo riesgo de contaminación e infección. Entre los biomarcadores que se han encontrado útiles en saliva se encuentran el CD44 soluble (sCD44), las proteínas Cyfra 21-1, TPS, CA-125, M2BP, MRP14, CD59, catalasa y profilina.<sup>17-19</sup> Otros marcadores no invasivos incluyen las citocinas proinflamatorias IL-8 e IL-1 $\beta$ , la defensina 1, así como los trascritos (mRNA) de DUSP1, HA3, OAZ1, S100P, y SAT (*Cuadro I*).<sup>20-23</sup> De hecho, en México se cuenta con los equipos y personal capacitado para la determinación de estos biomarcadores por ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*), reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa en tiempo real (RT-qPCR), cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y espectrometría de masas (MS).

Otra técnica no invasiva es la fluorescencia multifotónica, que evalúa *in vivo* los cambios epiteliales y subepiteliales, y alcanza una buena concordancia histopatológica (*Cuadro I*).<sup>9</sup> La espectroscopia RAMAN<sup>‡</sup> es una tecnología para la detección de compuestos en mezclas como suero (invasivo) o saliva (no invasivo) mediante una técnica fotónica de alta resolución, en la que al incidir un haz de luz monocromática sobre una mezcla, los componentes de esta dispersan la luz; la luz dispersada es detectada en forma de espectros, cada uno de los cuales corresponde a una molécula.<sup>24</sup> Ambas técnicas (fluorescencia multifotónica y RAMAN) están disponibles en algunos centros de investigación de México, lo cual facilitaría su implementación como herramientas diagnósticas con las validaciones apropiadas.

Las mayores sensibilidades para pruebas no invasivas se reportaron para sCD44 (100%), para la combinación de los trascritos de IL8, IL1B, DUSP1, HA3, OAZ1, S100P y SAT (91%), para la combinación de M2BP, MRP14, CD59, catalasa y profilina (90%), para la espectroscopia RAMAN (89%) y para la fluorescencia multifotónica *in vivo* (89%).

### HERRAMIENTAS INVASIVAS

Se considera una herramienta diagnóstica invasiva aquélla que requiere de instrumentos que rompan piel, mucosas

<sup>‡</sup> Nota del editor: Llamada así por CV Raman, es una técnica espectroscópica usada en química y física.

Cuadro I. Técnicas y biomarcadores no invasivos para diagnóstico de cáncer oral.

Autor	Biomarcador técnica	Descripción	Hallazgos
Ghalwash et al. <sup>17</sup>	sCD44 por ELISA	Cuantificación en saliva del sCD44 en pacientes con lesiones premalignas (queratosis del fumador, leucoplasia, liquen plano ulcerado o atrófico)	Niveles de sCD44 de 19.2 a 20.4 ng/mL indican transformación maligna con una sensibilidad y especificidad de 100.0 y 66.7%, respectivamente
Nagler et al. <sup>18</sup>	Cyfra 21-1, TPS y CA-125 por ELISA	Cuantificación en saliva de Cyfra 21-1, TPS y CA-125	Cyfra 21-1, TPS y CA-125 se elevaron 400% en pacientes con cáncer oral. La sensibilidad (S), especificidad (E) y valores predictivos positivos (VPP) y negativos (VPN) de los tres marcadores en conjunto fueron de 71, 75, 71 y 75%, respectivamente
Hu et al. 2008 <sup>19</sup>	Detección en saliva de proteómica de M2BP, MRP14, CD59, catalasa y profilina	Análisis proteómico de escopeta basado en: a) cromatografía líquida de fase inversa C4 para prefractionamiento, b) cromatografía líquida de fase inversa capilar con espectrometría de masas cuádruple de tiempo de vuelo y c) búsqueda de secuencias de Mascot en bases de datos	La combinación de los cinco marcadores logró un área bajo la curva de 93%, con sensibilidad de 90% y especificidad de 83% para detectar cáncer oral de células escamosas
Gleber et al. 2016 <sup>20</sup>	IL-8p, IL-1B por ELISA	Cuantificación de niveles proteicos de IL-8, IL-1B por ELISA en saliva	IL-8 sólo tiene una ABC de 0.749; la combinación de IL-8 e IL-1B de 0.817
Brinkmann et al. 2011 <sup>21</sup>	IL8, IL1B, SAT1, S100P por PCR e IL1B, IL8, M2BP por ELISA	La combinación de cuatro marcadores transcritómicos por PCR (IL8, IL1B, SAT1, S100P) y tres proteicos por ELISA (IL1B, IL8, y M2BP)	La combinación de los siete marcadores dio una ABC para carcinoma de células escamosas, T1-T2 y T3-T4 de 0.86, 0.85 y 0.88, respectivamente
Li et al. 2004 <sup>22</sup>	Trascritos de IL8, IL1B, DUSP1, HA3, OAZ1, S100P, y SAT	Detección de niveles de RNAm de IL8, IL1B, DUSP1, HA3, OAZ1, S100P y SAT por RT-PCRq	La elevación de al menos 3.5 veces en la expresión de IL8, IL1B, DUSP1, HA3, OAZ1, S100P y SAT tuvo una sensibilidad de 91% y especificidad de 91% para la detección de carcinoma oral de células escamosas
Misukawa et al. 1998 <sup>23</sup>	Detección de defensina-1 en saliva por HPLC	Mediante cromatografía líquida de alta resolución y espectrometría de masas se identificó y cuantificó la defensina-1	Los niveles elevados son propios del carcinoma oral de células escamosas y se reducen tras la extirpación del tumor, pero es apenas detectable en sujetos sanos y en pacientes con adenocarcinoma
Arellano et al. <sup>24</sup>	IL-8 e IL-1β por perfil de multianálisis Luminex y ELISA	Cuantificación de IL-8 e IL-1β a partir de saliva	Diagnóstico de cáncer oral con una ABC de 0.8 para IL-8 y de 0.77 para IL-1β, una S de 75 y 75% y una E de 80 y 80% para IL-8 y IL-1β, respectivamente
Connolly et al. 2016 <sup>25</sup>	Espectroscopia RAMAN	Mediante un análisis multivariado (incluido análisis de componentes principales, análisis lineal discriminante y regresión logística) de 180 espectros RAMAN en saliva y 120 espectros RAMAN en células orales descamadas se busca discriminar entre el perfil de espectros de pacientes sanos y con cáncer oral	Sensibilidad de 89 y 68% en saliva y células descamadas, respectivamente. Especificidad de 73 y 60%, respectivamente, para el diagnóstico de cáncer oral
Wilder-Smith et al. <sup>9</sup>	Fluorescencia multifotónica <i>in vivo</i>	Mapea cambios epiteliales y subepiteliales con base en los cuales puede detectar el cáncer oral	Concordancia de 88.6% con diagnóstico histopatológico

CEA = Antígeno carcinoembrionario; CA-125 = Antígeno para cáncer-125; Cyfra 21.1 = Fragmento de citoqueratina 19; TPS = Antígeno específico de polipéptido tisular; ELISA = Inmunoensayo ligado a enzimas; RT-PCRq = Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa en tiempo real; DUSP1 = Fosfatasa específica dual-1; OAZ1 = Antienzima de ornitina descarboxilasa 1; S100P = Proteína P de unión a calcio S100; SAT = Espermidina/espermina N1-acetiltransferasa. M2BP = Proteína de unión a 90 K/Mac-2; MRP14 = Proteína 14 relacionada al factor inhibitorio de la migración.

Cuadro II. Técnicas y biomarcadores invasivos para diagnóstico de cáncer oral.

Autor	Biomarcador	Técnica	Hallazgos
Kurokawa et al. 1993 <sup>26</sup>	CEA, SCCA e IAP por ELISA	Cuantificación en suero de estos marcadores por ELISA	La combinación de estas proteínas tiene una sensibilidad de 69.0% y una precisión de 90.3% para el diagnóstico de cáncer oral
Kurokawa et al. 1997 <sup>27</sup>	CEA, SCCA, IAP y CYFRA	Cuantificación en suero de estos marcadores por ELISA	La combinación de estos cuatro marcadores tiene una sensibilidad de 81.0% y una especificidad de 77.8% para el diagnóstico de cáncer oral
Krimmel et al. 1998 <sup>28</sup>	SCC-Ag por ELISA	El 50% de los pacientes con recaída tienen elevación sérica uno o dos meses antes del diagnóstico de recaída	Sensibilidad del 50% para recaídas de cáncer oral
Sakata et al. <sup>29</sup>	SMAD4 por inmunohistoquímica (IH)	IH realizada a partir de tejido de leucoplasia o tumor obtenido por biopsia incisional	La combinación de baja expresión de SMAD4 junto a infiltración estromal de linfocitos predice transformación maligna de leucoplasia oral
Garnis et al. <sup>30</sup>	Hibridación genómica comparativa	A partir de bloques de tejido embebidos en parafina, las células de las lesiones orales premalignas fueron microdisecadas y el ADN fue extraído para realizar microarreglos con capacidad de detectar 26,363 secuencias de ADN	Se pudo demostrar un patrón genómico distinto entre lesiones premalignas que progresaron y que no progresaron a malignas. Las células de las lesiones que progresaron a malignidad presentaban alteraciones genómicas desde etapas iniciales, no así las que no progresaron
Lajer et al. <sup>31</sup>	Microarreglos para detección de microRNA en biopsias	Mediante análisis de microarreglos, se evaluó la expresión de 114 miRNA, de los cuales 61 microRNA resultaron expresarse a la alza o a la baja	Mediante un sistema de clasificación de 61 miRNA, se logró una precisión de 93% para el diagnóstico de carcinoma oral de células escamosas
Bhat et al. <sup>32</sup>	Hipermetilación de islas CpG	Análisis del nivel de metilación en islas CpG de promotores de algunos genes en biopsias primarias	La hipermetilación de islas CpG de los promotores de los genes DAPK1, LRPPRC y ZNF471 tuvieron un área bajo la curva (ABC) de 0.95, 0.87, 1.0 y 0.85, respectivamente para diagnóstico de carcinoma de células escamosas, con una sensibilidad de 74.6, 80, y 83.3% y especificidad de 92, 82, y 92%, respectivamente
El-Naggar et al. <sup>33</sup>	Pérdida de heterocigosidad en regiones cromosómicas	Pérdida de regiones cromosómicas específicas que contienen genes supresores de tumor en tejido de lesiones orales premalignas	El 49% de las salivas de pacientes que progresaron a cáncer oral tienen pérdida de heterocigosidad en al menos uno de 25 marcadores
Sahu et al. 2015 <sup>34</sup>	Espectros RAMAN de moléculas en suero	Identificación de espectros RAMAN de aminoácidos, lípidos, proteínas, ADN y B-carotenos con análisis discriminante de componentes principales	Sensibilidad de 64% y especificidad de 80% para el diagnóstico de cáncer oral

CEA = Antígeno carcinoembrionario; SCCA = Antígeno de carcinoma de células escamosas; IAP = Proteína ácida inmunosupresora.

o que penetren físicamente en el cuerpo, incluyendo las biopsias incisionales, la punción de una vena o arteria, entre otros.<sup>13</sup>

Todas aquellas herramientas que cuantifican o detectan marcadores diagnósticos a partir de suero, biopsias o tejidos parafinados se consideran invasivas. La identificación en suero de marcadores es uno de los enfoques más estudiados para el diagnóstico de cáncer oral; entre ellos, se han identificado el CEA, SCCA, IAP y CYFRA.<sup>5</sup> La combinación de los primeros tres o de los cuatro juntos ha demostrado sensibilidad de 69 y 81%, respectivamente.<sup>26,27</sup> Mientras que el SCC-Ag en suero permite identificar al 50% de los pacientes uno o dos meses antes de la recaída.<sup>28</sup> La técnica empleada para la cuantificación de los marcadores antes mencionados (ELISA) está disponible prácticamente en cualquier hospital regional o de referencia y en la mayoría de laboratorios de análisis clínicos.

Una herramienta también disponible es la inmunohistoquímica (IH), la cual permite la identificación de proteínas específicas en los bloques de tejidos parafinados. De hecho, la identificación de SMAD-4 por IH en tejido de leucoplasia o tumor obtenido por biopsia incisional junto a infiltración estromal de linfocitos predice transformación maligna de leucoplasia oral.<sup>29</sup>

Otras pruebas a partir de tejidos parafinados incluyen la realización de microarreglos para detectar decenas de miles secuencias de ADN, que al compararse con bibliotecas genómicas permiten identificar un perfil de expresión específico en lesiones premalignas que progresarán a malignidad, de acuerdo con lo reportado por Garnis y colaboradores.<sup>30</sup> Los microarreglos a partir de biopsia incisional también permiten identificar 61 microRNA que son expresados de forma diferencial en tejido oral neoplásico y sano con una precisión de 93% para el diagnóstico de carcinoma oral de células escamosas.<sup>31</sup>

Existen pruebas invasivas que utilizan técnicas genómicas para identificar en biopsias la hipermetilación de islas CpG en promotores de los genes DAPK1, LRPPRC, RAB6C y ZNF471; éstas tienen una sensibilidad diagnóstica para carcinoma de células escamosas de 74.6, 80, y 83.3%, y una especificidad de 92, 82, y 92%, respectivamente.<sup>32</sup> Por otro lado, a partir de biopsias de lesiones premalignas, se pueden identificar pérdidas de 25 regiones cromosómicas específicas que contienen genes supresores de tumores en al menos el 49% de los pacientes que progresaron a cáncer oral.<sup>33</sup> La espectroscopia RAMAN en suero permite identificar espectros RAMAN

<sup>5</sup> Nota del editor: Citoqueratina de 19 elementos (CYFRA) 21-1.

de aminoácidos, lípidos, proteínas, ADN y B-carotenos, y con análisis discriminante de componentes principales, puede detectar cáncer oral con sensibilidad de 64% y especificidad de 80%.<sup>34</sup>

De las pruebas invasivas, la de mejor especificidad fue la detección de hipermetilación de islas CpG de los genes DAPK1 y ZNF471 (92 y 92%, respectivamente), seguida de la cuantificación en suero de CEA, SCCA e IAP por ELISA (especificidad de 90.3%) (Cuadro II).<sup>26,34</sup>

### Estrategias para la implementación clínica de técnicas no invasivas e invasivas

Como muchos descubrimientos en biomedicina y ciencias de la salud, un sinnúmero de hallazgos interesantes e importantes no son trasladados a aplicaciones clínicas ni se traducen en nuevas conductas diagnósticas o terapéuticas. Por lo tanto, es fundamental tener e implementar estrategias para la aplicación de los descubrimientos a la práctica clínica.<sup>35</sup>

Específicamente en el caso del diagnóstico de cáncer oral, los marcadores no invasivos o los invasivos que no requieren de biopsia con la mejor sensibilidad y especificidad son los que deberían llevarse a validación y aplicación clínica. Para ello, es fundamental la colaboración de los estomatólogos, cirujanos dentistas, cirujanos maxilofaciales y médicos de todas las especialidades con los investigadores de las áreas químico-biológicas, biomédicas y de ciencias de la salud, incluyendo aquéllos con dominio de la biología molecular, química clínica, proteómica y patología, para lograr, en primera instancia, estandarizar las técnicas moleculares, bioquímicas, de patología, proteómicas y ópticas que permitan la detección de biomarcadores. Esto debe incluir la estandarización de la recolección de muestras, su procesamiento y almacenamiento,<sup>36</sup> seguido de la validación en la población mexicana de las pruebas con la mejor capacidad diagnóstica previamente reportada, ya que se han descrito variaciones leves a moderadas entre poblaciones y razas en los niveles de los biomarcadores, lo cual afectaría su sensibilidad y especificidad.<sup>37</sup>

### DISCUSIÓN

Existen biomarcadores que, aunque no se usan de forma rutinaria, tienen una elevada sensibilidad, como el sCD44 en saliva (100%) y otros con una elevada especificidad, como la hipermetilación de islas CpG del promotor de los genes DAPK1 y ZNF471 en biopsias (92%), que combinadas representarían excelentes pruebas diagnósticas.



Otras pruebas no invasivas solas, como la fluorescencia multifotónica *in vivo*, representarían excelentes pruebas de tamizaje que de forma rápida permiten detectar nueve de cada 10 casos de cáncer oral, y aunque aún no están disponibles como pruebas de rutina, sería de utilidad su validación en grandes series de pacientes y su uso de rutina entre aquéllos con lesiones premalignas o con potencialmente malignas. Entre las pruebas que podrían ayudar a determinar las lesiones premalignas con alto riesgo de progresión a malignidad se encuentra la hibridación genómica comparativa realizada en biopsias parafinadas de las lesiones.

### CONCLUSIONES

Para lograr la traslación de los métodos invasivos y no invasivos a la práctica clínica diaria es fundamental la coordinación de los profesionales del área de estomatología, cirugía maxilofacial, oncología, patología y otras especialidades médicas con los investigadores y laboratorios de patología, inmunología y biología molecular del país, con la finalidad de llevar a cabo la validación e implementación clínica de los marcadores con la mejor capacidad predictora.

### BIBLIOGRAFÍA

- Bisen PS, Khan Z, Bundela S. Biology of oral cancer. Key apoptotic regulators. Boca Raton Florida, USA: CRC Press Taylor & Francis Group; 2014. p. 49.
- Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin.* 2010; 60 (5): 277-300.
- Radhika T, Jeddy N, Nithya S, Muthumeenakshi RM. Salivary biomarkers in oral squamous cell carcinoma —An insight. *J Oral Biol Craniofac Res.* 2016; 6 (Suppl 1): S51-S54.
- Baykul T, Yilmaz HH, Aydin U, Aydin MA, Aksoy M, Yildirim D. Early diagnosis of oral cancer. *J Int Med Res.* 2010; 38 (3): 737-749.
- Chen GS, Chen CH. A study on survival rates of oral squamous cell carcinoma. *Kaohsiung J Med Sci.* 1996; 12 (6): 317-325.
- Sciubba JJ. Oral cancer. The importance of early diagnosis and treatment. *Am J Clin Dermatol.* 2001; 2 (4): 239-251.
- Mishra A, Verma M. Cancer biomarkers: are we ready for the prime time? *Cancers (Basel).* 2010; 2 (1): 190-208.
- Habis AH, Vernon SD, Lee DR, Verma M, Unger ER. Molecular quality of exfoliated cervical cells: implications for molecular epidemiology and biomarker discovery. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2004; 13 (3): 492-496.
- Wilder-Smith P, Osann K, Hanna N, El Abbadi N, Brenner M, Messadi D et al. *In vivo* multiphoton fluorescence imaging: a novel approach to oral malignancy. *Lasers Surg Med.* 2004; 35 (2): 96-103.
- Oliveira AP, Bitar RA, Silveira L, Zângaro RA, Martin AA. Near-infrared Raman spectroscopy for oral carcinoma diagnosis. *Photomed Laser Surg.* 2006; 24 (3): 348-353.
- Harris AT, Lungari A, Needham CJ, Smith SL, Lones MA, Fisher SE et al. Potential for Raman spectroscopy to provide cancer screening using a peripheral blood sample. *Head Neck Oncol.* 2009; 1: 34.
- Adeyemi BF, Kolude B. Clinical presentation of oral squamous cell carcinoma. *Niger Postgrad Med J.* 2013; 20 (2): 108-110.
- Vorvick LJ. No invasivo. Enciclopedia médica de la Biblioteca Nacional de Medicina de Estados Unidos de Norteamérica. Tomado de: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/002269.htm>
- Vokes EE, Weichselbaum RR, Lippman SM, Hong WK. Head and neck cancer. *N Engl J Med.* 1993; 328 (3): 184-194.
- Neville BW, Day TA. Oral cancer and precancerous lesions. *CA Cancer J Clin.* 2002; 52 (4): 195-215.
- Scully C, Bagan JV, Hopper C, Epstein JB. Oral cancer: current and future diagnostic techniques. *Am J Dent.* 2008; 21 (4): 199-209.
- Ghalwash DM, El Gaaly K, Zahran FM, Shaker O, El-Fol HA. The diagnostic and prognostic value of salivary sCD44 level determination in oral malignant and potentially premalignant lesions. *Advances in Environmental Biology.* 2012; 6 (1): 302-310.
- Nagler RM, Barak M, Peled M, Ben-Aryeh H, Filatov M, Laufer D. Early diagnosis and treatment monitoring roles of tumor markers Cyfra 21-1 and TPS in oral squamous cell carcinoma. *Cancer.* 1999; 85 (5): 1018-1025.
- Hu S, Arellano M, Boontheung P, Wang J, Zhou H, Jiang J et al. Salivary proteomics for oral cancer biomarker discovery. *Clin Cancer Res.* 2008; 14 (19): 6246-6252.
- Gleber-Netto FO, Yakob M, Li F, Feng Z, Dai J, Kao HK et al. Salivary biomarkers for detection of oral squamous cell carcinoma in a Taiwanese population. *Clin Cancer Res.* 2016; 22 (13): 3340-3347.
- Brinkmann O, Kastratovic DA, Dimitrijevic MV, Konstantinovic VS, Jelovac DB, Antic J et al. Oral squamous cell carcinoma detection by salivary biomarkers in a Serbian population. *Oral Oncol.* 2011; 47 (1): 51-55.
- Li Y, St John MA, Zhou X, Kim Y, Sinha U, Jordan RC et al. Salivary transcriptome diagnostics for oral cancer detection. *Clin Cancer Res.* 2004; 10 (24): 8442-8450.
- Mizukawa N, Sugiyama K, Fukunaga J, Ueno T, Mishima K, Takagi S et al. Defensin-1, a peptide detected in the saliva of oral squamous cell carcinoma patients. *Anticancer Res.* 1998; 18 (6B): 4645-4649.
- Arellano-Garcia ME, Hu S, Wang J, Henson B, Zhou H, Chia D et al. Multiplexed immunobead-based assay for detection of oral cancer protein biomarkers in saliva. *Oral Dis.* 2008; 14 (8): 705-712.
- Connolly JM, Davies K, Kazakeviciute A, Wheatley AM, Dockery P, Keogh I et al. Non-invasive and label-free detection of oral squamous cell carcinoma using saliva surface-enhanced Raman spectroscopy and multivariate analysis. *Nanomedicine.* 2016; 12 (6): 1593-1601.
- Kurokawa H, Tsuru S, Okada M, Nakamura T, Kajiyama M. Evaluation of tumor markers in patients with squamous cell carcinoma in the oral cavity. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1993; 22 (1): 35-38.
- Kurokawa H, Yamashita Y, Tokudome S, Kajiyama M. Combination assay for tumor markers in oral squamous cell carcinoma. *J Oral Maxillofac Surg.* 1997; 55 (9): 964-966.
- Krimmel M, Hoffmann J, Krimmel C, Cornelius CP, Schwenzer N. Relevance of SCC-Ag, CEA, CA 19.9 and CA 125 for diagnosis and follow-up in oral cancer. *J Craniomaxillofac Surg.* 1998; 26 (4): 243-248.
- Sakata J, Yoshida R, Matsuoka Y, Nagata M, Hirose A, Kawahara K et al. Predictive value of the combination of SMAD4 expression and lymphocyte infiltration in malignant transformation of oral leukoplakia. *Cancer Med.* 2017; 6 (4): 730-738.

30. Garnis C, Chari R, Buys TP, Zhang L, Ng RT, Rosin MP et al. Genomic imbalances in precancerous tissues signal oral cancer risk. *Mol Cancer*. 2009; 8: 50.
31. Lajer CB, Nielsen FC, Friis-Hansen L, Norrild B, Borup R, Garnæs E et al. Different miRNA signatures of oral and pharyngeal squamous cell carcinomas: a prospective translational study. *Br J Cancer*. 2011; 104 (5): 830-840.
32. Bhat S, Kabekkodu SP, Jayaprakash C, Radhakrishnan R, Ray S, Satyamoorthy K. Gene promoter-associated CpG island hypermethylation in squamous cell carcinoma of the tongue. *Virchows Arch*. 2017; 470 (4): 445-454.
33. El-Naggar AK, Mao L, Staerke G, Coombes MM, Tucker SL, Luna MA et al. Genetic heterogeneity in saliva from patients with oral squamous carcinomas: implications in molecular diagnosis and screening. *J Mol Diagn*. 2001; 3 (4): 164-170.
34. Sahu AK, Dhoot S, Singh A, Sawant SS, Nandakumar N, Talathi-Desai S et al. Oral cancer screening: serum Raman spectroscopic approach. *J Biomed Opt*. 2015; 20 (11): 115006.
35. Bailey AM, Mao Y, Zeng J, Holla V, Johnson A, Brusco L et al. Implementation of biomarker-driven cancer therapy: existing tools and remaining gaps. *Discov Med*. 2014; 17 (92): 101-114.
36. Bigler LR, Streckfus CF, Dubinsky WP. Salivary biomarkers for the detection of malignant tumors that are remote from the oral cavity. *Clin Lab Med*. 2009; 29 (1): 71-85.
37. Beckman RA, Chen C. Efficient, adaptive clinical validation of predictive biomarkers in cancer therapeutic development. *Adv Exp Med Biol*. 2015; 867: 81-90.

Correspondencia:

**Dr. Hammurabi de Jesús Pérez Brito**

Mariano Arista Núm. 110,  
Col. Municipal, 86090,  
Villahermosa, Tabasco.  
Teléfono: 9931647164  
E-mail: ediel\_hj@hotmail.com