

Nanochips y nanosensores para el diagnóstico temprano de cáncer oral: una revisión

Nanochips and Nanosensors for Early Oral Cancer Diagnosis: A Review

131

Univ Odontol. 2012 Jul-Dic; 31(67): 131-147. ISSN 0120-4319

PRÁCTICA CLÍNICA

Bryan Aldemar Méndez López
Odontólogo, Universidad Nacional de
Colombia, Bogotá, Colombia

Claudia Patricia Muñoz Chamorro
Odontóloga, Universidad Nacional de
Colombia, Bogotá, Colombia

RESUMEN

Antecedentes: El cáncer oral es una de las enfermedades más agresivas y con mayor probabilidad de metástasis; en estadios iniciales es generalmente indetectable y de baja consulta, por lo que se dificulta realizar un tratamiento conservador. Existen diversas técnicas de laboratorio con base en microscopía (como inmunofluorescencia), inmunohistoquímica y otras que facilitan el diagnóstico temprano de la enfermedad. Adicionalmente, los avances en nanomedicina brindan nuevas herramientas de detección a partir de cambios moleculares (biomarcadores) que presentan las células en proceso de malignización. **Objetivo:** Describir las características clínicas y moleculares de lesiones premalignas y cáncer oral y los métodos de diagnóstico usando nanotecnología (nanochips, nanosensores, etc.), como un método eficaz para la detección temprana del cáncer. **Método:** Se buscó literatura sobre nanotecnología y diagnóstico de cáncer oral en bases de datos como Science Direct y PubMed; la información de cada uno de los artículos se sintetizó con resúmenes individuales por los investigadores, se agrupó y redactó. **Resultados:** Se seleccionaron 46 artículos que, de acuerdo con su contenido, se agruparon según su temática principal; toda la información se relacionó en una tabla por subtemas en Excel® 2007. **Conclusiones:** La literatura revisada sugiere que las herramientas nanotecnológicas pueden ser una alternativa útil y rápida, aunque por el momento costosa, para la detección puntual de biomarcadores presentes en estadios iniciales del cáncer oral. Cabe mencionar que su aplicación clínica en países como Colombia es limitada por factores como insuficientes recursos asignados a la investigación y poca investigación en esta temática.

PALABRAS CLAVE

Biomarcadores, cáncer oral, detección temprana del cáncer, diagnóstico, nanochips, nanomedicina.

ÁREAS TEMÁTICAS

Medicina oral, nanotecnología, oncología, técnicas químicas analíticas, tecnología biomédica.

ABSTRACT

Background: Oral cancer is one of the most aggressive diseases with a high likelihood of metastases; it is undetectable during initial stages with low medical visits, making it difficult to provide conservative treatment. Several techniques such as microscopy (using for instance immunofluorescence) and immunohistochemistry make early diagnosis and cancer detection easier. In addition, advances in nanomedicine offer new tools to detect molecular changes (biological markers/biomarkers) in cells during a malignant process. **Purpose:** Describe molecular and clinic characteristics of premalignant lesions and oral cancer, as well as techniques involving nanotechnology (lab-on-a-chip devices, nanosensors, etc.) as effective methods for early cancer diagnosis. **Methods:** A literature review on nanotechnology and oral cancer using databases such as Science Direct and PubMed was carried out; data from each article were summarized, grouped, and described. **Results:** 46 articles were selected and grouped according to their main topic; data were compiled in an Excel 2007 spreadsheet. **Conclusions:** The literature reviewed suggests that tools using nanotechnology can be a useful and a quick alternative, though expensive, to detect specific biomarkers that are present in early stages of oral cancer. It is important to point out that their clinical use in countries like Colombia is still limited by factors like the lack of resources allocated for research and the little research carried out on this subject.

KEY WORDS

Biological markers, diagnostics, early cancer detection, mouth neoplasm, nanochips, nanomedicine.

THEMATIC FIELDS

Analytical chemistry techniques, biomedical technology, nanotechnology, oncology, oral medicine.

Investigación de origen institucional por la
asignatura Nanotecnología y Medicina, Facultad
de Medicina, Universidad Nacional de Colombia,
Bogotá, Colombia.

CÓMO CITAR ESTE ARTÍCULO
Méndez BA, Muñoz CP. Nanochips y
nanosensores para el diagnóstico temprano de
cáncer oral: una revisión. Univ Odontol. 2012 Jul-
Dic; 31(67): 131-147

Recibido para publicación: 26-06-2012
Recibido con correcciones: 30-09-2012
Aceptado para publicación: 14-10-2012

Disponible en: <http://www.javeriana.edu.co/universitasodontologica>

INTRODUCCIÓN

El cáncer oral escamocelular (COEC) es una enfermedad mortal y deformante (1-4) que surge en la capa epitelial de la mucosa de cavidad oral (5), es el undécimo cáncer más común (5) y afecta a más de 200.000 personas al año en todo el mundo (1,3). Más del 90% de los cánceres orales son carcinomas escamocelulares (5-7), el 10% restante consiste en tumores malignos de glándulas salivares, melanomas, sarcomas de tejidos blandos y hueso mandibular, linfomas no Hodgkin, tumores malignos odontogénicos y metástasis de cánceres primarios de otras partes del cuerpo (7). En Colombia, el COEC ocupa el quinto lugar entre todos los cánceres y se diagnostican aproximadamente 76 casos nuevos al año, asociados principalmente al tabaquismo (8).

La incidencia de personas diagnosticadas en Colombia al 2010 fue de 48 hombres (1,9%) y de 39 mujeres (1,1%), y se reportaron para este mismo año 27 muertes por esta causa (9). La mayor parte del cáncer oral está precedido por lesiones potencialmente malignas (PML); pero solo el 5% de estas progresan a neoplasia (1). A pesar de que la cavidad oral es de fácil acceso para la inspección visual directa, la mayoría de COEC no se diagnostican hasta una etapa avanzada, lo que limita la implementación de un tratamiento oportuno y genera una tasa de supervivencia reducida (2,5), por lo que la mitad de los pacientes muere dentro de los cinco primeros años después del diagnóstico (3). Un diagnóstico precoz y el tratamiento oportuno del COEC mejoran la tasa de supervivencia en más del 90% del total de los casos diagnosticados (10), lo que genera para el paciente una buena calidad de vida después del tratamiento (2).

La detección y el diagnóstico del cáncer oral se basa actualmente en el examen clínico visual y en el estudio histopatológico del material de la biopsia (5,7). Esto se limita a identificar una lesión de tamaño considerable (2), lo cual impide un tratamiento conservador y provoca la pérdida de tejidos circunscritos al área lesionada —muscular, ósea, conectiva, nerviosa y circulatoria— y la disminución de la calidad de vida del paciente, lo que trae consigo implicaciones psicosociales. Se requiere, por lo tanto, que las nuevas herramientas de detección sean exactas, reproducibles y rentables, que permitan un diagnóstico precoz y preciso de las lesiones precancerígenas y cancerígenas (1,2).

Dentro de los últimos avances en el campo de las ciencias de la salud, la nanomedicina aprovecha las

características específicas —físicas, químicas, electromagnéticas y biológicas— que presentan ciertos materiales a escala nanométrica, y ha desarrollado varios dispositivos integrados como nanochips y nanosensores que, utilizando técnicas de laboratorio convencionales —desnaturalización de proteínas, detección de biomarcadores por fluorimetría, reacción en cadena de la polimerasa (PCR), Elisa, microarreglos, etc.— en un área de dimensiones reducidas —casetes y chips—, son de gran utilidad, fácil uso e interpretación para el clínico dentro de la consulta odontológica (11).

La finalidad de esta revisión de literatura fue recopilar la información disponible sobre las aplicaciones de la nanomedicina para el diagnóstico temprano de cáncer oral, en términos de mejorar e incluso superar las técnicas clínicas y de laboratorio convencionales, a fin de agilizar la detección de estas lesiones, disminuir la cantidad de falsos positivos y falsos negativos, así como aumentar la especificidad por la utilización de biomarcadores genéticos y proteicos particulares. Se espera que la información recopilada permita que tanto estudiantes como profesionales en áreas de la ciencia de la salud conozcan esta alternativa de diagnóstico aplicable en el consultorio, sus ventajas y utilidades, al igual que incentivar una mayor investigación en este campo, complementando los vacíos técnicos encontrados en la literatura revisada. Adicionalmente, genera a los hispanoleyentes, que inician un acercamiento a las nuevas tecnologías, la oportunidad de encontrar una revisión en español de una temática que tiene casi que con exclusividad publicaciones en idioma inglés. Es la primera revisión que se hace sobre los avances nanotecnológicos en una enfermedad de importancia en salud pública y patología oral.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente artículo se ubica en la categoría de revisión sistemática de literatura. Se realizó una búsqueda exhaustiva de artículos científicos, entre agosto y diciembre del 2011, en la base de datos de la Universidad Nacional de Colombia, del Sistema Nacional de Bibliotecas (Sinab), teniendo en cuenta el tema que se iba a tratar y nuestro problema de investigación.

Crterios de inclusión y exclusión de los estudios

Para seleccionar los artículos se tuvieron en cuenta los criterios de inclusión y exclusión incluidos en la tabla 1.

TABLA 1
CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN DE LOS ESTUDIOS

Criterios de inclusión	Criterios de exclusión
Estudios experimentales, revisiones sistemáticas y de literatura, estudios transversales y longitudinales y notas de autor	Estudios en animales
Publicados desde 1995 hasta el 2012	Publicaciones anteriores a 1995
Texto completo	Artículos en revistas no indexadas en el Sinab
Idiomas: español e inglés	Idiomas diferentes a español e inglés
Temática: diagnóstico y detección de cáncer	Temática: tratamiento de cáncer

Estrategia de búsqueda y selección de artículos

La revisión se llevó a cabo utilizando solo los siguientes motores de búsqueda: PubMed, ScienceDirect, Medline, Nature.com, Springer Journal y SciELO, y los siguientes filtros de búsqueda: idiomas inglés y español, en el periodo 1995-2011, con vínculos para texto completo; no hubo restricción en cuanto a edad, sexo o zona geográfica. Las palabras utilizadas para realizar la búsqueda fueron: *mouth neoplasm, oral cancer, lab-on-a-chip, oral diagnosis, nanosensor, early diagnosis, squamous celular carcinoma, oral cancer biomarker, nanotecnología, cáncer oral, prevalencia de cáncer oral*, y para las búsquedas se combinaron dos o más palabras clave, usando los respectivos conectores lógicos como *AND/OR* o *Y/O*. Aquellos artículos que mostraban restricción para descargarlos de manera directa desde el buscador, se buscaron desde la revista, en la página de Sinab, en la sección “revistas electrónicas”, donde se encontraba indexado el artículo.

Se obtuvieron 82 artículos a partir de esta búsqueda electrónica, 28 de los cuales fueron excluidos por ser estudios de tratamiento y terapia del cáncer, con nanoelementos y nanodispositivos, y por ser estudios experimentales con modelos exclusivamente en animales y diseño de dispositivos nanométricos. De los 54 restantes, y dada la extensión de la revisión se procedió a disminuir a 45 artículos, los cuales dieron en definitiva el cuerpo a este documento. En una reunión de consenso se agruparon (según título y resumen), por el diseño metodológico y el área temática, de la siguiente manera: a) generalidades del cáncer oral y biomarcadores, b) métodos para el diagnóstico del cáncer oral, c) generalidades de nanomedicina y d) nanodispositivos aplicados al diagnóstico del cáncer oral.

RESULTADOS

Luego de obtener los 45 artículos, cada investigador los analizó y agrupó con base en el resumen, mediante un compendio objetivo de cada uno de ellos, previa lectura completa. Ello permitió dar el sustento teórico al artículo. Luego, en una reunión con lista de chequeo, se compilaron los apartados, se redactó y se construyó la revisión. Toda la información se relacionó en una tabla por subtema utilizando software Excel® 2007 (tabla 2).

TABLA 2
ORGANIZACIÓN METODOLÓGICA Y TEMÁTICA DE LOS ESTUDIOS SELECCIONADOS

Subtema	Total de artículos	Título	Autores	Revista	Año	Tipo de estudio
Generalidades de cáncer oral y biomarcadores	7	1. Disease mechanism and biomarkers of oral squamous cell carcinoma	Brinkman BM, Wong DT	<i>Current Opinion in Oncology</i>	2006	Revisión de literatura
		2. Características clínico histopatológicas del carcinoma escamocelular bucal, Colombia	Álvarez E, Preciado A, Montoya SA, Jiménez R, Posada A	<i>Revista Cubana de Estomatología</i>	2010	Estudio retrospectivo longitudinal
		3. Anuario estadístico de 2010	Instituto Nacional de Cancerología, Ministerio de Salud y Protección Social	<i>Ministerio de Salud y Protección Social</i>	2011	Estudio descriptivo transversal
		4. Defining salivary biomarkers using mass spectrometry-based proteomics: a systematic review	Al-Tarawneh SK, Border MB, Dibble CF, Bencharit S	<i>OMICS</i>	2011	Revisión sistemática de la literatura
		5. Genetics/epigenetics of oral premalignancy: current status and future research	Lingen MW, Pinto A, Mendes RA, Franchini R, Czerninski R, Tilakaratne WM et al.	<i>Oral Diseases</i>	2011	Revisión de literatura
		6. Eucaryotic endonuclease VIII-like proteins: new components of the base excision DNA repair system	Grin IR, Zharkov DO	<i>Biochemistry (Moscow)</i>	2011	Revisión de la literatura
		7. Epigenetic dysregulation in oral cancer	Mascolo M, Siano M, Ilardi G, Russo D, Merolla F, De Rosa G et al.	<i>International Journal of Molecular Science</i>	2012	Revisión de la literatura
Métodos de diagnóstico en cáncer oral	6	1. Visualization and other emerging technologies as change makers for oral cancer prevention	Rosin MP, Poh CF, Guillard M, Williams PM, Zhang L, MacaUlay C	<i>Annals of the New York Academy of Sciences</i>	2007	Estudio longitudinal
		2. Advances in diagnostic adjuncts for oral squamous cell carcinoma	Cheng YSL, Wright J	<i>Open Pathology Journal</i>	2011	Revisión de literatura
		3. Role of angiogenesis in oral squamous cell carcinoma development and metastasis: an immunohistochemical study	Shivamallappa SM, Venkattraman NT, Shreedhar B, Mohanty L, Shenoy S	<i>International Journal of Oral Science</i>	2011	Estudio clínico experimental retrospectivo

Continúa

Subtema	Total de artículos	Título	Autores	Revista	Año	Tipo de estudio
		4. Implications for diagnostics in the biochemistry and physiology of saliva	Amerongen AN, Ligtenberg AJ, Veerman ECI	<i>Annals of the New York Academy of Sciences</i>	2007	Revisión de la literatura
		5. Early diagnosis of asymptomatic oral and oropharyngeal squamous cancers	Mashberg A, Samit A	<i>CA: Cancer Journal for Clinicians</i>	1995	Revisión de la literatura
		6. Early diagnosis in primary oral cancer: is it possible?	Van der Waal I, Bree R, Brakenhoff R	<i>Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal</i>	2011	Revisión de la literatura
Generalidades en nanomedicina	18	1. Emerging implications of nanotechnology on cancer diagnostics and therapeutics	Cuenca A, Jiang, H, Hochwald S, Delano M	<i>Cancer</i>	2006	Revisión de la literatura
		2. DNA diagnostics: nanotechnology-enhanced electrochemical detection of nucleic acids	Wei F, Lillehoj PB, Ho CM	<i>Pediatric Research</i>	2010	Revisión de la literatura
		3. Detecting and treating cancer with nano technology	Hartman KB, Wilson LJ, Rosenblum MG	<i>Molecular Diagnosis and Therapy</i>	2008	Revisión de la literatura
		4. "Nano": the new nemesis of cancer	Hede S, Huilgol N	<i>Journal of Cancer Research and Therapeutics</i>	2006	Revisión de la literatura
		5. Going small for big advances. Using nanotechnology to advance cancer diagnosis, prevention and treatment	Cancer Nanotechnology. U.S. Department of Health and Human Services. National Institutes of Health, National Cancer Institute	<i>National Institutes of Health, National Cancer Institute</i>	2004	Anuario
		6. Nanomedicine: detecting rare cancer cells	Zemp RJ	<i>Nature Nanotechnology</i>	2009	Revisión de la literatura
		7. Biosensing: new probes offer much faster results	Sandhu A	<i>Nature Nanotechnology</i>	2007	Revisión de la literatura
		8. Detection of lung, breast, colorectal, and prostate cancers from exhaled breath using a single array of nanosensors	Peng G, Hakim M, Broza YY, Billan S, Abdah-Bortnyak R, Kuten A, Tisch U, Haick H	<i>British Journal of Cancer</i>	2010	Ensayo clínico
		9. Micro- and nanotechnology approaches for capturing circulating tumor cells	Panchapakesan B, Caprara R, Velasco V, Loomis J, King B, Xu P et al.	<i>Cancer Nanotechnology</i>	2010	Revisión de la literatura

Subtema	Total de artículos	Título	Autores	Revista	Año	Tipo de estudio
		10. Nanotechnologies for Alzheimer's disease: diagnosis, therapy, and safety issues	Brambilla D, Le Droumaguet B, Nicolas J, Hashemi SH, Wu LP, Moghimi SM, Couvreur P, Andrieux K	<i>Nanomedicine</i>	2011	Revisión de la literatura
		11. Hyperthermic effects of gold nanorods on tumor cells	Huff TB, Tong L, Zhao Y, Hansen MN, Cheng JX, Wei A	<i>Nanomedicine</i>	2007	Experimental instrumental
		12. Studying copy number variations using a nanofluidic platform	Qin J, Jones RC, Ramakrishnan R	<i>Nucleic Acid Research</i>	2008	Experimental instrumental
		13. Nanoparticles for the optical imaging of tumor E-selectin	Funovics M, Montet X, Reynolds F, Weissleder R, Josephson L	<i>Neoplasia</i>	2005	Experimental clínico
		14. Nanosensing at the single cell level	Vo-Dinh T	<i>Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy</i>	2008	Revisión de la literatura
		15. Biochips: technologies and applications	Pasquarelli A	<i>Material Science and Engineering</i>	2008	Revisión de la literatura
		16. Electrochemical sensor for multiplex biomarkers detection	Wei F, Patel P, Liao W, Chaudhry K, Zhang L, Arellano-García M, Hu S, Elashoff D et al.	<i>Clinical Cancer Research</i>	2009	Experimental
		17. Biosensors for cancer markers diagnosis	Tothill IE	<i>Seminars in Cell & Developmental Biology</i>	2009	Revisión de la literatura
		18. Nano technology in cancer diagnosis and treatment: an overview	Ravindran R	<i>Oral & Maxillofacial Pathology Journal</i>	2011	Revisión de la literatura
Nanodispositivos aplicados al diagnóstico oral y cáncer oral	14	1. Nano-bio-chip sensor platform for examination of oral exfoliative cytology	Weigum SE, Floriano PN, Redding SW, Yeh CK, Westbrook SD, McGuff HS et al.	<i>Cancer Prevention Research (Philadelphia)</i>	2010	Experimental clínico
		2. A new bio-nanochip sensor aids oral cancer detection	McDevitt J, Weigum SE, Floriano PN, Christodoulides N, Redding SW, Yeh CK et al.	<i>SPIE Newsroom</i>	2011	Experimental clínico
		3. Lab-on-a-chip for oral cancer screening and diagnosis	Zlober B, Mauk M, Falls E, Chen Z, Ziober AF, Bau HH	<i>Head & Neck</i>	2007	Revisión de la literatura

Subtema	Total de artículos	Título	Autores	Revista	Año	Tipo de estudio
		4. Chip developed to diagnose oral cancer in ten minutes	Dental News	<i>British Dental Journal</i>	2010	Nota de revista
		5. Research advancement and prospects of nanotechnology in early diagnosis and treatment of cancer	De-Hong H, Ping G, Yi-Fan M, Lin-Tao C	<i>Chinese Journal of Cancer</i>	2009	Revisión de la literatura
		6. Nanosensors and biochips: frontiers in biomolecular diagnostics	Dinh TV, Cullum BM, Stokes DL	<i>Sensors and actuators B: Chemical</i>	2001	Revisión de la literatura
		7. Oral Fluid Nanosensor Test (OFNASET) with Advanced Electrochemical-Based Molecular Analysis Platform	Gau V, Wong D	<i>Annals of the New York Academy of Science</i>	2007	Experimental
		8. Salivary diagnostics powered by nanotechnologies, proteomics and genomics	Wong DT	<i>Journal of American Dental Association</i>	2006	Revisión de la literatura
		9. Implication for diagnostics in the biochemistry and physiology of saliva	Amerongen AN, Ligtenberg AJ, Veerman ECI	<i>Annals of the New York Academy of Science</i>	2007	Revisión de la literatura
		10. Lab-on-a-chip technologies for oral-based cancer screening and diagnostics capabilities, issues, and prospects	Mauk MG, Ziober BL, Chen Z, Thompson JA, Bau HH	<i>Annals of the New York Academy of Science</i>	2007	Revisión de la literatura
		11. Early diagnosis of oral cancer based on the surface plasmon resonance of gold nanoparticles	Kah JC, Kho KW, Lee CG, James C, Sheppard R, Shen ZX, et al.	<i>International Journal of Nanomedicine</i>	2007	Experimental
		12. Optical protein sensor for detecting cancer markers in saliva	Tan W, Sabet L, Li Y, Yu T, Klokkevold PR, Wong DT, Ho Ch M	<i>Biosensors and Bioelectronics</i>	2008	Experimental
		13. Study on effect of peptide-conjugated near-infrared fluorescent quantum dots on the clone formation, proliferation, apoptosis, and tumorigenicity ability of human buccal squamous cell carcinoma cell line BcaCD885	Sun D, Yang K, Zheng G, Li Z, Cao Y	<i>International Journal of Nanomedicine</i>	2010	Experimental
		14. Application of an electronic nose to detect head and neck cancer from exhaled breath	Witt K, Inhestern J, Guntinas-Lichius O, Voss A	<i>Biomedizinische Technik. Biomedical engineering</i>	2012	Experimental

En esta búsqueda de literatura sobre el tema se encontraron veintiséis artículos de revisión de literatura, catorce experimentales, una nota de revista, tres descriptivos, una revisión sistemática y un anuario estatal, lo que para nuestra revisión resultaría como un artículo con material descriptivo, sustentado con una cantidad proporcionada de estudios experimentales, que le brinda al lector no solo descripción teórica, sino información comprobada por método científico. Consideramos que no todos los artículos, aunque estaban indexados en las bases de datos consultadas y publicados en revistas científicas, resultaron suficientemente confiables con la información suministrada. Se encontraron artículos que se circunscribieron en el sensacionalismo y no contaron con los respaldos experimentales suficientes. Estos fueron, a su vez, excluidos del estudio. Son pocos los artículos publicados en América Latina sobre nanotecnología y cáncer oral; en nuestro caso solamente dos de los 45 artículos recopilados pertenecen a revistas latinoamericanas. La posible explicación radica en la dificultad de acceso a la información; además, la temática aún no está lo suficientemente arraigada en el ámbito médico, por ser una ciencia en proceso de desarrollo, con diversos prejuicios, vacíos técnicos y teóricos que la misma ciencia no ha logrado aclarar, como la citotoxicidad de los elementos nanotecnológicos, su metabolismo o degradación en el organismo, entre muchos otros elementos de valor, que han limitado las aplicaciones en humanos, especialmente en el área de fármacos con liberación controlada, como dendrímeros ya aprobados por la Federación de Alimentos y Medicamentos (FDA).

La información recopilada a continuación describe la etiopatogenia, las características clínicas en estadios de premalignidad y malignidad, así como el comportamiento biológico y molecular del cáncer oral y cómo este facilita la identificación de células en proceso de malignización, describiendo los marcadores biológicos específicos de cáncer oral. Luego, y para introducirnos en nuestro problema de investigación, se define la nanotecnología teniendo en cuenta su participación en la medicina y detallando las diferentes herramientas aplicables en la detección de diferentes enfermedades, y para nuestro caso el cáncer oral. Para terminar se mencionan las características de nanodispositivos como *lab-on-a-chip*, nanochips y nanosensores como métodos útiles, rápidos y efectivos en la detección temprana del cáncer oral.

Generalidades del cáncer oral

El cáncer de cavidad oral representa el 40% de los cánceres de cabeza y cuello e incluye los carcinomas escamocelulares de lengua, piso de boca, mucosa bucal, labios, encías, paladar duro y blando (2). El cáncer oral está precedido por lesiones premalignas (PML), pero solo el 5% de estas progresan a carcinoma propiamente dicho (1). Las PML se observan como manchas blancas o rojas (leucoplasia/eritroplasia) en la mucosa oral, y aún no existe un indicador definitivo para determinar su transición a cáncer (1). Los estudios han demostrado que algunas de las lesiones con displasia leve pueden sufrir una transformación maligna y que lesiones con displasia grave pueden permanecer en silencio (6). En general, para la detección, identificación y palpación, los tumores malignos necesitan alrededor de treinta duplicaciones (10⁹ células) para alcanzar un volumen de un centímetro cúbico (7).

El COEC se desarrolla de acuerdo con una serie de etapas histopatológicas de hiperplasia y displasia, en mayor o menor grado. Es un tipo de cáncer de proliferación relativamente rápida (6). En la fase inicial, las células madre localizadas en la capa basal de la mucosa adquieren una alteración genética; posteriormente, una unidad compuesta por clones de las células madres con sus células hijas, que comparten la alteración del ADN, proliferan, por lo cual la lesión aumenta de tamaño. La selección clonal da lugar al desarrollo del carcinoma, dentro de este campo de células preneoplásicas; en este momento, la lesión puede ser macroscópicamente invisible o evidenciarse como manchas orales (6).

La exposición a carcinógenos como el tabaco o el alcohol determina la evolución del COEC, y genera inestabilidad génica, epigenética y metabólica (6,12), reflejada en la susceptibilidad del genoma a adquirir múltiples alteraciones, como las aneuploidias, muy comunes en el cáncer oral (6). Al igual que en otros tipos de cáncer, la proliferación celular tiene cierto valor predictivo en el COEC, que relaciona una alta actividad proliferativa con un mal pronóstico (6). Los componentes génicos, proteicos y enzimáticos resultantes de las alteraciones genéticas pueden utilizarse como biomarcadores que ayudan en la detección del cáncer, predecir el resultado de la enfermedad o la respuesta al tratamiento, factores actualmente no investigados.

Biomarcadores del cáncer oral

Un biomarcador es una molécula específica con una característica especial que lo hace fundamental para medir el progreso de la enfermedad o los efectos del tratamiento. Por ende, se convierte en una nueva herramienta para el diagnóstico, solo o en combinación con métodos tradicionales (6). Las características ideales de un biomarcador son: ser específico, sensible, predictivo y útil en los ensayos preclínicos y clínicos (6). Algunos de los genes asociados al cáncer oral son: *RAR-β* (13), *p16*, *p53*, *FHIT*, *ciclina D1*, *p14* (6), el genotipo g.4102971CC del gen *NEIL2* (14), el factor de necrosis tumoral (TNF), interleucina-8, antígeno del cáncer-125, entre muchas otras; sin embargo, muchos de estos marcadores proporcionan poca o ninguna información predictiva que pueda ser utilizada en la clínica (6).

Los biomarcadores se podrían categorizar de la siguiente manera: a) aquellos específicos para una enfermedad, b) los que no son específicos de la enfermedad pero demuestran una condición anómala y c) aquellos encontrados aleatoriamente como

resultado de diversidad o variación en las muestras de caso-control, en los protocolos de tratamiento y en las plataformas de espectrometría de masa (15).

Un biomarcador, por sí mismo, no es suficiente para la detección con alta especificidad; por lo tanto, al combinar varios biomarcadores, la exactitud diagnóstica puede mejorar (16). Una molécula biomarcadora es un factor determinante en la identificación de tumores; existen diversas técnicas útiles para la identificación de varias macromoléculas específicas que pueden ser proteínas, genes, entre otros (17). Existen tres factores clave para determinar la progresión (riesgo predictivo) de una lesión preneoplásica, como la localización en cavidad oral, sus características clínicas y la presencia de displasia (18). La disponibilidad bibliográfica en la temática de biomarcadores es extensa, pero aún no se ha logrado un consenso sobre cuál sería el biomarcador universal para cáncer oral, dada la diversidad de proteínas expresadas y la heterogeneidad celular en carcinomas *in situ* y LPM.

Técnicas proteómicas en detección de cancer

Este enfoque se orienta hacia la determinación de la secuencia, la cantidad y las modificaciones postraduccionales, así como la interacción y estructura de las proteínas (6). Las técnicas convencionales de determinación proteica son las realizadas por electroforesis en gel y Western Blot. Entre las técnicas actuales se encuentran la espectrometría de masas con uso de láser matriz asistido desorción/ionización e ionización por electrospray (ESI) y la aplicación de sistemas de anticuerpos, para la detección de cambios en los patrones de expresión de las proteínas (6). Además, se ha utilizado la cromatografía líquida acoplada con espectrometría de masas y espectrometría de masas-sol, para determinar ciertas proteínas. Otras técnicas disponibles, aunque más complejas y costosas, son la cromatografía líquida de fase reversa, electroforesis diferencial en gel, arreglo de intercambio aniónico, entre otras (15).

La expresión de proteínas de membrana específicas del cáncer puede utilizarse para discriminar las células cancerosas de las células normales, y facilitar su identificación, captura y cuantificación (2,15). Los anticuerpos frente a proteínas específicas de membrana de células cancerosas se conjugan con anticuerpos fluorescentes y puntos cuánticos o *beads* (magnéticos o metálicos) que pueden marcarlas en una muestra. La evidencia ha mostrado que las lesiones premalignas orales en estado displásico y las células cancerosas

expresan dos glicoproteínas de membrana, que están ausentes o mínimamente expresadas, en las membranas de las células normales (2), como la HSP-47 (*Heat Shock Protein 47*) y EpCAM (*Epithelial cell adhesion molecule*), esta última es expresada en colon, próstata, esófago, pulmón o mama, y a mayor expresión, mayor grado displásico (2). La tabla 3 presenta las diversas proteínas utilizadas y citadas como biomarcadores.

TABLA 3
PROTEÍNAS EN EL COEC

CA-125 (antígeno de cáncer 125)	IL-8 (interleucina 8)	vWF (factor von Willebrand)	FGF (Factor de crecimiento fibroblástico)	Ki-67 (antigen identified by monoclonal antibody Ki-67)	PDGF (factor de crecimiento derivado de plaquetas)	SOD (superóxido dismutasa)
Ciclina D1	MCM2 (minichromosome maintenance complex component 2)	8-OHdG (8 hidroxideoguanosina)	FHIT (Fragile histidine triad)	miRNA (microARN)	TGF- α (Factor de crecimiento tumoral alfa)	
EGFR (receptor del factor de crecimiento epidérmico)	PCNA (proliferating cell nuclear antigen)	DUSP1 (fosfatasa de especificidad dual 1)	GST (Glutathione S-transferase)	NF κ B (nuclear factor kappa B)	ROS (reactive oxygen species)	
EpCAM (Molécula de adhesión celular epitelial)	Telomerasa	VEGF (factor de crecimiento endotelial-vascular)	H3F3A (H3 histone, family 3A)	NGF (neural growth factor)	S100P (calcitonin receptor-related protein 1)	
HSP-47 (proteína de choque térmico 47)	TNF α (factor de necrosis tumoral alfa)	ETPA1 (antígeno tisular polipeptídico de endotelina)	IL-6 (interleucina 6)	OAZ1 (ornithine decarboxylase antizyme 1)	SAT (spermidine/spermine N1-acetyltransferase EST)	

Técnicas genómicas en la detección del cáncer

La expresión genética presenta correlaciones con el desarrollo y progresión de un tumor, invasión a ganglios linfáticos, enfermedad recurrente y evolución del paciente (2,6). Por lo general, los cambios genéticos en las células cancerígenas alteran los patrones de expresión genética y determinan mucho más temprano las alteraciones que el fenotipo no ha establecido (2,16). Diversas tecnologías de punta en ingeniería genética, como la tecnología de microarreglos, permiten determinar el *footprinting* de los estados biológicos (6).

Se han identificado diversos genes asociados con la progresión del COEC, como: *p16* (*regulador del ciclo celular ciclina DCDK4/6*), *p53*, *ciclina D1* y el gen del receptor del factor de crecimiento epidérmico (*EGFR*); sin embargo, el diagnóstico depende de la influencia combinada de varios de estos genes (2,18). La interregulación estricta entre de las proteínas p63, p73, p21 y p27, y muchas otras, no permite identificar, aunque exista la evidencia experimental y descriptiva sin consenso, de cuál sería la desregulación genética y epigenética, que pudiera establecer el diagnóstico no solo de COEC, sino de otros tipos de cáncer (19); por ejemplo, el grado de expresión de p53, que se correlaciona con el grado de displasia, sin aún determinarse su valor predictivo, caso contrario que ocurre con p63 y p73, con los que no se puede determinar su valor predictivo por la baja cantidad de evidencia científica. La expresión de p21 se pierde en el progreso a cáncer y p27 disminuye con ma-

yores grados de displasia (19). Otros marcadores como los miARN de la familia let-7, miR-211, miR-181b, mutaciones en la región 3p y 9p, hipermetilación de p16 y p15, hiperfunción de la telomerasa, desregulación en PCNA (*proliferating cell nuclear antigen*), MCM2 (*minichromosome-maintenance protein 2*), entre muchos otros, se han utilizado para determinar progresión a COEC (13,20). Los genes más utilizados y sus diferentes alteraciones se resumen en la tabla 4.

Técnicas convencionales para la detección del cáncer oral

Existen técnicas muy variadas de diagnóstico definitivo para cáncer oral. La principal técnica de laboratorio es la histopatología del espécimen biopsiado (21,22), utilizando inmunohistoquímica y otras técnicas como la autofluorescencia de tejidos, quimioluminiscencia (1) y otras aplicadas en la clínica a base de tintes —azul de toluidina, rosa de Bengal o cloruro de tolonio (13)— directamente sobre los tejidos, y que ayudan a visualizar las PML; sin embargo, estas son insuficientes en cuanto a su sensibilidad y especificidad para usarlas en el diagnóstico definitivo (1). Existe una amplia evidencia experimental y descriptiva de la sensibilidad y especificidad de estas técnicas, sus formas de aplicación y complementos de estas técnicas de detección visual (23).

TABLA 4
GENES ASOCIADOS EN EL COEC

Gen	Denominación	Función	Alteración en COEC
Bcl-1	NA	Supresión tumoral	Mutación, amplificación, sobreexpresión
BIM	BCL2-like 11 (apoptosis facilitator)	Oncogen	
CDH1	Cadherina 1 tipo 1	Cadherina E, traducción de la señal (adhesión)	Hipermetilación
CDK4-6	Cyclin-dependent kinase 4-6	Regulador en ciclo celular	Hipermetilación
DAPK1	Death associated protein kinase 1	Apoptosis	Hipermetilación
g.4102971CC/ NEIL2	NA	Reparación génica ADN	Polimorfismo
HMGA2	High mobility group AT-hook 2	Supresor tumoral, regulador transcripcional, estructura genética (no histónico)	Mutaciones, modificaciones epigenéticas por miRNA
MGMT	O6-metilguanina DNA MetilTransferasa	Enzima de reparación del ADN	Hipermetilación
Myc	Myelocytomatosis viral oncogene homolog	Supresor tumoral, ciclo celular, apoptosis, transformación celular	Mutaciones, modificaciones epigenéticas por miRNA
p14		Apoptosis	Hipermetilación
p16	Supresor tumoral	Regula actividad de ciclina D/CDK4/6	Hipermetilación, delección, mutación
PTEN	Phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10	Supresor tumoral, diferenciación, proliferación, apoptosis e invasión	Mutación, hipermetilación
RARB2	Gene del receptor B2 para ácido retinoico	Proliferación, supresión de transcripción, diferenciación escamosa	Hipermetilación
ras		Supresor tumoral, efecto mitogénico, diferenciación, migración celular, apoptosis	Hipermetilación
TIMP3	Tissue metalloproteinase inhibitor 3	Oncogen, interacción epitelio mesénquima, inhibidores de las metaloproteinasas de matriz	Hipermetilación

Fuente: Lingen MW, Pinto A, Mendes RA, Franchini R, Czerninski R, Tilakaratne WM, Partridge M, Peterson DE, Woo S-B. Genetics/epigenetics of oral premalignancy: current status and future research. *Oral Diseases*. 2011; 17 (Suppl 1): 7-22. Mascolo M, Siano M, Ilardi G, Russo D, Merolla F, De Rosa G, Staibano S. Epigenetic dysregulation in oral cancer. *Int J Mol Sci*. 2012, 13; 2331-53.

Técnicas diagnósticas actuales basadas en nanotecnología

La nanotecnología es un campo multidisciplinario que implica la creación, la manipulación, el diseño, la ingeniería y el estudio de materiales con tamaño a escala nanométrica (esto es, billonésima de un metro), y que posean algunas propiedades nuevas, a niveles pequeños (quantums) y grandes (macromoléculas) (17). La dimensión acordada para reconocer que los objetos y herramientas están a nanoescala oscila entre 10 y 100 nm (11,17,24,25). Las estructuras a nanoescala permiten una mayor posibilidad de controlar las características del material, como su punto de fusión, las propiedades magnéticas y el color, sin cambiar la composición química del material (25); asimismo, puede mejorar las propiedades ópticas y magnéticas de algunos elementos (nanopartículas de oro, electrodos a partir de nanotubos de carbono, etc.) (17).

La nanomedicina se ha encaminado al estudio de sistemas de liberación controlada de fármacos (liposomas, nanopartículas de gelatina y micelas) (11,24) y al desarrollo de nuevas plataformas a escala nanométrica (puntos cuánticos, nanocápsulas, nanopartículas de oro, nanopartículas paramagnéticas y nanotubos de carbono) que adicionan ventajas en las técnicas tradicionales de detección proteica o génica de patologías (5,11).

Es posible utilizar las nanoherramientas para una amplia variedad de aplicaciones, como la detección localizada y temprana de los cambios genéticos y proteicos celulares, la liberación y administración de medicamentos en sitios y células específicas, como la localización de eventos apoptóticos a través de imágenes por resonancia magnética (MRI), la cartografía del ganglio linfático centinela, la ablación fototérmica de los tumores, entre otros (11,26). Algunas de las nanoherramientas descritas en la literatura que brindan beneficios en la detección o diagnóstico del cáncer se definen a continuación.

NANOTUBOS DE CARBONO. Son estructuras de configuración cilíndrica, de tamaño nanométrico, compuestos únicamente por carbono. Pueden estar recubiertos por oro, lo que les permite unirse a los receptores de folato presentes en la superficie de las células cancerosas. El tejido estudiado es iluminado con luz láser, la cual es absorbida por las nanopartículas acopladas a los nanotubos de carbono; la energía de la luz que se convierte en calor provoca una rápida expansión termoelástica, lo que resulta en ondas de ultrasonido que se detectan por un sistema de fotoacústica, que identifican células cancerosas de un tumor o libres en el

torrente sanguíneo (metástasis), aun cuando este método no ha sido aprobado para su uso en humanos (27).

NANOPARTÍCULAS. Son partículas tridimensionales a escala nano de aproximadamente 1 a 100 nm. En esta categoría se incluyen los nanocristales, las nanocápsulas, las nanopartículas metálicas o magnéticas, los dendrímeros y los puntos cuánticos (28).

Son una plataforma útil para el diagnóstico y terapia del cáncer. Su aplicación en el sitio del tumor se realiza por medio de dos modalidades: un enfoque activo y otro pasivo (11). El primero consiste en vincular a las nanopartículas unos ligandos específicos del tumor. Se ha reportado el uso de varios anticuerpos conjugados con nanopartículas para localizar proteínas de superficie celular (11). Entre tanto, el enfoque pasivo usa el tamaño nano y las propiedades inherentes de la neovascularización del tumor. Las células endoteliales poseen fenestraciones que van desde 200 nm a 1,2 μ m de ancho, lo que permite el paso de las nanopartículas a los espacios extracelulares y la acumulación de estas dentro de los tumores (11).

NANOPARTÍCULAS PARAMAGNÉTICAS. Estos agentes de contraste de tamaño nanométrico se están desarrollando para mejorar la utilidad de la resonancia magnética y la tomografía axial computarizada (TAC) en las imágenes del cáncer (11,29). Las partículas de óxido de hierro superparamagnéticas tienen una adecuada susceptibilidad y son de rápida absorción hepática tras su administración intravenosa, lo que las hace útiles para la caracterización de los tumores hepáticos. También se han usado como ayuda diagnóstica, para caracterizar el estado de los ganglios linfáticos en pacientes con cáncer de mama, pulmón, próstata, cuello uterino y médula ósea (11,30). Otra partícula usada por sus propiedades nanométricas y multifuncionales es el gadolinio (G6) (24).

PUNTOS CUÁNTICOS. Son nanocristales semiconductores, con un amplio potencial para su uso en diversas aplicaciones. Están compuestos de un núcleo elemental inorgánico, con una carcasa de metal circundante (11). Tienen propiedades ópticas únicas, como un alto nivel de fotoluminiscencia, alta intensidad de fluorescencia, gran fotoestabilidad, alta resistencia al fotoblanqueo y fotodegradación (31). Emiten una longitud de onda de fluorescencia intrínseca de 400 a 2000 nm, dependiendo del tamaño y composición (11).

Su uso en seres humanos está limitado por el grado de citotoxicidad, debido a su composición de metales pesados.

Actualmente, los puntos cuánticos se utilizan junto con los otros nanocristales, para medir niveles de marcadores de cáncer como el Her-2 en cáncer de mama, actina, proteínas microfilamentosas y antígenos nucleares (32).

NANOCÁPSULAS. Tienen aproximadamente 10-300 nm de dimensión, y se componen de un núcleo dieléctrico, generalmente de sílice, rodeado por una capa fina de metal (oro) (11). Las propiedades ópticas se basan en la conversión de energía eléctrica en luz; tienen la capacidad de ser ajustables ópticamente y sus propiedades de emisión/absorción van desde el ultravioleta hasta el infrarrojo, sin presentar el potencial de toxicidad por metales pesados como sí lo tienen los puntos cuánticos (11). Su limitación radica en su tamaño relativamente grande (11). Las nanocápsulas se han utilizado *in vivo* como agentes de contraste positivo para la obtención de imágenes con tomografía de coherencia óptica y tomografía fotoacústica, dado que se pueden conjugar con partículas funcionalizadas específicas para tumor (11).

NANOSENSORES. Es un dispositivo que consta de un agente biológico como elemento de reconocimiento o biorreceptor (por ejemplo, un anticuerpo, una enzima, una proteína, un ácido nucleico, células enteras, tejidos o todo el organismo) y un transductor de la señal (33). Cuando el analito interactúa con el biorreceptor, el complejo resultante produce un cambio (por ejemplo, cambios de conformación, etc.) que se convierten en un registro medible (por ejemplo, una señal eléctrica) por el transductor (33,34).

Los tipos más comunes de complejos biorreceptor/analito se basan en: a) interacciones anticuerpo/antígeno, b) las interacciones de ácidos nucleicos, c) las interacciones enzimáticas, d) interacciones celulares (por ejemplo, microorganismos o proteínas) y d) interacciones con materiales biomiméticos (por ejemplo, biorreceptores sintéticos) (33).

Las ventajas de los nanosensores radican en que el tiempo de detección es relativamente rápido; requiere un tamaño de muestra pequeño (microlitros a nanolitros) y menor cantidad de reactivos y son de bajo costo (16).

OTROS SISTEMAS DE DETECCIÓN NANOMÉTRICA. La detección de cáncer a partir de dendrímeros, por su múltiple funcionalidad estructural, se ha encontrado útil en entrega de medicamentos y unión de partículas marcadoras, y entre sus generalidades presentan dificultades en su biodistribución, dado que no cruzan la barrera hematoencefálica, aun cuando esto no influye en la eficacia de diagnóstico del COEC.

Los nanocables son materiales de carbono o sílice, que son específicos y selectivos dado que reconocen las características moleculares de las partículas y envían información a través de una red conectada de electrodos, que permite detectar genes alterados (8). Los resultados se interpretan dependiendo de la unión o no del sustrato a las proteínas funcionalizadas y se genera un cambio en la conductancia del cable (35).

Los cantilévers son un tipo de sensores con características mecánicas de balanza. Se construyen a partir de técnicas litográficas semiconductoras, micrométricas y flexibles, que están funcionalizadas y permiten una detección rápida y sensible de moléculas relacionadas con el cáncer (18,36).

Bio-MEMS/NEMS (micro/nano electromecánicos) e impresión molecular (*molecular imprinting*) son nanodispositivos multifuncionales y compactos con diversas nanoherramientas intrínsecas (17,34,37).

Estas nanoherramientas son altamente eficientes, sensibles, de fácil manipulación y específicas para detectar biomoléculas con aplicaciones en medicina para el diagnóstico de enfermedades (16,38).

Nanosensores y nanochips aplicados al diagnóstico del cáncer oral

Diagnóstico por aliento

Este método consiste en separar los compuestos orgánicos volátiles —que funcionan como biomarcadores generados por la peroxidación de la membrana de la superficie de las células— de la respiración endógena (generados por procesos celulares bioquímicos en el cuerpo), de compuestos orgánicos volátiles exógenos (absorbidos del medio ambiente). La literatura reporta un dispositivo que consiste en sensores de nanopartículas de oro funcionalizadas, que se encargan de rastrear las huellas de los biomarcadores presentes en el aliento y las concentraciones de cada uno de ellos (39).

El dispositivo ha permitido identificar diversos grupos de compuestos orgánicos volátiles específicos para diferentes tipos de cánceres: *cáncer de pulmón*: benceno, tolueno, dodecano, dimetil pentano y trimetil hexano; *cáncer de colon*: benceno, dimetil benceno, ácido acético y esteres de ácido benzoico; *cáncer de mama*: dimetil pentano, trimetil decano y esteres de ácido benzoico, y *cáncer de próstata*: tolueno, xilano y dimetil decano (40). En la aplicación para diagnóstico de cáncer de cabeza y cuello se logró identificar en la literatura un biosensor a base de gas de metal-óxido,

con una exactitud (*accuracy*) del 82,3%, en una muestra de 23 pacientes (40), aun cuando no se detectaron los compuestos orgánicos volátiles y no hubo muestras específicas para el diagnóstico específico de COEC.

Los resultados no se ven afectados por factores como sexo, edad, origen étnico, antecedentes familiares de cáncer, consumo de aditivos alimentarios, tratamiento con medicamentos, exposición a toxinas ambientales o tabaquismo (39).

Diagnóstico salivar

La saliva es un fluido de origen plasmático originado en las glándulas salivares, principalmente parótidas, submandibulares y sublinguales, además de glándulas secundarias. Gracias a su composición celular, a su accesibilidad, la posibilidad de una recolección no invasiva (2) y también por su contenido de proteínas, ARNm, enzimas y productos químicos (potenciales biomarcadores), permite identificar enfermedades como periodontitis, epilepsia, síndrome de Sjögren, lesiones premalignas y malignas (5,13,41,42).

Uno de los principales problemas que se presentan al implementar medidas tecnológicas en el reconocimiento de biomarcadores en saliva es que estas deben ser altamente sensibles y específicas, de tamaños miniatura; tener capacidad de identificar múltiples marcadores en una sola muestra; ser automatizables, portables y de bajo costo, y poseer alta funcionalidad y rapidez. Uno de los inconvenientes encontrados fue que bajas cantidades de analitos en saliva podrían variar de una u otra manera los resultados (14).

En la actualidad, las técnicas proteómicas y genómicas se convierten en un área de desarrollo e investigación importante para el diseño de métodos no invasivos para la detección precoz y seguimiento del cáncer oral (13). Aunque es necesaria mayor evidencia experimental para utilizarlos tanto en el diagnóstico como en la predicción de cáncer oral, algunas de las moléculas presentes en la saliva y que pueden ser potenciales biomarcadores son:

- a) Factor nuclear kappa (NFκB), citocinas como factor de necrosis tumoral (TNF), interleucina-6, interleucina-8 (IL-6, IL-8), factor de crecimiento fibroblástico (FGF), antígeno del cáncer-125 (CA-125) y antígeno tisular polipeptídico de endotelina (ETPA1) (5).
- b) ARNm de interleucina-8 interleucina-1, DUSP1 (fosfatasa de especificidad dual 1), H3F3A (histona H3

familia A3), OAZ1 (descarboxilasa ornitinantizima 1), S100 (proteína de unión cálcica P o calgranulina A9), SAT (espermidina/espermina N1-acetil-EST) (5).

- c) Especies reactivas de nitrógeno (óxido nítrico y nitratos), GST (glutación S-transferasa), SOD (superóxido dismutasa) y 8-OHdG (8-hidroxideoxiguanosina) (5).
- d) C-erbB-2 de forma soluble, marcador tumoral del cáncer de mama (13,43).

En saliva se han encontrado dos miARN (miR-125a y miR200a), en concentraciones significativamente más bajas en pacientes con COEC, en comparación con pacientes sanos (5).

El diagnóstico de COEC con base en muestras de saliva ha sido para el Instituto Nacional de Investigación Dental y Craneofacial (NIDCR) uno de sus temas de mayor interés en investigación, en los últimos años. Para el 2002, el NIDCR se interesó en el desarrollo de sistemas de microfluidos y microeléctrico-mecánicos (MEMS) para el diagnóstico en saliva y su pronta comercialización (5).

Un equipo de investigación en la Universidad de California en Los Ángeles (UCLA) se encuentra desarrollando un dispositivo manual y automatizado para la rápida medición de múltiples biomarcadores salivales específicos para cáncer oral. Se prevé que esté disponible para su aplicación en humanos en uno o dos años (5). Algunas técnicas nuevas, incluyendo el diagnóstico salivar y microscopía confocal *in vivo*, están en la etapa de desarrollo.

Los sistemas de micronanofluídica y microelectromecánica para diagnóstico salivar se componen de elementos mecánicos, tipo sensores, y electrónicos, contenidos sobre un sustrato microscópico de sílice, cuarzo, vidrio o materiales compuestos. La detección de macromoléculas en saliva permitiría crear una base de datos proteica y génica, que proporcionaría facilidades en la purificación, caracterización e identificación de las modificaciones postraduccionales de las proteínas, mutaciones génicas y el grado de interacción con los otros componentes salivares (14,28,43).

A pesar de la poca acogida y aplicación actual de los biosensores en el diagnóstico clínico del cáncer, por su dificultad de manufactura e implantación, se han utilizado en muestras fluidicas o sólidas, por ejemplo, a partir de un sensor proteico óptico de superficie inmovilizada, con muestra salival, que logra compararse con el examen ELISA. Pueden detectar hasta 1,1 pM,

sin la necesidad de técnicas de amplificación enzimática, además disminuyen el ruido en los resultados y permiten detectar hasta 4 fM, dándole características de alta especificidad y sensibilidad al método de biosensores ópticos, dado que funciona con uno o más biomarcadores en una misma muestra (43). Otro tipo de sensor electroquímico es la detección de proteínas y ácidos nucleicos, en los que se obtuvo una alta especificidad y sensibilidad en los datos. Los límites de detección fueron de 3,9 fM para el mRNA, y de 7,4 pg/mL para la proteína IL-8 en saliva (36).

Los biochips, en general, son parte de los biosensores. Se consideran las unidades funcionales en los ensayos bioquímicos. Como dispositivos integrados, tienen la capacidad de analizar diferentes analitos y utilizar la genómica y proteómica como las principales formas de detección. Se ha podido encontrar un gran desarrollo de estos biochips, especialmente en la identificación de genes específicos a partir de hibridaciones (microarreglos de ADN) similares a PCR que mejoran otros exámenes diagnósticos como el ELISA (*Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay*), a los cuales se pueden acoplar sistemas de detección de imágenes con técnicas fotográficas, placas de rayos X, cámaras CCD (*Charge-Coupled Device*) y fotodiodos (44). Estos pueden estar acoplados a cultivos celulares o en implantes, no solo con el objetivo de detectar, sino con el de mejorar la respuesta celular en diversas enfermedades como Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedades acústicas o en daños medulares (44). Sus aplicaciones en identificación de cáncer oral tienen un futuro promisorio, a partir de desarrollo del laboratorio en un chip.

Lab-on-a-Chip

La tecnología de laboratorio en un chip podría sustituir las técnicas actuales con dispositivos miniaturizados, integrados y automatizados de diagnóstico de bajo costo (2), a partir de distintos fluidos como sangre, suero, orina, fluido intraductal de mama, lavados bronquiales o aspiraciones pulmonares (20).

Las ventajas de procesamiento y requerimiento de un pequeño volumen de muestra, la facilidad y rapidez en la lectura, la automatización de la operación, los cortos tiempos de procesamiento, la reducción en el consumo de reactivos, la baja exposición a materiales peligrosos, el mínimo riesgo de contaminación de la muestra, la accesibilidad económica, su biocompatibilidad (20) y el no requerir personal capacitado para su manipulación son características que evidencian las múltiples ventajas de aplicación (2).

El mecanismo base de la tecnología de *lab-on-a-chip* es el flujo lateral de microfluidos (2,20). La plataforma de flujo lateral consta de una membrana de nitrocelulosa porosa o de una red capilar, con zonas de captura de anticuerpos inmovilizados que se unen específicamente a las moléculas objetivo, las cuales son etiquetadas mediante partículas de carbón, oro o fluorescentes, y posteriormente detectadas mediante electroquímica o un detector óptico (2). El diseño actual de bajo costo y de fácil aplicación consiste en un casete de microfluidos, diseñado para acoplarse a un instrumento portátil, que proporciona energía y calefacción a los fluidos, detecta las moléculas y procesa los datos (2).

El proceso de diagnóstico con *lab-on-a-chip* es el siguiente: el paciente proporciona un mililitro de saliva, mediante una esponja desechable. El colector se inserta en el casete introduciendo la muestra en el punto de entrada, dentro del chip. Los anticuerpos conjugados a partículas magnéticas (anti-CD45) contribuyen a eliminar linfocitos (2,20). A continuación hay un aislamiento de células epiteliales a partir de anticuerpos anti-EpCAM (expresada aberrantemente en el COEC). Luego, se capturan las células cancerígenas y precancerígenas, y con ayuda de partículas magnéticas funcionalizadas con anticuerpos específicos para estas células (HSP-47, pancitoqueratina) se detectan, se aíslan y se cuantifican (2,20).

Posteriormente, las células se lisan por medio de un choque térmico u osmótico y se aísla su contenido nuclear. El ARN se puede hibridar con perlas magnéticas, empleando técnicas enzimáticas y de detección por PCR para amplificar las secuencias de expresión de los genes. Estos productos son marcados y detectados por fluorescencia, quimiofluorescencia, fosforescencia o detección electroquímica, y es posible usar biosensores ópticos. A partir de técnicas bioinformáticas, se comparan resultados del proceso con bases de datos, lo que permite identificar el tipo de cáncer. Este método tarda entre 10 y 60 min para diagnosticar una muestra (2,20).

La nanotecnología aplicada en la detección de cáncer ha demostrado ofrecer una alta sensibilidad, precisión, rapidez y sencillez. A pesar de los logros en el diagnóstico de COEC por medio de nanotecnologías en los últimos años, la literatura cita que la mayoría de estos dispositivos se encuentran bajo investigación de laboratorio, en pruebas piloto y apenas listos para su aplicación clínica; sin embargo, los investigadores afirman que para los próximos años será posible encontrar en el mercado

estos sistemas de detección temprana a bajo costo, de un solo uso, desechables y portátiles (1,2,4,37,45).

El poco conocimiento de este tema de revisión y lo actual de las investigaciones en este campo se evidencia en la limitada disponibilidad de literatura, en cuanto a la aplicación de procesos y dispositivos nanotecnológicos en odontología con énfasis en cáncer oral. A su vez, las revistas latinoamericanas no citan información ni estudios realizados sobre nanotecnología. Todo esto nos permite afirmar que muy pocos artículos de revisión de literatura se enmarcan en la temática y no permiten generar información que pueda ser compilada, oportuna, actualizada e impactante, aun cuando el tema por sí solo se muestra prometedor y aplicable.

Por ahora, esperamos que esta revisión incentive e impulse a otros investigadores para ahondar en el tema, no exclusivamente en el diseño y aplicación de nanodispositivos en el diagnóstico del cáncer oral, sino también en otras patologías, que pueden detectarse con base en muestras de saliva o fluido crevicular, teniendo en cuenta una adecuada base de datos génica y proteica, que permita cotejar un diagnóstico fiable molecularmente.

CONCLUSIONES

La nanotecnología es un campo en desarrollo que brinda una alternativa prometedor y efectiva para el diagnóstico, tratamiento y seguimiento de patologías como el cáncer oral. Las características de los materiales a escala nanométrica varían con referencia a la escala micrométrica, lo que permite análisis más específicos con base en epigenética, genética y proteínas. Aunque podrían pasar varios años para que estas técnicas puedan ser aplicadas rutinariamente en la clínica, la investigación debe darse desde diversos campos del conocimiento, como la ingeniería, la medicina y la biología molecular, para llegar al desarrollo de un dispositivo eficaz, eficiente, económico, específico, altamente sensible, portátil y rápido, que permita un diagnóstico adecuado y temprano y el desarrollo de los regímenes de tratamiento específicos basados en las características clínicas y biológicas que presentan los pacientes (6) y para evitar las consecuencias mortales de la detección del cáncer en estadios avanzados. Actualmente la disponibilidad bibliográfica de esta área investigativa es reducida.

Aunque hoy en día se han utilizado métodos de tinción clásicos —mejorados por los sistemas de iluminación, a

partir de la autofluorescencia del tejido—, no deben utilizarse como el patrón de referencia (*gold standard*) para “diagnosticar” displasias, por su baja especificidad y por el abismo de información sobre su sensibilidad (16). Por eso es importante fortalecer la creación de una base de datos de biomarcadores de lesiones premalignas y neoplásicas, para complementar no solo de manera clínica, sino en el ámbito inmunohistopatológico, las transformaciones proteínicas y nucleares de las células en estas lesiones.

REFERENCIAS

- McDevitt J, Weigum SE, Floriano PN, Christodoulides N, Redding SW, Yeh CK, McGuff S, Vigneswaran N, Thornhill MH, Williams MD. A new bio-nanochip sensor aids oral cancer detection. SPIE Newsroom. 2011 Mar 28.
- Ziobar BL, Mauk MG, Falls EM, Chen Z, Ziobar AF, Bau HH. Lab-on-a-chip for oral cancer screening and diagnosis. Head Neck. 2008 Jan; 30(1): 111-21.
- Rosin MP, Poh CF, Guillard M, Williams PM, Zhang L, MacaUlay C. Visualization and other emerging technologies as change makers for oral cancer prevention. Ann NY Acad Sci. 2007 Mar; 1098: 167-83.
- Weigum SE, Floriano PN, Redding SW, Yeh CK, Westbrook SD, McGuff HS, Lin A, Miller FR, Villarreal F, Rowan SD, Vigneswaran N, Williams MD, McDevitt JT. Nano-bio-chip sensor platform for examination of oral exfoliative cytology. Cancer Prev Res (Phila). 2010 Apr; 3(4): 518-28.
- Cheng YSL, Wright J. Advances in diagnostic adjuncts for oral squamous cell carcinoma. Open Pathol J. 2011 Mar; 5: 3-7.
- Brinkman BM, Wong DT. Disease mechanism and biomarkers of oral squamous cell carcinoma. Curr Opin Oncol. 2006 May; 18(3): 228-33.
- van der Waal I, de Bree R, Brakenhoff R, Coebergh JW. Early diagnosis in primary oral cancer: is it possible? Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2011 May 1; 16(3): e300-5.
- Instituto Nacional de Cancerología ESE (INC). Anuario estadístico 2010. Bogotá: República de Colombia, Ministerio de Salud y Protección Social; INC; 2012.
- Álvarez Martínez E, Preciado A, Montoya Fernández SA, Jiménez Gómez R, Posada A. Características clínico-histopatológicas del carcinoma escamocelular bucal, Colombia. Rev Cubana Estomatol. 2010 Mar; 47(1): 81-95.
- Chip developed to diagnose oral cancer in ten minutes. Br Dent J. 2010 Aug 28; 209(4): 155.
- Cuenca AG, Jiang H, Hochwald SN, Delano M, Cance WG, Grobmyer SR. Emerging implications of nanotechnology on cancer diagnostics and therapeutics. Cancer. 2006 Aug 1; 107(3): 459-66.
- Mashberg A, Samit A. Early diagnosis of asymptomatic oral and oropharyngeal squamous cancers. CA Cancer J Clin. 1995 Nov-Dec; 45(6): 328-51.
- Nieuw Amerongen AV, Ligtenberg AJ, Veerman EC. Implications for diagnostics in the biochemistry and physiology of saliva. Ann N Y Acad Sci. 2007 Mar; 1098: 1-6.
- Wong DT. Salivary diagnostics powered by nanotechnologies, proteomics and genomics. J Am Dent Assoc. 2006 Mar; 137(3): 313-21.
- Al-Tarawneh SK, Border MB, Dibble CF, Bencharit S. Defining salivary biomarkers using mass spectrometry-based proteomics: a systematic review. OMICS. 2011 Jun; 15(6): 353-61.
- Wei F, Lillehoj PB, Ho CM. DNA diagnostics: nanotechnology-enhanced electrochemical detection of nucleic acids. Pediatr Res. 2010 May; 67(5): 458-68.

17. Hartman KB, Wilson LJ, Rosenblum MG. Detecting and treating cancer with nanotechnology. *Mol Diagn Ther.* 2008; 12(1): 1-14.
18. Kah JC, Kho KW, Lee CG, James C, Sheppard R, Shen ZX, Soo KC, Olivo MC. Early diagnosis of oral cancer based on the surface plasmon resonance of gold nanoparticles. *Int J Nanomedicine.* 2007; 2(4): 785-98.
19. Lingen MW, Pinto A, Mendes RA, Franchini R, Czerninski R, Tilakaratne WM, Partridge M, Peterson DE, Woo SB. Genetics/epigenetics of oral premalignancy: current status and future research. *Oral Dis.* 2011 Apr; 17 Suppl 1: 7-22.
20. Mauk MG, Ziober BL, Chen Z, Thompson JA, Bau HH. Lab-on-a-chip technologies for oral-based cancer screening and diagnostics: capabilities, issues, and prospects. *Ann N Y Acad Sci.* 2007 Mar; 1098: 467-75.
21. Shivamallappa SM, Venkatraman NT, Shreedhar B, Mohanty L, Shenoy S. Role of angiogenesis in oral squamous cell carcinoma development and metastasis: an immunohistochemical study. *Int J Oral Sci.* 2011 Oct; 3(4): 216-24.
22. Grin IR, Zharkov DO. Eukaryotic endonuclease VIII-like proteins: new components of the base excision DNA repair system. *Biochemistry (Mosc).* 2011 Jan; 76(1): 80-93.
23. Bouquot JE, Suarez P, Vigneswaran N. Oral precancer and early cancer detection in the dental office—review of new technologies. *J Implant Adv Clin Dent.* 2010; 2: 47-63.
24. Hede S, Huilgol N. "Nano": the new nemesis of cancer. *J Cancer Res Ther.* 2006 Oct-Dec; 2(4): 186-95.
25. U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, National Cancer Institute. Going small for big advances. Using nanotechnology to advance cancer diagnosis, prevention and treatment. Bethesda: the authors; 2004.
26. Huff TB, Tong L, Zhao Y, Hansen MN, Cheng JX, Wei A. Hyperthermic effects of gold nanorods on tumor cells. *Nanomedicine (Lond).* 2007 Feb; 2(1): 125-32.
27. Zemp RJ. Nanomedicine: detecting rare cancer cells. *Nat Nanotechnol.* 2009 Dec; 4(12): 798-9.
28. Tothill IE. Biosensors for cancer markers diagnosis. *Semin Cell Dev Biol.* 2009 Feb; 20(1): 55-62.
29. Funovics M, Montet X, Reynolds F, Weissleder R, Josephson L. Nanoparticles for the optical imaging of tumor E-selectin. *Neoplasia.* 2005 Oct; 7(10): 904-11.
30. Brambilla D, Le Droumaguet B, Nicolas J, Hashemi SH, Wu LP, Moghimi SM, Couvreur P, Andrieux K. Nanotechnologies for Alzheimer's disease: diagnosis, therapy, and safety issues. *Nanomedicine.* 2011 Oct; 7(5): 521-40.
31. Sun D, Yang K, Zheng G, Li Z, Cao Y. Study on effect of peptide-conjugated near-infrared fluorescent quantum dots on the clone formation, proliferation, apoptosis, and tumorigenicity ability of human buccal squamous cell carcinoma cell line BcaCD885. *Int J Nanomedicine.* 2010 Aug 9; 5: 401-5.
32. Ravindran R. Nanotechnology in cancer diagnosis and treatment an overview. *OMPJ.* 2011; 2(1): 101-6.
33. Vo-Dinh T, Cullum BM, Stokes DL. Nanosensors and biochips: frontiers in biomolecular diagnostics. *Sensors and Actuators.* 2001 Apr; 74(1): 2-11.
34. Sandhu A. Biosensing: new probes offer much faster results. *Nat Nanotechnol.* 2007 Dec; 2(12): 746-8.
35. Mascolo M, Siano M, Iardi G, Russo D, Merolla F, De Rosa G, Staibano S. Epigenetic dysregulation in oral cancer. *Int J Mol Sci.* 2012; 13(2): 2331-53.
36. Wei F, Patel P, Liao W, Chaudhry K, Zhang L, Arellano-Garcia M, Hu S, Elashoff D, Zhou H, Shukla S, Shah F, Ho CM, Wong DT. Electrochemical sensor for multiplex biomarkers detection. *Clin Cancer Res.* 2009 Jul 1; 15(13): 4446-52.
37. Hu DH, Gong P, Ma YF, Cai LT. Research advancement and prospects of nanotechnology in early diagnosis and treatment of cancer. *Ai Zheng.* 2009 Sep; 28(9): 1000-3.
38. Vo-Dinh T. Nanosensing at the single cell level. *Spectrochim Acta Part B.* 2008 Feb; 63(2): 95-103.
39. Witt K, Inhestern J, Guntinas-Lichius O, Voss A. Application of an electronic nose to detect head and neck cancer from exhaled breath. *Biomed Tech (Berl).* 2012 Aug 30.
40. Peng G, Hakim M, Broza YY, Billan S, Abdah-Bortnyak R, Kuten A, Tisch U, Haick H. Detection of lung, breast, colorectal, and prostate cancers from exhaled breath using a single array of nanosensors. *Br J Cancer.* 2010 Aug 10; 103(4): 542-51.
41. Panchapakesan B, Caprara R, Velasco V, Loomis J, King B, Xu P, et al. Micro- and nanotechnology approaches for capturing circulating tumor cells. *Cancer Nano.* 2010; 1(1-6): 3-11.
42. Gau V, Wong D. Oral fluid nanosensor test (OFNASET) with advanced electrochemical-based molecular analysis platform. *Ann N Y Acad Sci.* 2007 Mar; 1098: 401-10.
43. Qin J, Jones RC, Ramakrishnan R. Studying copy number variations using a nanofluidic platform. *Nucleic Acids Res.* 2008 Oct; 36(18): e116.
44. Tan W, Sabet L, Li Y, Yu T, Klokkevold PR, Wong DT, Ho CM. Optical protein sensor for detecting cancer markers in saliva. *Biosens Bioelectron.* 2008 Oct 15; 24(2): 266-71.
45. Pasquarelli A. Biochips: Technologies and applications. *Materials Science and Engineering C.* 2008; 28(4):495-508.

CORRESPONDENCIA

Bryan Aldemar Méndez López
bamendezl@unal.edu.co

Claudia Patricia Muñoz Chamorro
cpmunozc@unal.edu.co