

Hiposialia y Xerostomía Post Irradiación: Terapias Innovadoras en el Campo Biomolecular

Hyposialia and Xerostomy Post Irradiation: Innovative Therapies in the Biomolecular Field

Juan Ocampo^{1,2}; Sergio Olate^{3,4}; Ziyad S. Haidar^{5,6} & Bélgica Vásquez⁷

OCAMPO, J.; OLATE, S.; HAIDAR, Z. S. & VÁSQUEZ, B. Hiposialia y xerostomía post-irradiación: Terapias innovadoras en el campo biomolecular. *Int. J. Morphol.*, 37(4):1564-1571, 2019.

RESUMEN: Las glándulas salivales humanas pueden ser gravemente lesionadas por la radioterapia utilizada contra neoplasias de cabeza y cuello, produciendo hiposialia y xerostomía, las cuales afectan la salud oral y sistémica, mermando la calidad de vida de la persona. Los tratamientos convencionales actuales están diseñados para disminuir los síntomas, sin actuar sobre los cambios fisiopatológicos que se dan a nivel glandular. Esta revisión intenta analizar aquellas terapias preventivas y/o curativas que están desarrollándose en el campo biomolecular y que tienen un futuro prometedor por sus características innovadoras: terapia génica, terapia con células madre y terapia con factores de crecimiento. Se evidencia un aporte adicional de la nanotecnología, la cual está mejorando las vías de aplicación de los tratamientos.

PALABRAS CLAVE: Hiposialia; Xerostomía; Glándulas salivales; Irradiación; Terapia Génica; Células Madre; Factores de Crecimiento.

INTRODUCCIÓN

Las glándulas salivales humanas, por su tamaño, se clasifican en mayores y menores. Las de mayor tamaño están representadas por tres pares de glándulas: parótidas, submandibulares y sublinguales que, en conjunto, producen el 95% de la saliva. Las de menor tamaño están ubicadas en la cavidad oral. Todas ellas comparten características histológicas y de acuerdo con el tipo de secreción pueden ser clasificadas en serosas, mucosas y/o mixtas (Amano, 2011).

La saliva es una secreción exocrina que consiste en agua, electrolitos, inmunoglobulinas, glucoproteínas mucosas, proteínas antibacterianas, enzimas -como la amilasa-, factores de crecimiento -como el epidérmico (EGF)- y péptidos reguladores. Sus funciones, entonces, van más allá de las digestivas -lubrificantes y bioquímicas-, pues se relacionan también con la fonación, el gusto, la prevención de infecciones y el mantenimiento de la mucosa oral y del tejido dentario (Jensen *et al.*, 2010).

La disminución de la producción de saliva se conoce como hiposialia o hiposalivación y la sensación de boca seca que esto conlleva, xerostomía. La hiposialia repercute en la salud sistémica y en la calidad de vida de las personas, principalmente cuando es excesiva (Liu *et al.*, 2012). Las causas de la hiposialia son variadas, destacándose la utilización de fármacos, condiciones psicológicas -como ansiedad y depresión-, enfermedades autoinmunes -como el síndrome de Sjögren- y, las radioterapias ionizantes que se indican en el manejo del cáncer de cabeza y cuello (Li *et al.*, 2006).

Anualmente, más de medio millón de pacientes en el mundo son diagnosticados de cáncer de cabeza y cuello y, de estos casos, aproximadamente el 75 % son tratados con radioterapia (Nair & Sunavala-Dossabhoy, 2016). La lesión de las glándulas salivales es un efecto colateral inminente que comienza con la acción agresora, sobre el ADN, de radicales libres generados durante la radiólisis del agua y la producción de modificadores biológicos desde las células

¹ Programa de Doctorado en Ciencias Morfológicas, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

² Cátedra de Histología Normal, Carrera de Medicina, Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador.

³ División de Cirugía Oral, Facial y Maxilofacial, Facultad de Odontología, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

⁴ Centro de Excelencia en Estudios Morfológicos y Quirúrgicos (CEMyQ), Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

⁵ BioMATX, Facultad de Odontología, Universidad de Los Andes, Santiago, Chile.

⁶ Center for Biomedical Research and Innovation (CIIB), Faculty of Medicine, Universidad de Los Andes, Santiago, Chile.

⁷ Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Tarapacá, Arica, Chile.

irradiadas, los que inician una respuesta en las no irradiadas, que desencadena inflamación (von Bültzinslowen *et al.*, 2007). Luego se produce una inducción de genes de reacción inmune, inflamatoria y apoptótica en células que pueden estar incluso fuera del campo de irradiación (Wijers *et al.*, 2002). Esto incapacita y destruye a las células glandulares, las cuales dejan de secretar saliva e inhabilita su reparación (Baum *et al.*, 2010).

El tratamiento convencional para este efecto adverso es únicamente paliativo, mediante: 1) educación del paciente, cambios en la dieta y estilo de vida; 2) prevención de enfermedades dentales y de la mucosa oral; 3) manejo de los síntomas, uso de saliva artificial; 4) empleo de sialógogos, como la pilocarpina y la cemivelina; 5) uso de amifostina, como barrador de radicales libres, de intensos efectos colaterales (Dirix *et al.*, 2006). Por lo anterior, las investigaciones están orientando sus esfuerzos para lograr terapias encaminadas a preservar las funciones de las glándulas salivales, tales como, las terapias génica, con células madre y con factores de crecimiento, las cuales han presentado resultados alentadores. Bajo este contexto, el objetivo de esta revisión fue exponer el conocimiento actual de estas terapias, dirigidas, principalmente, a la prevención o curación de la hiposialia/xerostomía provocada por radioterapia.

TERAPIA GÉNICA

La terapia génica se basa en la transferencia de material genético, tales como, genes naturales, genes quiméricos, fragmentos de ADN y ribozimas, a las células de un individuo, con el propósito de tratar o prevenir una enfermedad. La transferencia del material a la célula diana, sea fuera del organismo (*ex vivo*) o por administración directa (*in vivo*), se denomina transducción, y el gen transducido, transgén (Ruiz-Castellanos & Sangro, 2005).

La búsqueda experimental de su utilización como preservador de la función de las glándulas salivales irradiadas empezó hace más de veinte años. La transferencia ha sido previa a la dosis de radiación, de forma concurrente y *a posteriori*, mediante el uso de transportadores virales y no virales de genes (Nair & Sunavala-Dossabhoy).

Existen tres tipos de virus recombinantes cuyo genoma, alterado genéticamente con la inclusión de un transgén, permite introducir su ácido nucleico a la célula huésped durante la transducción viral. Estos tipos de transportadores o vectores son: adenovirus (ADN), virus adeno-asociados (ADN) y retrovirus (ARN), en el último de los cuales se incluyen a los lentivirus (Mastrangeli *et al.*, 1994; Pérez *et al.*, 2010). Los primeros tienen una expresión génica rápida y fuerte, pero corta en el tiempo, ya que ocasionan

una respuesta inmune que la disminuye. Los segundos y terceros tienen una baja infectividad, pero una reacción inmune moderada, por lo que su expresión génica es de mayor duración (Baum *et al.*, 2003).

Entre los transportadores no virales tenemos a los plásmidos, lípidos catiónicos y nanopartículas (Nair & Sunavala-Dossabhoy). Los plásmidos, tienen el inconveniente de que el ADN que contienen puede ser degradado por las enzimas nucleasas (Niedzinski *et al.*, 2003). La combinación de lípidos catiónicos y ADN se ha mostrado ineficiente *in vivo*, debido a un déficit de su adsorción en membranas celulares (Baccaglini *et al.*, 2001). La nanotecnología se encuentra en pleno auge; utiliza nanopartículas, que pueden ser de naturaleza lipídica, polimérica y/o de material inorgánico, que contienen al transgén ensamblado a través de atracciones electrostáticas. Sin embargo, pese a sus ventajas, se necesita superar inconvenientes, tales como, una alta biodegradación, aclaramiento renal y posible citotoxicidad (Wagner, 2014).

Por otra parte, Nair & Sunavala-Dossabhoy, aportan con una clasificación de las terapias génicas para la disfunción salival inducida por radiación, basada en sus mecanismos de acción, indicando cuatro grupos: a) terapia génica secretora, b) terapia génica de crecimiento compensador, c) terapia génica reparadora y, d) terapia génica anti-apoptosis.

Terapia génica para el mantenimiento de la secreción glandular. Fue la primera que obtuvo resultados exitosos para disminuir la hiposecreción salival de glándulas submandibulares de ratas previamente irradiadas, usando como vector un adenovirus y como transgén el de la acuaporina 1 (Ad-AQP1). Las acuaporinas son una familia de proteínas transmembrana que transportan agua y solutos dentro y fuera de las células. El tipo 1 se encuentra, predominantemente, en las células endoteliales. Se asumió que el gradiente osmótico generado por la bomba K⁺/H⁺ en células del conducto salival excretor movería agua a la luz del propio conducto, a través de las acuaporinas (He *et al.*, 1997; Gresz *et al.*, 2001). Se han hecho estudios posteriores en primates no humanos (O'Connell *et al.*, 1999) y en cerdos miniatura (Shan *et al.*, 2005), con resultados mixtos. En seres humanos, los hallazgos fueron alentadores, pues se evidenció un notable y más largo alivio de la xerostomía, con una respuesta inmune localizada leve (Baum *et al.*, 2012; Zheng *et al.*, 2015). Después se cambió de vector a virus adeno-asociados y se hicieron investigaciones en murinos, cerdos miniatura y primates no humanos, observándose una transducción exitosa, un detrimento de la hiposecreción salival y una mínima inflamación glandular (Voutetakis *et al.*, 2007; Gao *et al.*, 2011; Momot *et al.*, 2014). Las prue-

bas clínicas están en ejecución. También se han usado transportadores génicos no virales de AQP1, como plásmidos, asistidos con ultrasonido para limitar la degradación enzimática, no obstante, la duración de su efecto fue muy corto (Wang *et al.*, 2015).

Terapia génica para compensar el crecimiento glandular. Esta se ha enfocado en la utilización de dos transgenes combinados y uno por sí solo. El primer caso, es el de la transferencia profiláctica, mediante un adenovirus, de los genes del factor de crecimiento fibroblástico básico (bFGF) y el factor de crecimiento vascular endotelial (VEFGF), los cuales son dos conocidos mitógenos que promueven la angiogénesis y estimulan el crecimiento celular (Thomas, 1996; Beenken & Mohammadi, 2009). Los estudios realizados se han llevado a cabo en modelos murinos (Cotrim *et al.*, 2007); en cerdos miniatura, con un vector híbrido retro-adenoviral, se consiguió una expresión génica extendida. Es importante considerar un aumento de la neovascularización de tumores sólidos, como carcinomas de cabeza y cuello (Nair & Sunavala-Dossabhoj). El segundo caso es el del transgén del factor de crecimiento queratinocítico (KGF), que promueve el crecimiento epitelial específico (Miki *et al.*, 1991). Mediante un transportador híbrido retro-adenoviral se ha logrado proteger a las glándulas salivales de una hipofunción por radiación. La acción de este factor de crecimiento es mediante la estimulación del receptor tipo 2 del FGF y, aunque no se ha evidenciado la actuación de estos receptores en el crecimiento de tumores de esta zona, su aplicación clínica debe ser meditada (Zheng *et al.*, 2011).

Terapia génica reparadora. Se realiza mediante el transgén de la *tousled-like kinase 1B* (TLK1B), conocida por su intervención en la replicación y reparación del ADN y en el ensamblaje de la cromatina, incluso a nivel de células madre de reserva. Sus vectores más utilizados han sido adenovirus y, además, virus adeno-asociados para una mayor duración de la expresión y una estimulación sobre células ductales, más que acinares. Se han observado acciones preventivas *in vivo* en glándulas submandibulares de ratas (Palaniyandi *et al.*, 2011). También será necesario estudios para determinar su rol a nivel del crecimiento tumoral.

Terapia génica antiapoptosis. Utiliza tres exponentes principales. El primero es la proteína quinasa C de tipo delta (PKC delta), la cual inhibe la fosforilación oxidativa de tirosina y, por ende, disminuye la apoptosis celular (Wie *et al.*, 2014). Se ha observado un silenciamiento del gen proapoptótico en glándulas salivales murinas, mediante la aplicación retro ductal preventiva de PKC delta y ARN pequeño de interferencia SiRNA, incluidos en nanopartículas, las cuales produjeron una respuesta inmunitaria (Arany *et al.*, 2013). El se-

gundo es el de las proteínas de choque térmico o de estrés (HSP), que pertenecen al grupo de proteínas chaperonas, las cuales responden a elevadas temperaturas o a radiaciones ionizantes (Schmid & Multhoff, 2012), suprimiendo la activación de las caspasas y la liberación de factores mitocondriales proapoptóticos, disminuyendo así la pérdida celular en glándulas salivales murinas, debido a la radiación (Lee *et al.*, 2006). El tercero incluye a la proteína embrionaria Sonic hedgehog (Shh), la cual regula el crecimiento y la proliferación celular a través del control transcripcional de reguladores del ciclo celular (Riobó *et al.*, 2006); se ha observado que un transgén adenoviral con Shh suprimió la hipofunción de glándulas salivales murinas inducida por radiación (Hai *et al.*, 2016). En lo que concierne a la terapia antiapoptótica, será necesario considerar siempre que las fallas en la apoptosis pueden conducir a estados cancerígenos, por lo que más estudios deben ser llevados a cabo.

TERAPIA CON CÉLULAS MADRE

Esta se basa en la regeneración, mediante la utilización de células madre, de los tejidos comprometidos por alguna lesión, como es el caso de la inducida por radiación. Ferreira *et al.* (2016) y Lombart *et al.* (2017), aportan con una clasificación de los enfoques empleados para las terapias: a) células madre epiteliales de glándulas salivales o cultivos de explantes y, b) células madre no epiteliales y/o su secretoma activo. Secretoma es el conjunto de proteínas bioactivas, no rodeadas de membrana, secretadas al espacio intercelular por la propia célula, siendo las más abundantes en el cuerpo humano aquellas de las glándulas salivales (Uhlén *et al.*, 2015). Como parte del secretoma glandular salival, tenemos a muchos de los conocidos factores de crecimiento, a los cuales haremos referencia en el acápite final. Existe un tercer tipo de enfoque, el cual usa la generación de glándulas salivales por medio de la bioingeniería, a partir de epitelio y mesénquima fetal (Ogawa *et al.*, 2013).

Terapia mediante trasplante de células madre epiteliales glandulares autólogas. Esta terapia tuvo sus primeros resultados alentadores contra la hiposecreción salival hace poco más de una década, mediante el uso de salisferas, las cuales son cultivos, *in vitro*, esferoidales flotantes de células madre de glándulas salivales, en un inicio, murinas; aquellas células madre de receptor c-KIT+ (CD117), luego de ser auto trasplantadas, consiguieron la formación de nuevos acinos y conductos, así como, la restauración funcional de glándulas irradiadas (Lombaert *et al.*, 2008). También se han trasplantado salisferas humanas de células madre KIT+ a ratones, previamente irradiados, con lo que se logró restaurar la funcionalidad glandular. Los mayores inconvenientes se deben al escaso número de esta subpoblación de células madre, así como, a su renovación limitada en las salisferas (Pringle *et al.*, 2016).

Se está esperando la fase clínica experimental, a pesar de que una investigación reciente indicó que las células madre c-KIT+ no constituyen un marcador confiable para células madre de glándulas salivales y la no existencia de una población de células madre c-KIT+ en estas; más bien aprueba la utilización de células madre con marcador K14+ (citoqueratina 14) como fuente de células glandulares salivales (Kwak *et al.*, 2018). En todo caso, existen otros marcadores, además de los dos mencionados, como son el K5, los CD49f, CD29, CD44, CD81, CD90, CD105, entre otros (Lombaert *et al.*, 2008; Pradhan-Bhatt *et al.*, 2014).

Terapia mediante trasplante de células madre no epiteliales/no glandulares salivales. Incluye células madre derivadas de la médula ósea (BMSC), células madre mesenquimáticas derivadas de la médula ósea (BM-MSC), células madre mesenquimáticas derivadas de tejido adiposo humano (hAdMSC), células madre mesenquimáticas derivadas de las glándulas salivales (SG-MSC-like), células madre amnióticas, células madre embrionarias (ESC) y células madre pluripotentes inducidas (iPSC) (Lombaert *et al.*, 2017).

La acción de BMSC y BM-MSC, *in vitro*, induce la liberación de factores paracrinos (secretoma) que mejoran la producción de saliva, reducen la apoptosis y cambian la densidad microvascular en glándulas salivales de ratones (Tran *et al.*, 2013). Se ha observado que, *in vivo*, se induce una acción paracrina similar que actúa sobre los remanentes de las glándulas que han sufrido daños por la radiación, en ratones (Lim *et al.*, 2013a).

hAdMSC, administradas sistémicamente en ratones, produjo una disminución de la apoptosis de los acinos epiteliales y de la fibrosis de las glándulas salivales, además de un aumento de la secreción de mucina y amilasa en la saliva de estos animales (Lim *et al.*, 2013b).

Mientras las células madre mesenquimáticas y aquellas derivadas de la médula ósea pueden no diferenciarse eficientemente en células glandulares salivales, existen otros tipos de células pluripotentes que están, desde hace poco, en proceso de investigación (Lombaert *et al.*, 2017). En ratones, un estudio con ESC murina y fibroblastos derivados de glándulas salivales humanas, cultivadas conjuntamente, han dado las señales para expresar marcadores específicos de glándulas salivales y reconstituir estructuras de este tipo, aunque no está clara su acción fisiológica (Kawakami *et al.*, 2013).

Las iPSC derivadas de células de glándulas salivales, al igual que las ESC, tienen prometedoras características para ser utilizadas como coadyuvantes en terapia de células madre, mientras se compruebe su estabilidad genómica y su baja acción oncogénica (Ono *et al.*, 2015).

Un paso más adelante sería la **construcción de glándulas salivales mediante la bioimpresión 3D**, a partir de epitelio y mesénquima fetal, que luego se han trasplantado en modelos murinos adultos, para formar una nueva, completa y funcional glándula (Ogawa *et al.*). Esta técnica se basa en la bioingeniería, así como en el uso de la nanotecnología. Respecto a la bioingeniería, se necesitan tres componentes esenciales: 1) contactos intercelulares, 2) contactos celulares con proteínas de la matriz extracelular y, 3) un armazón 3D biocompatible y biodegradable, el cual pueda mantener unidos a estos componentes (Aframian & Palmon, 2008). Existen diversos materiales para construir el armazón, como los de tipo biológico: colágeno, ácido hialurónico, seda, fibrina, quitosano, alginato, etc.; los de tipo sintético: etilenglicol, ácido poli glicólico y ácido poli láctico; o una combinación de los dos tipos (Peters *et al.*, 2014). Es importante que esta estructura sea tridimensional y no una monocapa 2D, ya que esta última, se pierden funciones biológicas (Jang *et al.*, 2015). Respecto a la nanotecnología, se están empleando ensamblajes magnéticos de nanopartículas para enlazar a las células y demás estructuras entre sí, de tal forma que se respeten sus polaridades apicales y basales, en lo microscópico y, además, técnicas quirúrgicas específicas, que puedan orientar el organoide -mini glándula- trasplantado y continuar creciendo, por ejemplo, en concordancia con las ramificaciones de sistemas de conductos, en lo macroscópico (Pradhan *et al.*, 2010; Lin *et al.*, 2016). Los estudios en este campo están en pleno desarrollo.

TERAPIA CON FACTORES DE CRECIMIENTO

Los secretomas están conformados por un conjunto de proteínas bioactivas secretadas por nuestras células, especialmente aquellas de las glándulas salivales, entre las cuales tenemos citoquinas, proteínas señalizadoras y factores de crecimiento (Uhlén *et al.*). Estos últimos han mostrado acciones tisulares mitóticas y regeneradoras; de hecho, la terapia basada en el empleo de la transducción genética tiene frecuentemente, como objetivo, propiciar la producción de estas moléculas bioactivas en la célula huésped y así lograr un efecto reparador.

El enfoque de este tipo de terapia se cimienta en la aplicación directa de factores de crecimiento en el tejido intervenido, antes y/o después de la irradiación, siendo las sustancias más estudiadas: el factor de crecimiento fibroblástico básico (bFGF), el factor de crecimiento queratinocítico tipo 1 (KGF-1 o FGF7), el factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-1) y el factor de crecimiento epidérmico (EGF) (Ferreira *et al.*). Las moléculas empleadas son recombinantes humanas y en todos estos casos es importante determinar la correcta vía de administración, el

vehículo y los efectos adversos. La nanotecnología está acompañando muy de cerca a esta clase de terapias.

Factor de crecimiento fibroblástico beta. Es posiblemente el más estudiado, un conocido mitógeno que influencia la migración, diferenciación y regeneración celular, además de inhibir la apoptosis, el cual ha presentado efectos paracrinos protectores post irradiación, una vez inyectados en una solución, directamente en glándulas submandibulares de ratones (Kojima *et al.*, 2011; Lim *et al.*, 2011). También se ha observado, con este factor, protección contra la acción de la radiación sobre el endotelio pulmonar (Fuks *et al.*, 1994) y favorecimiento de la regeneración de heridas en murinos (Kobayashi *et al.*, 2016). Los efectos de bFGF han sido examinados en glándulas salivales atroficas (Okazaki *et al.*, 2000), glándulas parótidas irradiadas, *in vitro* (Thula *et al.*, 2005) y por medio de genes transferidos, *in vivo*, con un vector adenoviral (Cotrim *et al.*). De la misma forma que en ocasiones anteriores, a pesar de su efectividad protectora contra la radiación, es necesario considerar el riesgo de su acción promotora del crecimiento de células cancerosas, lo cual es difícil de controlar mediante la transducción de genes del bFGF, por lo que se ha vislumbrado una mejor opción en la administración directa del factor y, mejor aún, mediante un sistema regulado de liberación. En esto último, los avances tecnológicos han permitido la utilización de microesferas de ácido poliláctico-co-glicólico, que encapsulan, almacenan y liberan bFGF, sin afectar la funcionalidad de este (Kojima *et al.*). Con el advenimiento de la nanotecnología, en la actualidad se están ensamblando nanopartículas con este mismo propósito, las cuales han obtenido resultados expectantes, tanto *in vitro* como *in vivo*, especialmente en ratones (Haidar, 2010).

Factor de crecimiento queratinocítico tipo 1. Es un miembro de las subfamilias 7, 10 y 22 del factor de crecimiento fibroblástico y actúa a través de un subconjunto de sus receptores (Rotolo *et al.*, 2008). Se lo relaciona con el crecimiento, diferenciación y supervivencia celular epitelial, además de la reparación del ADN (Cotrim *et al.*). También se ha evidenciado una expansión del pool de células madre sobrevivientes en ratones irradiados, cuando se administró directamente en sus glándulas submandibulares, de mejores resultados post irradiación que previo a esta (Lombaert *et al.*, 2006). Choi *et al.* (2017) demostraron que KGF-1 redujo el daño del ADN y la apoptosis mediada por la vía de la proteína p53 -antitumoral-, en células de la glándula parótida humana, *in vitro*; en ratas, observaron un efecto protector tras su administración local en glándulas salivales, previo y posterior a la irradiación, *in vivo*, midiendo la cantidad y calidad de la saliva (concentración de amilasa y EGF). Su aplicación local y no sistémica se debe a la posibilidad de generar malignidad, si no se controla su acción pro mitótica (Finch & Rubin, 2006).

Factor de crecimiento insulínico tipo 1. Es una proteína conocida como somatomedina C, la cual es estimulada por la hormona de crecimiento y constituye un mediador para sus efectos; también tiene acciones similares a la insulina, interviene en el desarrollo y crecimiento celular y en la síntesis de ADN. Grundmann *et al.* (2010) observaron que la administración sistémica de IGF-1 en ratones, cuyas glándulas salivales habían sido irradiadas, restauró la funcionalidad de estas, a través de la normalización de la proliferación celular y mejoró la expresión de amilasa. Por su parte, Meyer *et al.* (2017), evidenciaron un incremento en las roturas de la doble cadena del ADN de las células de las glándulas parótidas en ratones sometidos a radiación, lo cual fue resuelto mediante la aplicación sistémica de IGF-1, previo a la radiación, en los mismos ratones; además, llegaron a la conclusión que el IGF-1 repara el ADN por activación de las proteínas Sirtuinas (SirT-1). Como en cualquier uso de factores de crecimiento, surge la preocupación de sus efectos promotores de tumores en su administración sistémica; se ha sugerido una aplicación intraductal glandular. No obstante, para una mayor seguridad, nuevos métodos controlados de liberación deben desarrollarse.

Factor de crecimiento epidérmico. Es un polipéptido que induce proliferación, diferenciación y migración celular en todo el cuerpo; se ha observado su disminución en saliva luego de irradiación, por lo cual se ha pensado que tiene un rol importante en la regeneración de las glándulas salivales (Christensen *et al.*, 1996). Thula *et al.*, no hallaron efectos radioprotectores de este factor, al ser inyectado en cultivos de glándulas parótidas de ratas, *in vitro*. No obstante, Ramasamy *et al.* (2015), describieron un novedoso modelo *in vitro* de encapsulación y transporte de EGF, basado en un núcleo de nanopartículas lipídicas sólidas con una cubierta de biopolímeros, la cual fue capaz de ofrecer una liberación predecible y controlada de este. Más adelante, se evidenció, *in vivo*, una acción radioprotectora de nanocápsulas con EGF, construidas con un núcleo de liposomas rodeado por alginato y quitosano, sobre glándulas submandibulares murinas.

La **nanomedicina**, como subárea de la nanotecnología, tiene tres desarrollos principales previstos: la utilización de biosensores para la biodetección, el diagnóstico por biomarcadores y la administración de drogas, proteínas o genes (Haidar). Los actuales estudios de administración de factores de crecimiento han necesitado de sistemas de liberación que puedan controlar bastante bien la dosis de entrega, considerando la potencial malignidad que podrían generar. El empleo de nanopartículas es una opción cada vez más aplicada para lograr este objetivo. Asimismo, existe la posibilidad del uso de más de un factor de crecimiento, concomitantemente.

En la Tabla I podemos observar un cuadro donde se sintetizan los diferentes tratamientos biomoleculares que se están desarrollando, actualmente.

CONCLUSIONES

La hiposialia y su consecuente xerostomía, especialmente aquellas que son un efecto colateral de la radioterapia indicada en neoplasias de cabeza y cuello, necesitan de nuevas opciones terapéuticas que puedan prevenir o revertir sus signos y síntomas de manera rápida y contundente, para mejorar la salud sistémica y la calidad de vida de los pacientes.

Los campos de la terapia génica, terapia con células madre y terapia con factores de crecimiento, están siendo científicamente explorados con gran profundidad, desde hace

alrededor de dos décadas y mucho más en la actualidad, debido a los avances tecnológicos contemporáneos.

Se necesitan más investigaciones *in vivo*, empleando modelos de experimentación probados, las cuales permitan identificar tratamientos idóneos, exentos de efectos indeseables, tales como inflamación intensa, respuesta inmune exagerada del huésped y favorecimiento del crecimiento tumoral, entre otros, lo cual permitirá transitar en los estudios clínicos de una forma segura.

Para esto, será imprescindible que los nuevos tratamientos permitan una liberación controlada en el tiempo de la dosis de la sustancia a ser administrada. La nanotecnología es una valiosa herramienta para considerar, la cual podría dotar de esta última característica a cualquiera de las terapias aquí presentadas, con lo cual, disminuirían considerablemente los efectos colaterales que podrían presentarse.

Tabla I. Terapias biomoleculares contra la hiposialia / xerostomía producida por irradiación de glándulas salivales.

Tipos de Terapia		
Terapia Génica	Terapia con Células Madre	Terapia con Factores de Crecimiento
Secretora: Ad-AQP1	Epiteliales (receptores): cKit ⁺ (CD117) K14 K5 CD49f CD29 CD44 CD81 CD90 CD105	bFGF: Puro. En microesferas. En nanopartículas.
De crecimiento Compensador: Ad-bFGF Ad-VEGF Ad-KGF	No Epiteliales: BMSC BM-MSK hAdMSC SG-MSK-like ESC iPSC	KGF-1 (FGF7): Puro. En nanopartículas (en estudio).
Reparadora: TLK1B	Bioimpresión 3D: Con ayuda de nanotecnología, para construir nanoarmazones.	IGF-1: Puro. En nanopartículas (en estudio).
Antiapoptótica: PKC delta HSP Shh		EGF: Puro. En nanopartículas.

OCAMPO, J.; OLATE, S.; HAIDAR, Z. S. & VÁSQUEZ, B. Hiposialia and xerostomy post-irradiation: Innovative therapies in the molecular field. *Int. J. Morphol.*, 37(4):1564-1571, 2019.

SUMMARY: Human salivary glands can be seriously injured by the radiotherapy used against head and neck neoplasms, producing hyposialia and xerostomy, which affect oral and systemic health, diminishing the person's quality of life. Current conventional treatments are designed to reduce symptoms, without acting on the pathophysiological changes that occur at

the glandular level. This review attempts to analyze those preventive and/or curative therapies that are developing in the biomolecular field and that have a promising future due to their innovative features: Gene therapy, stem cell therapy and growth factor therapy. An additional contribution of nanotechnology is evident, which is improving the routes of treatment application.

KEY WORDS: Hyposialia; Xerostomy; Salivary glands; Irradiation; Gene therapy; Stem Cells; Growth Factors.

REFERENCIAS

- Aframian, D. J. & Palmon A. Current status of the development of an artificial salivary gland. *Tissue Eng. Part B*, 14(2):187-98, 2008.
- Amano, O. The salivary gland: anatomy for surgeons and researchers. *Jpn. J. Oral Maxillofac. Surg.*, 57(7):384-93, 2011.
- Arany, S.; Benoit, D. S.; Dewhurst, S. & Ovit, C. E. Nanoparticle-mediated gene silencing confers radioprotection to salivary glands in vivo. *Mol. Ther.*, 21(16):1182-94, 2013.
- Baccaglioni, L.; Shamsul-Hoque, A. T.; Wellner, R. B.; Goldsmith, C. M.; Redman, R. S.; Sankar, V.; Kingman, A.; Barnhart, K. M.; Wheeler, C. J. & Baum, B. J. Cationic liposome-mediated gene transfer to rat salivary epithelial cells in vitro and in vivo. *J. Gene Med.*, 3(1):82-90, 2001.
- Baum, B. J.; Alevizos, I.; Zheng, C.; Cotrim, A. P.; Liu, S.; McCullagh, L.; Goldsmith, C. M.; Citrin, D. E.; Mitchell, J. B.; Nottingham, L. K.; Rudy, S. F.; Van Waes, C.; Whatley, M. A.; Ibrahim, J. S.; Chiorini, J. A.; Danielides, S.; Turner, R. J.; Patronas, N. J.; Chen, C. C.; Nikolov, N. P. & Illei, G. G. Early responses to adenoviral-mediated transfer of the aquaporin-1 cDNA for radiation-induced salivary hypofunction. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 109(47):19403-7, 2012.
- Baum, B. J.; Goldsmith, C. M.; Kok, M. R.; Lodde, B. M.; van Mello, N. M.; Voutetakis, A.; Wang, J.; Yamano, S. & Zheng, C. Advances in vector-mediated gene transfer. *Immunol. Lett.*, 90(2-3):145-9, 2003.
- Baum, B. J.; Zheng, C.; Alevizos, I.; Cotrim, A. P.; Liu, S.; McCullagh, L.; Goldsmith, C. M.; McDermott, N.; Chiorini, J. A.; Nikolov, N. P. & Illei, G. G. Development of a gene transfer-based treatment for radiation-induced salivary hypofunction. *Oral Oncol.*, 46(1):4-8, 2010.
- Beenken, A. & Mohammadi, M. The FGF family: biology, pathophysiology and therapy. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 8(3):235-53, 2009.
- Choi, J. S.; Shin, H. S.; An, H. Y.; Kim, Y. M. & Lim, J. Y. Radioprotective effects of keratinocyte growth factor-1 against irradiation-induced salivary gland hypofunction. *Oncotarget*, 8(8):13496-508, 2017.
- Christensen, M. E.; Hansen, H. S.; Poulsen, S. S.; Bretlau, F. & Nexø, E. Immunohistochemical and quantitative changes in salivary EGF, amylase and haptocorrin following radiotherapy for oral cancer. *Acta Oto-Laryngol.*, 116(1):137-43, 1996.
- Cotrim, A. P.; Sowers, A.; Mitchell, J. B. & Baum, B. J. Prevention of irradiation-induced salivary hypofunction by microvessel protection in mouse salivary glands. *Mol. Ther.*, 15(12):2101-6, 2007.
- Dirix, P.; Nuyts, S. & Van den Bogaert, W. Radiation-induced xerostomia in patients with head and neck cancer. *Cancer*, 107(11):2525-34, 2006.
- Ferreira, J. N.; Rugarunlert, S.; Urkasemsin, G.; Adine, C. & Souza, G. R. Three-dimensional bioprinting nanotechnologies towards clinical application of stem cells and their secretome in salivary gland regeneration. *Stem Cells Int.*, 2016:7564689, 2016.
- Finch, P. W. & Rubin, J. S. Keratinocyte growth factor expression and activity in cancer: implications for use in patients with solid tumors. *J. Natl. Cancer Inst.*, 98(12):812-24, 2006.
- Fuks, Z.; Persaud, R. S.; Alfieri, A.; McLoughlin, M.; Ehleiter, D.; Schwartz, J. L.; Seddon, A. P.; Cordon-Cardo, C. & Haimovitz-Friedman, A. Basic fibroblast growth factor protects endothelial cells against radiation induced programmed cell death in vitro and in vivo. *Cancer Res.*, 54(10):2582-90, 1994.
- Gao, R.; Yan, X.; Zheng, C.; Goldsmith, C. M.; Afione, S.; Hai, B.; Xu, J.; Zhou, J.; Zhang, C.; Chiorini, J. A.; Baum, B. J. & Wang, S. AAV2-mediated transfer of the human aquaporin-1 cDNA restores fluid secretion from irradiated miniature pig parotid glands. *Gene Ther.*, 18(1):38-42, 2011.
- Gresz, V.; Kwon, T. H.; Hurley, P. T.; Varga, G.; Zelles, T.; Nielsen, S.; Case, R. M. & Steward, M. C. Identification and localization of aquaporin water channels in human salivary glands. *Am. J. Gastrointest. Liver Physiol.*, 281(1):G247-54, 2001.
- Grundmann, O.; Fillinger, J. L.; Victory, K. R.; Burd, R. & Limesand, K. H. Restoration of radiation therapy-induced salivary gland dysfunction in mice by post therapy IGF-1 administration. *BMC Cancer*, 10:417, 2010.
- Hai, B.; Zhao, Q.; Qin, L.; Rangaraj, D.; Gutti, V. R. & Liu, F. Rescue effects and underlying mechanisms of intragland Shh gene delivery on irradiation-induced hyposalivation. *Hum. Gene Ther.*, 27(5):390-9, 2016.
- Haidar, Z. S. Bio-inspired-functional colloidal core-shell polymeric-based nanosystems: technology promise in tissue engineering, bioimaging and nanomedicine. *Polymers*, 2:323-52, 2010.
- He, X.; Tse, C. M.; Donowitz, M.; Alper, S. L.; Gabriel, S. E. & Baum, B. J. Polarized distribution of key membrane transport proteins in the rat submandibular gland. *Pflugers Arch.*, 433(3):260-8, 1997.
- Jang, S. I.; Ong, H. L.; Gallo, A.; Liu, X.; Illei, G. & Alevizos, I. Establishment of functional acinar-like cultures from human salivary glands. *J. Dent. Res.*, 94(2):304-11, 2015.
- Jensen, S. B.; Pedersen, A. M.; Vissink, A.; Andersen, E.; Brown, C. G.; Davies, A.; Dutilh, N. J.; Fulton, J. S.; Jankovic, L.; Lopes, N. N. F.; Mello, A. L. S.; Muniz, L. V.; Murdoch-Kinch, C. A.; Nair, R. G. & Napeñas, J. J.; Nogueira-Rodrigues, A.; Saunders, D.; Stirling, B.; von Bültzingslöwen, I.; Weikel, D. S.; Elting, L. S.; Spijkervet, F. K.; Brennan, M. T.; Salivary Gland Hypofunction/Xerostomia Section, Oral Care Study Group; Multinational Association of Supportive Care in Cancer (MASCC)/ International Society of Oral Oncology (ISOO). A systematic review of salivary gland hypofunction and xerostomia induced by cancer therapies: prevalence, severity and impact on quality of life. *Support Care Cancer*, 18(8):1039-60, 2010.
- Kawakami, M.; Ishikawa, H.; Tachibana, T.; Tanaka, A. & Mataga, I. Functional transplantation of salivary gland cells differentiated from mouse early ES cells in vitro. *Hum. Cell*, 26(2):80-90, 2013.
- Kobayashi, F.; Matsuzaka, K. & Inoue, T. The effect of basic fibroblast growth factor on regeneration in a surgical wound model of rat submandibular glands. *Int. J. Oral. Sci.*, 8:16-23, 2016.
- Kojima, T.; Kanemaru, S.; Hirano, S.; Tateya, I.; Suehiro, A.; Kitani, Y.; Kishimoto, Y.; Ohno, S.; Nakamura, T. & Ito, J. The protective efficacy of basic fibroblast growth factor in radiation-induced salivary gland dysfunction in mice. *Laryngoscope*, 121(2):1870-5, 2011.
- Kwak, M.; Ninche, N.; Klein, S.; Saur, D. & Ghazizadeh, S. cKit+ cells in adult salivary glands do not function as tissue stem cells. *Sci. Reps.*, 8:14193, 2018.
- Lee, H. J.; Lee, Y. J.; Kwon, H. C.; Bae, S.; Kim, S. H.; Min, J. J.; Cho, C. K. & Lee, Y. S. Radioprotective effect of heat shock protein 25 on submandibular glands of rats. *Am. J. Pathol.*, 169(5):1601-11, 2006.
- Li, Z.; Zhao, D.; Gong, B.; Xu, Y.; Sun, H.; Yang, B. & Zhao X. Decreased saliva secretion and down-regulation of AQP5 in submandibular gland in irradiated rats. *Radiat. Res.*, 165(6):678-87, 2006.
- Lim, J. Y.; Chang, Y. H.; Han, J. Y.; Kim, H. J.; Haidar, Z. S. & Kim, Y. M. Radioprotective effect of local delivery of bFGF against radiation-induced salivary gland damage. *Oral Oncol.*, 47:32-3, 2011.
- Lim, J. Y.; Yi, T.; Choi, J. S.; Jang, Y. H.; Lee, S.; Kim, H. J.; Song, S. U. & Kim, Y. M. Intraglandular transplantation of bone marrow-derived clonal mesenchymal stem cells for amelioration of post-irradiation salivary gland damage. *Oral Oncol.*, 49(2):136-43, 2013a.
- Lim, J. Y.; Ra, J. C.; Shin, I. S.; Jang, Y. H.; An, H. Y.; Choi, J. S.; Kim, W. C. & Kim, Y. M. Systemic transplantation of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells for the regeneration of irradiation-induced salivary gland damage. *PLoS ONE*, 8(8):e71167, 2013b.
- Lin, H.; Dhanani, N.; Tseng, H.; Souza, G. R.; Wang, G.; Cao, Y.; Ko, T. C.; Jiang, H. & Wang, R. Nanoparticle improved stem cell therapy for erectile dysfunction in a rat model of cavernous nerve injury. *J. Urol.*, 195(3):788-95, 2016.
- Liu, B.; Dion, M. R.; Jurasic, M. M.; Gibson, G. & Jones, J. A. Xerostomia and salivary hypofunction in vulnerable elders: prevalence and etiology. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.*, 114(1):52-60, 2012.
- Lombaert, I. M. A.; Brunsting, J. F.; Wierenga, P. K.; Faber, H.; Stokman, M. A.; Kok, T.; Visser, W. H.; Kampinga, H. H.; de Haan, G. & Coppes, R. P. Rescue of salivary gland function after stem cell transplantation in irradiated glands. *PLoS ONE*, 3(4):e2063, 2008.
- Lombaert, I. M. A.; Brunsting, J. F.; Wierenga, P. K.; Kampinga, H. H.; de Haan, G. & Coppes, R. P. Keratinocyte growth factor prevents radiation damage to salivary glands by expansion of the stem/progenitor pool. *Stem Cells*, 26(10):2595-601, 2006.
- Lombaert, I.; Movahednia, M.; Adine, C. & Ferreira, J. N. Concise review: salivary gland regeneration: therapeutic approaches from stem cells to tissue organoids. *Stem Cells*, 35(1):97-105, 2017.
- Mastrangeli, A.; O'Connell, B.; Aladib, W.; Fox, P. C.; Baummy, B. J. & Crystal, R. G. Direct in vivo adenovirus-mediated gene transfer to salivary glands. *Am. J. Physiol.*, 266(6 Pt 1):G1146-55, 1994.

- Meyer, S.; Chibly, A. M.; Burd, R. & Limesand, K. H. Insuline-like growth factor-I-mediated DNA repair in irradiated salivary glands is sirtuin-1 dependent. *J. Dent. Res.*, 96(2):225-32, 2017.
- Miki, T.; Fleming, T. P.; Bottaro, D. P.; Rubin, J. S.; Ron, D. & Aaronson, S. A. Expression cDNA cloning of the KGF receptor by creation of a transforming autocrine loop. *Science*, 251(4989):72-5, 1991.
- Momot, D.; Zheng, C.; Yin, H.; Elbekay, R.; Vallant, M. & Chiorini, J. A. Toxicity and biodistribution of the serotype 2 recombinant adeno-associated viral vector, encoding Aquaporin-1, after retroductal delivery to a single mouse parotid glands. *PLoS ONE*, 9:92382, 2014.
- Nair, R. P. & Sunavala-Dossabhoj, G. Promising gene therapeutics for salivary gland radiotoxicity. *AIMS Med. Sci.*, 3(4):329-44, 2016.
- Niedzinski, E. J.; Chen, Y. J.; Olson, D. C.; Parker, E. A.; Park, H.; Udove, J. A.; Scollay, R.; McMahon, B. M. & Bennett, M. J. Enhanced systemic transgene expression after nonviral salivary gland transfection using a novel endonuclease inhibitor/DNA formulation. *Gene Ther.*, 10(26):2133-8, 2003.
- O'Connell, A. C.; Baccaglini, L.; Fox, P. C.; O'Connell, B. C.; Kenshalo, D.; Oweisy, H.; Shamsul Hoque, A. T. M.; Sun, D.; Herscher, L. L.; Braddon, V. R.; Delporte, C. & Baum, B. J. Safety and efficacy of adenovirus-mediated transfer of the human aquaporin-1 cDNA to irradiated parotid glands of non-human primates. *Cancer Gene Ther.*, 6(6):505-13, 1999.
- Ogawa, M.; Oshima, M.; Imamura, A.; Sekine, Y.; Ishida, K.; Yamashita, K.; Nakajima, K.; Hirayama, M.; Tachikawa, T. & Tsuji, T. Functional salivary gland regeneration by transplantation of a bioengineered organ germ. *Nat. Commun.*, 4:2498, 2013.
- Okazaki, Y.; Kagami, H.; Hattori, T.; Hishida, S.; Shigetomi, T. & Ueda, M. Acceleration of rat salivary gland tissue repair by basic fibroblast growth factor. *Arch. Oral Biol.*, 45(10):911-9, 2000.
- Ono, H.; Obana, A.; Usami, Y.; Sakai, M.; Nohara, K.; Egusa, H. & Sakai, T. Regenerating salivary glands in the microenvironment of induced pluripotent stem cells. *BioMed. Res. Int.*, 2015:293570, 2015.
- Palaniyandi, S.; Odaka, Y.; Green, W.; Abreo, F.; Caldito, G. & De Benedetti, A. & Sunavala-Dossabhoj, G. Adenoviral delivery of Tausled kinase for the protection of salivary glands against ionizing radiation damage. *Gene Ther.*, 18(3):275-82, 2011.
- Pérez, P.; Rowzee, A. M.; Zheng, C.; Adriaansen, J. & Baum, B. J. Salivary epithelial cells: an unassuming target site for gene therapeutics. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.*, 42(6):773-7, 2010.
- Peters, S. B.; Naim, N.; Nelson, D. A.; Mosier, A. P.; Cady, N. C & Larsen, M. Bio-compatible tissue scaffold compliance promotes salivary gland morphogenesis and differentiation. *Tissue Eng. Part A*, 20:1632-42, 2014.
- Pradhan, S.; Liu, C.; Zhang, C.; Jia, X.; Farach-Carson, M. C. & Witt, R. L. Lumen formation in three-dimensional cultures of salivary acinar cells. *Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 142(2):191-5, 2010.
- Pradhan-Bhatt, S.; Harrington, D. A.; Duncan, R. L.; Farach-Carson, M. C. & Witt, R. L. A novel in vivo model for evaluating functional restoration of a tissue-engineered salivary gland. *Laryngoscope*, 124(2):456-61, 2014.
- Pringle, S.; Maimets, M.; van der Zwaag, M.; Stokman, M. A.; van Gosliga, D.; Zwart, E.; Witjes, M. J.; de Haan, G.; van Os, R. & Coppes, R. P. Human salivary gland stem cells functionally restore radiation damaged salivary glands. *Stem Cells*, 34(3):640-52, 2016.
- Ramasamy, T.; Kim, J. O.; Yong, C. S.; Umadevi, K.; Rana, D.; Jiménez, C.; Campos, J.; Ramalingam, L. & Haidar, Z. S. Novel core-shell nanocapsules for the tunable delivery of bioactive rhEGF; formulation, characterization and cytocompatibility studies. *J. Biomater. Tissue Eng.*, 5(9):730-43, 2015.
- Rotolo, S.; Ceccarelli, S.; Romano, F.; Frati, L.; Marchese, C. & Angeloni, A. Silencing of keratinocyte growth factor receptor restores 5-fluorouracil and tamoxifen efficacy on responsive cancer cells. *PLoS ONE*, 3(6):e2528, 2008.
- Riobó, N. A.; Lu, K.; Ai, X.; Haines, G. M. & Emerson, C. P. Phosphoinositide 3-kinase and Akt are essential for Sonic Hedgehog signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103(12):4505-10, 2006.
- Ruiz-Castellanos, M. & Sangro, B. Terapia génica: ¿qué es y para qué sirve? *An. Sist. Sanit. Navar.*, 28(1):17-27, 2005.
- Schmid, T. E. & Multhoff, G. Radiation-induced stress proteins: the role of heat shock proteins (HSP) in anti-tumor responses. *Curr. Med. Chem.*, 19(12):1765-70, 2012.
- Shan, Z.; Li, J.; Zheng, C.; Liu, X.; Fan, Z.; Zhang, C.; Goldsmith, C. M.; Wellner, R. B.; Baum, B. J. & Wang, S. Increased fluid secretion after adoviral-mediated transfer of the human aquaporin-1 cDNA to irradiated miniature pig parotid glands. *Mol. Ther.*, 11(3):444-51, 2005.
- Thomas, K. A. Vascular endothelial growth factor, a potent and selective angiogenic agent. *J. Biol. Chem.*, 271(2):603-6, 1996.
- Thula, T.; Schultz, G.; Tran-Son-Tay, R. & Batich, C. Effects of EGF and bFGF on irradiated parotid glands. *Ann. Biomed. Eng.*, 33(5):685-95, 2005.
- Tran, S. D.; Liu, Y.; Xia, D.; Maria, O. M.; Khalili, S.; Wang, W. J.; Quan, V. H.; Hu, S. & Seuntjens, J. Paracrine effects of bone marrow soup restore organ function, regeneration, and repair in salivary glands damaged by irradiation. *PLoS ONE*, 8(4):e61632, 2013.
- Uhlén, M.; Fagerberg, L.; Hallström, B. M.; Lindskog, C.; Oksvold, P.; Mardinoglu, A.; Sivertsson, Å.; Kampf, C.; Sjöstedt, E.; Asplund, A.; Olsson, I.; Edlund, K.; Lundberg, E.; Navani, S.; Szgyarto, C. A.; Odeberg, J.; Djureinovic, D.; Takanen, J. O.; Hober, S.; Alm, T.; Edqvist, P. H.; Berling, H.; Tegel, H.; Mulder, J.; Rockberg, J.; Nilsson, P.; Schwenk, J. M.; Hamsten, M. von Feilitzen, K.; Forsberg, M.; Persson, L.; Johansson, F.; Zwaalen, M.; von Heijne, G.; Nielsen, J. & Pontén, F. Proteomics. Tissue-based map of the human proteome. *Science*, 347(6220):1260419, 2015.
- von Bültzinslowen, I.; Sollecito, T. P. & Fox, P. C.; Daniels, T.; Jonsson, R.; Lockhart, P. B.; Wray, D.; Brennan, M. T.; Carozzo, M.; Gandra, B.; Fujibayashi, T.; Navazesh, M.; Rhodus, N. L. & Schiødt, M. Salivary dysfunction associated with systemic diseases: systematic review and clinical management recommendations. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.*, 103 Suppl:S57.e1-15, 2007.
- Voutetakis, A.; Zheng, C.; Mineshiba, F.; Cotrim, A. P.; Goldsmith, C. M.; Schmidt, M.; Afione, S.; Roescher, N.; Metzger, M.; Eckhaus, M. A.; Chiorini, J. A.; Dunbar, E. Donahue, R. E. & Baum, B. J. Adeno-associated virus serotype 2-mediated gene transfer to the parotid glands of nonhuman primates. *Hum. Gene Ther.*, 18(2):142-50, 2007.
- Wagner, E. Polymers for nucleic acid transfer: an overview. *Adv. Genet.*, 88:231-61, 2014.
- Wang, Z.; Zourelia, L.; Wu, C.; Edwards, P. C.; Trombetta, M. & Passineau, M. J. Ultrasound-assisted noviral gene transfer of AQP1 to the irradiated minipig parotid glands restores fluid secretion. *Gene Ther.*, 22(9):739-49, 2015.
- Wie, S. M.; Adwan, T. S.; DeGregori, J.; Anderson, S. M. & Reyland, M. E. Inhibiting tyrosine phosphorylation of protein kinase Cd (PKCd) protects the salivary gland from radiation damage. *J. Biol. Chem.*, 289(15):10900-8, 2014.
- Wijers, O. B.; Lavendag, P. C.; Braaksma, M. M.; Boonzaaijer, M.; Visch, L. L. & Schmitz, P. I. Patients with head and neck cancer cured by radiation therapy: a survey of the dry mouth syndrome in long-terms survivors. *Head & Neck*, 24(8):737-47, 2002.
- Zheng, C.; Baum, B. J.; Liu, X.; Goldsmith, C. M.; Pérez, P.; Jang, S. I.; Cotrim, A. P.; McCullagh, L.; Ambudkar, I. S.; & Alevizos, I. Persistence of hAQP1 expression in human salivary gland cells following AdhAQP1 transduction is associated with a lack of methylation of hCMV promoter. *Gene Ther.*, 22(9):758-66, 2015.
- Zheng, C.; Cotrim, A. P.; Rowzee, A.; Swaim, W.; Sowers, A.; Mitchell, J. B. & Baum, B. J. Prevention of radiation-induced salivary hypofunction following hKGF gene delivery to murine submandibular glands. *Clin. Cancer Res.*, 17(9):2842-51, 2011.

Dirección para correspondencia:

Prof. Dr. Sergio Olate

Centro de Excelencia en Estudios Morfológicos y Quirúrgicos (CEMYQ)

Universidad de La Frontera

Temuco - CHILE

Recibido: 04-05-2019

Aceptado: 16-06-2019

Email:sergio.olate@ufrofrontera.cl