

TRABAJO DE FIN DE GRADO

# BIOMARCADORES SALIVALES PARA EL DIAGNÓSTICO PRECOZ DEL CÁNCER Y PRECÁNCER ORAL

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

DEPARTAMENTO DE ESTOMATOLOGÍA

**Autora: Laura Bustos Lobato**

**Tutor: Ángel Martínez-Sahuquillo Márquez**

Sevilla, 2019-2020





Facultad de Odontología



Dña. Laura Bustos Lobato con DNI 77866569T alumna del Grado en Odontología de la Facultad de Odontología (Universidad de Sevilla), autora del Trabajo Fin de Grado titulado: “BIOMARCADORES SALIVALES PARA EL DIAGNÓSTICO PRECOZ DEL CÁNCER Y PRECÁNCER ORAL”

**DECLARO:**

Que el contenido de mi trabajo, presentado para su evaluación en el Curso 2019-2020 es original, de elaboración propia, y en su caso, la inclusión de fragmentos de obras ajenas de naturaleza escrita, sonora o audiovisual, así como de carácter plástico o fotográfico figurativo, de obras ya divulgadas, se han realizado a título de cita o para su análisis, comentario o juicio crítico, incorporando e indicando la fuente y el nombre del autor de la obra utilizada (Art. 32 de la Ley 2/2019 por la que se modifica el texto refundido de la Ley de Propiedad Intelectual, BOE núm. 53 de 2 de Marzo de 2019)

**APERCIBIMIENTO:**

Quedo advertido/a de que la inexactitud o falsedad de los datos aportados determinará la calificación de **NO APTO** y que **asumo las consecuencias legales** que pudieran derivarse de dicha actuación.

Sevilla 25 de Mayo de 2020

Fdo.:

## AGRADECIMIENTOS

Darle las gracias a mi tutor Ángel Martínez-Sahuquillo Márquez por su dedicación y esfuerzo para la realización de este trabajo.

Especial agradecimiento a tod@s los que me han apoyado en estos cinco años, y sobre todo a l@s que en su momento me animaron a seguir mis sueños, a dar el salto y cambiar de carrera cuando tuve la oportunidad.

A mi familia y más específicamente a mis padres Carmen Lobato Martín y José Antonio Bustos Ruiz, por apoyarme en todas y cada una de mis decisiones y ser pilares imprescindibles para alcanzar mis metas, aunque mi madre siga prefiriendo que sea fisioterapeuta.

A mis compañeras, que me han brindado de experiencias únicas estos cinco años y con las que espero seguir contando a lo largo de mi vida. A Daniela Cortés Eslava, a la que la definición de compañera de prácticas se le queda corta; por tener tanta paciencia y por cuidarnos como lo hemos hecho a lo largo de estos años, sé que seguiremos haciéndolo.

He de mencionar a mis compañer@s del CHU de Nantes por guiarme en mi experiencia en el extranjero y acogerme como si fuera mi casa. Especial mención a Lea Giustinati y Wassim Al Chammas, que han pasado a formar parte de mi vida incluso en la distancia.

Agradecer también a mis amig@s por el apoyo incondicional y tantas horas de biblioteca junt@s, por los esfuerzos y ánimos. Por escucharme recitar todos los tratamientos habidos y por haber sin rechistar.

Especial mención a los miembros del PAS por su dedicación, por las risas y por tolerar nuestra falta de conocimientos con respecto al material.

Por último, a mi cotutor particular Pablo Saralegui Díez, sin el cual este proyecto final no hubiera sido posible.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

AGRADECIMIENTOS .....	3
RESUMEN .....	6
INTRODUCCIÓN .....	7
Precáncer oral.....	7
Pronóstico en base a la clínica.....	8
Diagnóstico.....	9
Saliva .....	11
Proteómica .....	12
Transcriptómica .....	12
Metabolómica.....	12
OBJETIVOS .....	13
Principal.....	13
Secundario.....	13
MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
Criterios de selección .....	15
RESULTADOS.....	16
<i>Tabla 6.</i> Resumen artículos .....	18
<i>Tabla 7.</i> Resumen de los datos obtenidos en los artículos .....	20
DISCUSIÓN.....	22
Definición de nivel de evidencia y biomarcador prometedor .....	23
Proteasas.....	24
Transcriptomas .....	25
Técnica de extracción de la saliva .....	26
Selección de la muestra para estudio .....	26
Pre-condiciones variables del estudio.....	26
Sensibilidad y especificidad como criterios .....	27
CONCLUSIONES.....	28
BIBLIOGRAFÍA .....	29

## RESUMEN

**Introducción:** El cáncer oral es uno de los principales problemas de salud debido a su alta incidencia en la población y su dificultad de diagnóstico en estadios avanzados en su mayoría. Esto hace que su tasa de supervivencia a los 5 años sea del 50%. Las técnicas diagnósticas empleadas actualmente son la exploración clínica y la biopsia de lesiones sospechosas.

**Objetivo:** Llevar a cabo una revisión bibliográfica de la literatura evaluando el potencial de los biomarcadores salivales para el diagnóstico precoz del cáncer y precáncer. **Material y método:** Revisión de literatura especializada y análisis comparativo de la preselección bajo términos y criterios específicos. **Conclusión:** la combinación de ciertos biomarcadores podría ser utilizada como una herramienta de diagnóstico precoz y preciso de cáncer oral y precáncer. Sin embargo, no existe evidencia suficiente que verifique la capacidad diagnóstica temprana de dichos biomarcadores, aunque pueden ser empleados para diferenciar pacientes sanos de pacientes con cáncer oral.

**Introduction:** oral cancer is one of the most serious global public health problems due to his high prevalence rate and the delay in early diagnosis and detection at a late stage. It also has a 5-year mortality rate of approximately 50%. The main diagnostic tools employed are clinical oral examination and tissue biopsy. **Objectives:** the objective of this study was to conduct a bibliographic review of the literature assessing the potential of salivary biomarkers in the early diagnosis of oral cancer and precancer. **Methods and materials:** search for articles involved the PubMed, Scopus y Cochrane data base. Specific terms were used and 21 articles were selected. **Conclusions:** combination approach of salivary biomarkers could be used as a diagnosing tool to improve early detection and diagnostic precision of oral cancer and precancer. However, there is not enough scientific evidence to support the capacity of the identified salivary biomarkers or the early diagnosis of oral cancer. Nevertheless, they may be employed to discriminate between healthy and cancer patients.

## INTRODUCCIÓN

Uno de los problemas globales de salud más importante en el último siglo ha sido y es el cáncer. Según la OMS, se le atribuyen 8,8 millones de muertes (1). Aproximadamente un tercio de las muertes pueden prevenirse al estar relacionadas con cinco factores de riesgo conductuales y dietéticos que, según el Instituto Nacional de Cáncer, son: tabaco, alcohol, obesidad, HPV y antecedentes familiares y genéticos. El tabaco es el factor de riesgo principal, aumentando hasta veinte veces más la posibilidad de padecer, en nuestro caso, cáncer oral (2).

El cáncer oral es uno de los cánceres de cabeza y cuello más prevalente en la población, en concreto y junto con el orofaríngeo, es el sexto más común en el mundo (3). Destaca por su alta tasa de mortalidad e incidencia global (4): se estiman unos 300,000 casos de los cuales aproximadamente la mitad se encuentran en estadios tan avanzados que no pueden ser tratados con éxito, incluso cuando este tipo de cáncer se compone de tumores bien definidos en su modelo de progresión. Debemos destacar su mortalidad global a los 5 años que se encuentra entorno al 50% debido a sus metástasis tempranas (5). Sin embargo, según la OMS existe una gran variación en la prevalencia global entre países: desde ningún caso registrado, hasta unos 20 casos por 100 000 personas. Además, dependiendo del país en el que nos encontremos, el cáncer bucal se encontrará entre aquellos de más incidencia (como en países de Asia y el Pacífico) debido a los factores de riesgo, mientras que en América del Norte y Europa las infecciones de «alto riesgo» por el virus del papiloma humano son responsables del creciente porcentaje de cánceres orofaríngeos entre los jóvenes (3).

### **Precáncer oral**

La OMS define la lesión precancerosa (6) como “aquella alteración morfológica del tejido que es más propensa a transformarse en cáncer que el tejido circundante de apariencia normal”. Debemos definir también el término estado precanceroso como “aquel estado general del paciente que implica un aumento en el riesgo de padecer cáncer” (OMS, 1978). Ambas son entidades donde el riesgo de padecer cáncer en la cavidad oral es mayor que en una población normal, por lo tanto, quedan recogidas como “Desórdenes Orales Potencialmente Malignos” (DOPM). Con una incidencia en la población general del 2,5% aproximadamente (7), podemos confirmar que son relativamente frecuentes.

Cuando hablamos de DOPM, normalmente asumimos aquellas lesiones con un potencial de transformación maligna importante (7) y algunas con una prevalencia importante (como el liquen plano). No todos los carcinomas proceden de un DOPM ni todos los DOPM evolucionan a una lesión maligna. Este proceso de malignización se da en un porcentaje que varía entre el 1-3% de los casos (7). La eritroplasia (por su potencial de transformación maligna), la leucoplasia no homogénea (por su frecuencia), el liquen plano erosivo, la fibrosis submucosa o la queratosis actínica son las lesiones más importantes por su posible malignización o carcinogénesis. El potencial de malignización varía según el tipo de lesión, relacionada directamente con el grado de displasia.

### **Pronóstico en base a la clínica**

En clínica, el pronóstico terapéutico viene establecido por el sistema de clasificación clínica TNM basada en tres parámetros: **T** tamaño del tumor, **N** adenopatías, **M** metástasis a distancia (8). Hasta 2018, la clasificación se basaba en el tamaño del tumor para indicar los diferentes grupos de riesgo. Desde el 1 de enero de 2018 se utiliza la 8ª edición de la clasificación TNM con grandes cambios (8):

- La introducción de estadios clínicos y patológicos para cabeza y cuello;
- Una nueva clasificación teniendo en cuenta los HPV-16 positivo;
- Respuesta a la necesidad de clasificar los grupos de riesgos basados en la diferencia clínica y la respuesta biológica, en el caso de pacientes con tamaños de tumor similares
- Incluye una variedad de enfermedades que van desde la cavidad oral, orofaringe, rinofaringe, hasta la hipofaringe y laringe;
- En la cavidad oral, modificación de la categoría T incluyendo la profundidad de la infiltración con la misma importancia que el tamaño;
- Modificación de la categoría N incluyendo ENE (*Extranodal Extension*), extensión extranodular variable para el carcinoma mucoso de cabeza y cuello no viral incluyendo malignización de células salivales;
- Reintroducción del tamaño en la categoría T para el cáncer de cabeza y cuello de células cutáneas *non-Merkel*.

Teniendo en cuenta estas actualizaciones, la nueva clasificación para el tamaño tendrá en cuenta la profundidad de la lesión (*Tabla 1*)

<b>T</b>	<b>TAMAÑO/ DOI (<i>Depth of invasión</i>) Profundidad de invasión</b>
<b>T1</b>	Tamaño $\leq 2$ cm y DOI $\leq 0.5$ cm
<b>T2</b>	Tamaño $\leq 2$ cm y DOI $> 0.5$ pero $\leq 1$ cm <p style="text-align: center;">O</p> Tamaño $> 2 \leq 4$ cm y DOI $\leq 1$ cm
<b>T3</b>	Tamaño $> 4$ cm o DOI $> 1$ cm
<b>T4</b>	Moderadamente avanzado o muy avanzado localmente. Invasión perilocal a: la cortical, al músculo extrínseco o profundo de la lengua (geniogloso, hiogloso, palatogloso y estilogloso), seno maxilar, piel facial, espacio masticador, base del cráneo, arteria carótida interna y láminas pterigoideas

*Tabla 1. Elaboración propia a partir de (8) y (9)*

#### **Técnicas de diagnóstico**

En los últimos años, la incidencia se ha disparado debido a los hábitos y factores alimentarios ya comentados (10).

Uno de los problemas principales del cáncer oral es su diagnóstico temprano. Las lesiones iniciales inespecíficas y asintomáticas, pero cancerosas, muchas veces pasan desapercibidas al ojo clínico y suelen ser asintomáticas. No es hasta que llegan a estadios más avanzados cuando son reconocibles. Las lesiones pueden dar sintomatología dolorosa si afectan a un recorrido nervioso, son reconocibles y se pueden biopsiar. El problema de estos estadios es que suelen dar metástasis a la cadena ganglionar cervical y empeoran el pronóstico, de aquí la importancia de un diagnóstico precoz (7).

En la actualidad, una parte de la investigación contra el cáncer se centra en las diferentes técnicas eficientes y eficaces para su detección temprana y diagnóstico precoz (11). Pero a pesar de toda la información que tenemos a día de hoy, no se consigue diagnosticar con toda la anticipación necesaria como para reducir su mortalidad, por lo que se están buscando otras vías, no solo para conseguir el diagnóstico temprano, sino también para evitar la evolución de tumor y metástasis (2).

Las técnicas diagnósticas utilizadas hasta ahora siguen dos vías principales que son: a) la exploración clínica llevada a cabo por un profesional sanitario especialista (término que incluye a dentistas); y b) tecnologías y técnicas complementarias como tinciones con azul de toluidina, citología por cepillado, fluorescencias por imagen, etc. (11). Ninguna de las dos vías resultan beneficiosas a la hora de establecer un diagnóstico precoz.

Además, una de las técnicas complementarias diagnósticas más utilizada ha sido la biopsia de lesiones precancerosas (12). Esto implica la existencia de una lesión con o sin sintomatología asociada pero visible a la exploración clínica, y por tanto en un estadio más avanzado de lo que nos gustaría. A la hora de biopsiar, existen ciertas lesiones que son complicadas o no se recomiendan (como las lesiones vasculares (13)), y se deben realizar extrayendo una parte de la lesión junto con borde sano para poder declarar la malignización. Con esto corremos el riesgo de que las células cancerosas pasen a la sangre y se produzca una metástasis o invasión perilesional. Estos son algunos de los problemas que plantea la biopsia, aunque es la técnica complementaria estrella en el diagnóstico del cáncer (*Gold Standard*).

El diagnóstico precoz podría verse facilitado por el desarrollo de análisis de laboratorio precisos para complementar la exploración clínica. A diferencia de otros cánceres más invasivos, el cáncer oral está en una cavidad accesible y en contacto directo con la saliva. Las células cancerosas y otras células del cuerpo responden a la formación del tumor secretando sustancias en el tejido y en los diferentes fluidos corporales, que dan lugar a los biomarcadores. Pueden ser detectados y evaluados desde que aparecen a partir de técnicas no invasivas (10). Esto permite que la simple colección y análisis de la saliva sea una de las técnicas pioneras más eficaces que se están desarrollando para la identificación de biomarcadores específicos y sensibles del cáncer oral en pacientes de riesgo (4). Conseguiríamos así establecer un diagnóstico precoz, evitando la agresividad y riesgos asociados a la biopsia y siendo muy temprana la detección, al contrario que como ocurre con la exploración clínica. Otras alternativas no invasivas han sido descritas por diferentes autores, pero en esta revisión nos centraremos en la búsqueda de biomarcadores en la saliva para el diagnóstico precoz del cáncer oral.

## Saliva

La saliva es un fluido ácido (pH≈6–7) mixto compuesto que tiene un rol en diferentes funciones biológicas como percepción de las sensaciones orales (p.ej.: sabor, temperatura, tacto), lubricación, masticación, deglución y digestión. Además, mejora la mineralización del esmalte dental y previene de la desmineralización gracias a su efecto tampón. Por último, protege la mucosa oral de factores químicos, mecánicos, biológicos, de microorganismos y posibles infecciones (virales, bacterianas o fúngicas) pero siempre manteniendo en equilibrio la flora oral. Está compuesta por una parte orgánica a base de hormonas, anticuerpos, proteínas enzimas y citoquinas, otra inorgánica y agua.

Estas sustancias son secretadas por las glándulas salivales mayores y menores, el fluido gingival crevicular, células epiteliales descamadas de la mucosa oral y microorganismos con sus productos. En un individuo sano, la secreción diaria de saliva se estima entre 0.5 y 1.5 L (14).

Por sus características bioquímicas, la saliva es muy útil como biofluido y en estudios diagnósticos del cáncer oral. Algunas de sus ventajas como muestra son (4):

- La extracción, transportación, manipulación y almacenamiento son simples, no invasivos y con un coste eficiente;
- La extracción puede realizarse desde casa sin la ayuda del personal sanitario, incluso para estudios epidemiológicos;
- No produce ansiedad a los pacientes a la hora de recolectar la muestra, ya que no hay necesidad de agujas ni otras herramientas;
- No hay riesgo de contagio del profesional sanitario ni de heridas percutáneas en su recolección.

En el estudio de la saliva, vamos a centrarnos en la búsqueda de biomarcadores. Según el *National Institute of Health* (NIH), los biomarcadores son “aquellas características biológicas, bioquímicas, antropométricas, fisiológicas, etc., objetivamente medibles, capaces de identificar procesos fisiológicos o patológicos, o bien una respuesta farmacológica a una intervención terapéutica”<sup>1</sup>. En este caso, se trata de genes, proteínas, enzimas u hormonas objetivamente medibles que pueden reflejar un espectro completo de una enfermedad como es el cáncer, desde su aparición temprana hasta sus estadios finales (14).

---

<sup>1</sup> Traducción propia.

El incipiente desarrollo del conocimiento en este campo da lugar al término “*salivaomics*”, introducido rápidamente en 2008 debido al rápido desarrollo de conocimiento de varias ciencias “ómicas” de interés para el diagnóstico a partir de la saliva (12). Los cinco componentes principales que podemos encontrar en la saliva para el diagnóstico precoz serán proteomas, transcriptomas, micro-ARN, metaboloma y microbioma (15).

### **Proteómica**

Según el Instituto de Biotecnología de la Universidad Autónoma de México (UNAM), la proteómica es “el estudio a gran escala de las proteínas, en particular de su estructura y función, también de su expresión, modificación e interacción”. En la saliva encontramos principalmente alfa-amilasa, albúmina y prolina, y su abundancia o deficiencia nos marcará diferentes condiciones o patologías, dependiendo de cuáles se vean alteradas y en qué cantidad. A día de hoy, la utilizamos para el diagnóstico de enfermedades orales como la candidiasis, la glosodinia y en un supuesto, el carcinoma de células escamosas oral (16).

### **Transcriptómica**

Estudia y compara transcriptomas, es decir, los conjuntos de ARN mensajeros o transcritos presentes en una célula, tejido u organismo (16). Encontramos en la saliva transcriptomas exARNs capaces de ayudarnos en la detección del carcinoma oral.

### **Metabolómica**

Estudia las moléculas más pequeñas y metabolitos de los tejidos, incluyendo intermediarios como los carbohidratos, lípidos, aminoácidos, ácidos nucleicos, hormonas, principalmente. Son importantes para explicar las rutas que siguen las diferentes enfermedades (17).

## **OBJETIVOS**

### **Principal**

Evaluar el estado de la cuestión de las técnicas de búsqueda y detección de biomarcadores del cáncer y desórdenes orales potencialmente malignos (lesiones precancerosas) a partir del estudio de la saliva.

### **Secundario**

- a) Recopilar estudios relacionados con biomarcadores del cáncer oral y desórdenes potencialmente malignos;
- b) Sistematizar los biomarcadores usados para el diagnóstico y su efectividad;
- c) Evaluar la utilidad de las diferentes técnicas empleadas en la actualidad.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

La pregunta planteada en el trabajo de investigación que aquí se desarrolla fue: ¿Es posible el uso de los biomarcadores salivales como método fiable de diagnóstico precoz del cáncer oral?

El primer paso a realizar es la recogida de la literatura especializada relevante a la temática de investigación. Para ello se realizó una búsqueda de información entre diciembre de 2019 y marzo de 2020 a través de cuatro bases de datos de literatura científica especializada: a) Medline (en su versión libre PubMed); b) Scopus; c) Cochrane y d) Scielo.

Los términos buscados fueron "biomarkers", "saliva", "tumor", "oral", "ADN", "cancerous", "cancer", "proteomics", "screening", "diagnosis" a través de coincidencias individuales y múltiples.

La estrategia de búsqueda se desarrolló en dos fases. En la primera, las categorías de búsqueda devolvieron un número limitado de artículos (ver *tabla 2*). En la segunda, se utilizaron los índices MeSH (*Medical Subject Heading*) para el apoyo en la búsqueda. A partir de la selección inicial de artículos, se ha restringido la búsqueda para localizar las relevantes para el campo de estudio. Se han seleccionado exclusivamente los estudios publicados en los últimos 10 años (2010-2020), restringidos a humanos y publicados en inglés y español. No obstante, por la importancia de algunos trabajos previos, se han incluido varios estudios del año 2009 dada su relevancia en la literatura contextual de los artículos analizados. Se excluyeron opiniones, comentarios, respuestas de autores, casos/reportes.

En una primera criba se seleccionan 30 artículos entre las tres combinaciones de búsqueda realizadas (ver *tablas 2,3,4*) que compartían uno o varios de los términos y los criterios descritos anteriormente y presentaban mayor índice de impacto. De ellos, 10 fueron descartados porque la centralidad de sus análisis no versaba sobre la temática de esta revisión. Finalmente, se han empleado para este trabajo un total de 21 artículos, distribuidos según se indica en las tablas 2, 3 y 4. El tema es muy actual, por lo tanto, no hay un número elevado de artículos a disposición.

Entre los 21 artículos finales seleccionados, 8 fueron los estudiados puesto que son ensayos clínicos frente a los 13 restantes, que son revisiones y estudios considerados como información complementaria al trabajo. Entre estos 8 ensayos clínicos, se acotaron parámetros de estudio mediante variables que nos permitieron sistematizar la información en relación a los objetivos establecidos.

Se creyó necesario realizar una criba en base a la composición de la población de estudio por la necesidad de obtener unos resultados homogéneos. Se seleccionaron trabajos basados en ensayos clínicos de casos/controles principalmente en los que los casos son pacientes sanos y los controles pacientes con COCE (Carcinoma Oral de Células Escamosas). En algunos de ellos se encontraron dos tipos de controles: 1) pacientes con COCE; 2) pacientes con leucoplasia displásica o pacientes con metástasis o displasia severa. Se consideró oportuno incluir este tipo de estudios, ya que se aprecia la especificidad de los biomarcadores, uno de los objetivos de este trabajo.

Las variables seleccionadas para comprobar la efectividad de los métodos innovadores de análisis fueron: especificidad, sensibilidad y valor probabilístico (*tabla 7*).

Estos artículos fueron analizados en base a una serie de categorías seleccionadas a posteriori con la intención de sistematizar la información contenida (*tabla 5*). Las categorías de catalogación de los artículos han sido:

- Índice de impacto;
- País del estudio;
- Tamaño de la muestra y composición;
- Biomarcadores analizados;
- Método de análisis de la saliva;
- Método de extracción y preparación de la saliva.

Combinación de palabras clave en la búsqueda				
	"Biomarkers" AND "saliva" AND "oral" AND "cancer OR tumor" AND "Diagnosis OR screening"	"Mouth Neoplasms/diagnosis" [Mesh] AND "Biomarkers"[Mesh]	"Biomarker" AND "Oral cancer"	Biomarkers AND "oral cancer"
Herramienta de búsqueda	PubMed	PubMed	Cochrane	Scielo
Resultados de la búsqueda	421	1031	3	4
Criterio 1	92	143	2	4
Criterio 2	30	100	1	2
Criterio 3	18	20	0	1
Total	11	8	1	1

### Criterios de selección

Criterio 1: acotación a artículos "publicados en los últimos 10 años", "ensayos clínicos y revisiones", "ensayos clínicos sólo en humanos", "idioma inglés y español", "texto completo".

Criterio 2: acotación a artículos que nombraba los biomarcadores y en su contenido los analizaban. Se descartaron aquellos que, a pesar de nombrar los marcadores, no los analizaban en su contenido.

Criterio 3: acotación a artículos que se ajusten a los criterios de la metodología.

En la sistematización se recoge un resumen de las conclusiones de cada artículo estudiado.

## RESULTADOS

Tabla 5.

ARTÍCULO (autor año)	REVISTA	IMPACTO	TIPO DE INVESTIGACIÓN	TÉCNICA EXTRACCIÓN SALIVA	BIOMARCADORES estudiados en saliva	LOCALIZACIÓN	TAMAÑO DE LA MUESTRA
<b>Yun Feng 2019</b>	<i>International Journal of Oral Science</i>	H index 34	Ensayo clínico	Saliva estimulada. Se utilizó técnica ELISA para procesar las muestras en el segundo estudio	35 proteasas totales. Principales: MMP-1, cathepsina V, kallikrein 5 y ADAM9	China	16 controles totales 4 controles con COCE ELISA: 80 controles totales 20 controles con COCE
<b>Lohavanichb utr 2018</b>	PLoS ONE	H Index 268	Casos/controles	Saliva no estimulada	Glicina, prolina, citrulina, ornitina	EEUU	100 muestras 20 controles totales 80 casos totales
<b>J. Martin – 2015</b>	<i>Compendium of continuing education in dentistry</i>	H Index 43	Ensayo clínico doble ciego	Saliva estimulada. Se utilizó PCR para el procesado de las muestras	IL-8, IL-1b, OAZI, SAT, S100P y DUSP1	EEUU	28 controles 140 casos 170 muestras
<b>P. Sivadasan - 2018</b>	<i>Journal of Proteomics</i>	H Index 92	Ensayo clínico	Saliva completa no estimulada. Se procesó con RC-DC y ELISA	CD44, S100A7 y S100P	Países Bajos	15 muestras control 15 muestras NO casos 15 muestras N+ casos

Tabla 5 continuación.

ARTÍCULO (autor año)	REVISTA	IMPACTO	TIPO DE INVESTIGACIÓN	TÉCNICA EXTRACCIÓN SALIVA	BIOMARCADORES ESTUDIADOS	LOCALIZACIÓN	TAMAÑO DE MUESTRA
<b>G Deepthi - 2019</b>	<i>Asian Pacific Journal of Cancer Prevention</i>	H index 65	Casos/controles	Saliva completa no estimulada. Análisis con técnica ELISA	TNF- $\alpha$	Tailandia	60 casos <ul style="list-style-type: none"> <li>• 30 con COCE</li> <li>• 30 con leucoplasia</li> </ul> 30 controles sanos
<b>N Ghallab - 2017</b>	<i>Clinical Oral Investigations</i>	H Index 69	Casos/controles	Saliva completa no estimulada. Análisis con técnica ELISA	MMP-9	Alemania	15 controles sanos 30 casos a comparar <ul style="list-style-type: none"> <li>• 15 casos con DOPM</li> <li>• 15 casos COCE</li> </ul>
<b>S. Hu - 2008</b>	<i>Clinical cancer research</i>	H Index 292	Casos/controles	Saliva completa no estimulada. Análisis con ELISA y LC-MS	CD44, CA125, Cyfra 21- 1,	EEUU	64 casos sanos 64 controles COCE 16 muestras de cada grupo
<b>Z Michailidou - 2016</b>	<i>Cancer Epidemiology</i>	H Index 68	Casos/controles	Saliva completa no estimulada. Análisis con Real Time PCR	IL-1B, IL-8, OAZ y SAT	Países Bajos	31 controles sanos 54 casos: <ul style="list-style-type: none"> <li>• 20 casos con leucoplasia y displasia</li> <li>• 34 casos COCE</li> </ul>

**Tabla 6. Resumen artículos**

Artículo	Breve resumen conclusión
<p><i>“Salivary protease spectrum biomarkers of oral cancer” Feng et al. -2019</i></p>	<p>Las proteasas están involucradas en muchos procesos fisiológicos y patológicos del cuerpo humano, como en el crecimiento, apoptosis y metástasis de células cancerígenas. En este estudio se analiza el espectro de proteasas salivales de pacientes con carcinoma oral de células escamosas, masas benignas orales, periodontitis crónica y sanos. CONCLUSIÓN: el espectro de proteasas estaba mayormente asociado con enfermedades orales, conteniendo más proteasas los individuos con enfermedad que los sanos.</p>
<p><i>“Salivary metabolite profiling distinguishes patients with oral cavity squamous cell carcinoma from normal controls” Lohavanichbutr et al. - 2018</i></p>	<p>El propósito de este estudio es identificar el potencial de los biomarcadores para diferenciarlos entre pacientes con COCE de pacientes sanos, y de pacientes con COCE con y sin metástasis extranodulares. CONCLUSIÓN: se hallaron dos metabolitos (glicina y prolina) significativamente diferentes entre los pacientes con COCE y los controles. Cuatro metabolitos llegaron a la fase de validación: glicina, prolina, citrulina y ornitina. Se necesitarían más estudios para demostrar la eficacia clínica de estos biomarcadores.</p>
<p><i>“Evaluation of salivary transcriptome Markers for the Early detection of Oral Squamous Cell Cancer in a Prospective Blinded Trial » L. Martin et al. - 2015</i></p>	<p>Se trata de un estudio con 170 pacientes con lesiones sospechosas de COCE. El estudio llevado a cabo fue tipo PRoBE (<i>“Prospective Specimen Collection, Retrospective Blinded Evaluation”</i>) para la identificación rigurosa de biomarcadores y su validación. Se hallaron seis mARNs (IL-8, IL-1b, OAZI, SAT, S100P y DUSP1) principalmente. CONCLUSIÓN: las concentraciones de estos mARNs reflejan un aumento del doble o cuádruple en personas con COCE frente a personas sanas. La validación de los seis biomarcadores específicos en una población prospectiva soporta la evidencia de estos marcadores modelos. Hacen falta más estudios para asegurar la efectividad de estas tecnologías en la rutina clínica práctica</p>
<p><i>“Salivary proteins from dysplastic leukoplakia and oral squamous cell carcinoma and their potential for early detection” P. Sivadasan - 2018</i></p>	<p>Este estudio se centra en identificar posibles biomarcadores candidatos de pacientes con malos hábitos y diagnosticados de COCE o leucoplasia displásica. Se utiliza la espectrometría en masa para encontrar proteínas salivales en estos individuos que puedan servir como marcadores para el diagnóstico en estadios tempranos de la enfermedad. CONCLUSIÓN: se verificaron ocho proteínas con niveles elevados en saliva de estos pacientes. Finalmente, CD44, S100A7 y S100P fueron los candidatos prometedores como biomarcadores para la detección temprana de COCE y puede formar parte de la base de ensayos clínicos con este objetivo.</p>

**Tabla 6 continuación.**

Artículo	Breve resumen conclusión
« <i>Salivary Tumour Necrosis Factor-<math>\alpha</math> as a Biomarker in Oral Leukoplakia and Oral Squamous Cell Carcinoma</i> » G Deepthi - 2019	En este estudio se evalúa la eficacia del TNF- $\alpha$ ( <i>Tumor Necrosis Factor- <math>\alpha</math></i> ) como biomarcador para la detección precoz y estrategias de tratamiento del COCE y la leucoplasia. CONCLUSIÓN: los resultados demostraron una mayor concentración en los niveles de TNF- $\alpha$ en individuos diagnosticados con COCE que en individuos sanos o con leucoplasia. Se concluye que puede ser utilizado como biomarcador pronóstico del COCE y para monitorizar la transformación de lesiones potencialmente precancerosas (leucoplasia) en COCE. Estudios a largo plazo y con un número mayor de población deben ser realizados para poder validar su eficacia clínica real.
“ <i>Serum and salivary levels of chemerin and MMP-9 in oral squamous cell carcinoma and oral premalignant lesions</i> ” Z Ghallab - 2017	El objetivo de este estudio es investigar los niveles de MMP-9 y quemerina en sérum y saliva como un biomarcador prometedor para pacientes con lesiones orales precancerosas o COCE. CONCLUSIÓN: los niveles de MMP-9 fueron determinantes en las muestras de sérum y saliva de los pacientes casos con COCE y DOPM frente a los controles sanos, por lo tanto, pueden ser considerados como biomarcadores diagnósticos para los casos de DOPM, su malignización y detección temprana de COCE. Esto implica que la quemerina es un nuevo factor diagnóstico para pacientes con DOPM y estadíos tempranos de COCE y podría ser una nueva herramienta terapéutica para la regulación de la angiogénesis del cáncer y la malignización de los DOPM.
“Salivary Proteomics for Oral Cancer Biomarker Discovery” S. Hu -2008	El fin de este estudio es explorar la presencia de biomarcadores informativos en el proteoma de la saliva humana y evaluar su potencial para la detección precoz de todos los COCE. CONCLUSIÓN: se validaron cinco biomarcadores candidatos usando inmunoensayos en casos (pacientes con COCE) y controles (sanos). Este descubrimiento puede derivar en una herramienta clínica no invasiva para el diagnóstico del cáncer. Estudios a largo plazo y con una población más representativa son necesarios para validar su potencial clínico real.
“ <i>Salivary mRNA markers having the potential to detect oral squamous cell carcinoma segregated from oral leukoplakia with dysplasia</i> ” E Michailidou - 2016	En el presente estudio se pretende evaluar la presencia de IL-1B, IL-8, OAZ Y SAT en la saliva como herramienta para el diagnóstico precoz del COCE. CONCLUSIÓN: se hallaron mayores concentraciones en los niveles de estos mARNs en la saliva de pacientes caso diagnosticados con COCE y su combinación tiene buena predictibilidad y probabilidad de aparición, mientras que no ocurre lo mismo en pacientes casos de leucoplasia y displasia. Además, la combinación de sólo dos de ellos (SAT e IL-8) tienen casi la misma predictibilidad que la combinación de los cuatro, por lo que se sugiere el uso de estos dos biomarcadores para el modelo de predicción de pacientes con COCE, limitando así la economía y coste a la mitad.

**Tabla 7. Resumen de los datos obtenidos en los artículos**

Biomarcadores		Especificidad	Sensibilidad	p-value*	Citaciones
Transcriptomas	IL-1B	91%	91%	0.002	(18)
		60%	90%	0.0043	(19)
	DUSP1, HA3, OAZ1, SAT	91%	91%	NA <sub>1</sub>	(18)
		60%	90%	0.004	(19)
	S100P	60%	90%	0.001	(19)
		91%	91%	NA	(18)
		72.73%	81.82%	0.021	(20)
Combinación de IL-1a, IL-6, VEGF-a, TNF-a, IL-8		85%	95%	NA	(10)
IL-8		91%	91%	0.002	(18)
		85%	93%	NA	(10)
		60%	90%	0.009	(19)
Combinación de M2BP CD59, MRP14 y catalasa		83%	90%	0.006 ; 0	(21)
Actina		100%	65%	NA	(18)
Miosina		87%	63%		
Metabolitos	Valina, ácido láctico y fenilalanina	84.8%	96,4%	NA	(18)
	Glicina	NA	NA	0.003	(22)
	Ornitina			0.017	
	Citrulina			0.010	
	Prolina	NA	NA	0.005	(22)
		83%	90%	0.0003	(21)
Combinación de COL5A1, ABCG1 MMP1 y FN1		87%	65%	NA	(10)
Combinación de TPS, Cyfra 21-1 y CA125		75%	71%	NA	(10)
					(10)

Tabla 7 continuación.

Biomarcadores	Especificidad	Sensibilidad	p-value*	Citaciones
CD44	55%	91.67%	0.07	(20)
Combinación de Proteína 14, <i>Mac-2 binding protein</i> , profilina 1, defensina-1	80%	90%	NA	(18)
S100A7	72.73%	81.82%	0.03	(20)
catepsina V	80%	60%	0	(4)
<i>kallikrein 5</i>	87%	70%	0	(4)
ADAM9	77%	45%	0.001	(4)
TNF- $\alpha$	97%	100%	<0.001	(23)
MMP-9 y quemerina	100%	100%	<0.001	(24)
Combinación de IL-1B IL-8, SAT, OAZ	73%	81%	0.04	(25)
MMP-1	62%	80%	0.007	(4)
	87%	65%	NA	(10)

\*Valor probabilístico; 1) NA: No aportado;

## DISCUSIÓN

El análisis de los biomarcadores salivales puede ser un proceso delicado debido a que la saliva contiene numerosos componentes con diferentes concentraciones. Uno de los problemas reflejado en los estudios fue la variabilidad y aleatoriedad detectada en los niveles de los diferentes biomarcadores salivales para el cáncer y precáncer oral, los cuales no están estandarizados. Esto ocurre debido a la disparidad y el desacuerdo entre los investigadores a la hora de realizar un estudio: encontramos diferentes métodos analíticos, individuos seleccionados, grupos de edad, etnias, hábitos dietéticos, regiones, enfermedades, etc. Un caso concreto y recurrente es la gran diferencia entre los niveles de «Salivary 8-OHdG y MDA» IL-8, ILB O S100P. Las variaciones las encontramos entre los diferentes grupos de investigadores, por lo que la estimación y el diagnóstico del cáncer oral a partir de los biomarcadores se ven ensombrecidos. En esto sí están de acuerdo la mayoría de los autores y así lo reflejan la mayoría de sus conclusiones; estos biomarcadores son muy útiles y realmente predictivos, pero dada la falta de literatura, criterios y estándares a la hora de realizar un ensayo clínico, no pueden trasladarse al área clínica o llegar a una fase de validación objetiva.

¿Qué podemos hacer para conseguir la estandarización de los biomarcadores salivales? La respuesta la encontramos en los ensayos clínicos. Se necesita una alta especificidad y sensibilidad para diferenciar el cáncer oral de otros procesos inflamatorios comunes, como la gingivitis, periodontitis, la placa dental, etc. dado que la inflamación podría alterar los niveles de estos biomarcadores específicos del cáncer oral. También podrían verse alterados ante la existencia de otro cáncer como el de pulmón; hay algunos biomarcadores que aumentan sus concentraciones en la aparición de diferentes tipos de cáncer. Hasta ahora los resultados observados han sido positivos, pues ya existen ciertos biomarcadores prometedores los cuales pueden detectar precozmente el carcinoma oral de células escamosas, e incluso diagnosticar el tipo de displasia de este o su posible metastatización. De cualquier modo, la evidencia científica parece mostrar que la combinación de diferentes biomarcadores salivales sí que es relevante para el diagnóstico precoz del cáncer y precáncer. Como tentativa clasificatoria, hemos dividido estos biomarcadores en cuatro categorías según las diferentes concentraciones en saliva de casos y controles analizados en los estudios recogidos:

- Salud normal: IL-8, IL-1beta
- Generales: LDH (*Enzyme lactate Dehydrogenase*)
- Específicos para el cáncer oral y precáncer: S100P mARN
- No específico para el cáncer oral y precáncer: 8-OHdG y MDA

Nos quedaría una última categoría para los biomarcadores con más baja especificidad y predictibilidad, y por lo tanto con menos evidencia científica cuando nos referimos al cáncer oral y precáncer. Estos son los metilados, actina y miosina y los MiARN, pero cuya baja utilidad los hace poco relevantes para las técnicas diagnósticas del DOPM.

Cabe que destacar los resultados satisfactorios producidos al estudiar la combinación de cinco metabolitos principales (valina, ácido láctico y fenilalanina entre otros) con una sensibilidad del 94.6% y especificidad de 84.4%, que presentan la especificidad más alta recogida en los estudios de caso. Podemos decir que la metabolómica y la proteómica son el futuro en el estudio de los biomarcadores salivales para el diagnóstico precoz del cáncer oral y precáncer.

### **Definición de nivel de evidencia y biomarcador prometedor**

Normalmente, el nivel de evidencia se clasifica basándose en cuatro fases: exploración, desarrollo del ensayo y validación, estudios para validación retrospectiva y estudios para validación prospectiva. Por desgracia, en el caso de los biomarcadores asociados al carcinoma de células escamosas oral se encuentran en su mayoría en la fase exploratoria.

Hay tres niveles de evidencia para jerarquizar la validación de un biomarcador. Solo los biomarcadores con un nivel de evidencia fuerte o intermedio, que demuestren asociación entre su expresión y resultados clínicos específicos en al menos dos informes de diferentes estudios, pueden ser prometedores (10).

Clasificación del nivel de evidencia (LoE "*Level of Evidence*"):

- Negativa (-): el estudio no demuestra una asociación significativa entre la expresión del biomarcador y los valores clínicos
- Débil (+): un estudio demostró una asociación entre la expresión del biomarcador y los valores clínicos
- Intermedio (++) : dos estudios independientes demostraron la asociación entre la expresión de los biomarcadores y los valores clínicos
- Fuerte (+++) :  $\geq 3$  estudios independientes demostraron la asociación evidente entre la expresión de los biomarcadores y los valores clínicos

La fase de valoración es un paso crítico para el descubrimiento de cualquier biomarcador en la práctica clínica. Esta fase tiene dos aspectos interesantes, aunque ambos dependen de varios parámetros. Estos aspectos son (10):

- Clínico: uno de los parámetros más importantes que puede influenciar esta fase, es la realización de estudios cruzados e independientes entre los resultados clínicos específicos obtenidos de cada estudio y el biomarcador que evaluamos. Pero de igual importancia son otros parámetros como el número de cohortes de un estudio, existencia de un grupo control y sus características, etc.
- Técnico: se persigue la validación utilizando métodos independientes para la evaluación del biomarcador

Como comentamos en el párrafo anterior, uno de los problemas más importante e infravalorado con respecto al estudio de biomarcadores del cáncer oral es el estudio de poblaciones, que acostumbran a ser pequeñas y concretas (con excepciones). Por desgracia, en la práctica está comprobado que, para los estudios de validación, la búsqueda ha de ser rigurosa en todos los aspectos, sobre todo en el tamaño de la muestra. De hecho, este problema epidemiológico puede haber contribuido a realizar falsas búsquedas y resultados y la actuación real de estos biomarcadores puede verse oscurecida.

Para solucionar este problema, la calidad de los artículos aquí presentados fue contrastada usando “*REMARK*” y “*STAND*”, sistemas que tienen bien establecida la evaluación de la calidad de los estudios sobre pronóstico y diagnóstico. Sin embargo, cabe mencionar que estas dos pautas fueron establecidas primariamente para juzgar la calidad de los informes más que la metodología de búsqueda (10). Acorde con esta evaluación, los estudios aquí reflejados muestran una calidad media en la información utilizada, lo que implica que podemos confiar en su veracidad. Aun así, no es posible garantizar el potencial de acción de estos biomarcadores en técnicas clínicas. Como los artículos han sido publicados en los últimos diez años, puede reflejar la toma de conciencia de los investigadores sobre la utilidad de los biomarcadores en el diagnóstico precoz de enfermedades como el COCE.

### **Proteasas**

Los resultados mostrados en el estudio de Feng et al. (4) nos confirman que el espectro de proteasas varía entre pacientes sanos y pacientes con diferentes enfermedades. En un estudio total de 35 proteasas, se hallaron 30 en la muestra de pacientes con COCE frente a las 17 de pacientes sanos.

En el caso del cáncer oral, encontramos aumentados los niveles de MMP-1, catepsina V, *kallikrein* 5 y ADAM9. La familia de proteasas de ADAM y MMP se encargan del mantenimiento y remodelado de la matriz extracelular, ambos tipos participan en su degradación para promover

la invasión y metástasis de las células cancerígenas (4). La catepsina juega un rol importante en los procesos patológicos de diferentes enfermedades como cáncer, periodontitis y procesos inflamatorios. Sabiendo esto, podemos concluir que la proteómica es un campo interesante en el que podemos encontrar numerosos biomarcadores prometedores, pero en el que se ha profundizado poco. No se encuentra un gran número de artículos que estudie las proteasas, aun pudiendo ser realmente específicas para el diagnóstico del cáncer oral. Es un buen camino a seguir en la búsqueda de biomarcadores prometedores.

### **Transcriptomas**

Observamos una mayor concentración de transcriptomas en los niveles de saliva de los pacientes con lesiones potencialmente malignas, lesiones precancerosas y lesiones cancerosas. Entre ellas encontramos IL-1B, IL-1A, IL-6, IL-8, S100P, DUSP1, HA3, OAZ1, SAT.

En general, las interleucinas IL-6 y 8 incrementan sus niveles salivales significativamente en los sujetos con COCE respecto a controles sanos. La IL-8 corresponde a la interleucina que presenta los niveles salivales más elevados en COCE (26). Se ha investigado su gran capacidad diagnóstica como biomarcador individual y como parte de un complejo de biomarcadores, debido a su alta sensibilidad y especificidad en el diagnóstico de COCE, con valores de 85% y 93% respectivamente.

Cabe destacar la S100P, señalada como biomarcador prometedor en múltiples estudios. La familia de esta proteína es bien conocida por estar implicada en múltiples estadios de carcinogénesis y su progresión. Posee un amplio rango de funciones intra y extracelulares como la regulación de la homeostasia del calcio, proliferación celular, apoptosis, interacciones citoesqueléticas, fosforilación, inflamación, etc. A través de RAGE, se ha demostrado que la S100P se expresa en diferentes tipos de cáncer, específicamente en adultos; se cree que su expresión se asocia a una resistencia a quimioterapia, a metástasis, y a escasos resultados clínicos(20). También la podemos detectar en la saliva de pacientes con cáncer oral.

Podemos resumir pues que en el campo de la transcriptómica encontramos gran variedad de biomarcadores con alta especificidad y sensibilidad entre otros parámetros, que nos indican que podrían ser de gran utilidad en la experiencia clínica como herramientas de diagnóstico temprano del COCE pero para ello sería necesaria la realización de más estudios específicos y ensayos clínicos exhaustivos que validen el potencial de estos transcriptomas como biomarcadores prometedores en la práctica clínica.

### **Técnica de extracción de la saliva**

Con respecto a la técnica de extracción de la saliva, hay que comentar que existe una problemática debido a las diferentes técnicas utilizadas para la extracción, manipulación y conservación de la muestra de saliva; en los artículos estudiados, encontramos variaciones de muestra como el uso de toda la saliva producida en la cavidad oral, o de la saliva estimulada en glándulas específicas. Como estimulación podemos entender comer, beber o realizar prácticas higiénicas. La hora de recolección de saliva en los ensayos fue en todos por la mañana temprano, pero el tiempo de recolección no se menciona.

La centrifugación de la muestra se ha utilizado con frecuencia para eliminar la parte sólida de la saliva como restos de comida. El tiempo de centrifugación varía de un estudio a otro, pasando de 200g por 10 min, 2600g por 15 min, 2000 rpm por 5 min, 14000rpm por 20 min y 800g por 20 min. En tres estudios se hizo un estudio de la saliva completa sin centrifugación.

La mayoría de los estudios se realizaron sin inhibidores ni RNasas o proteasas, aunque en algunos sí. La mayoría de las muestras tras la centrifugación fueron guardadas a una temperatura entre -4º y -80º. Solo en tres estudios se analizaron las muestras sin necesidad de almacenarlas (18).

### **Selección de la muestra para estudio**

Los criterios de selección del paciente no estaban indicados en la mayoría de los artículos estudiados, excepto la división entre casos (pacientes con COCE o leucoplasia en su mayoría) y controles (pacientes sanos). En algunos de ellos, se seleccionaron sólo poblaciones con ciertas características: dentro de un intervalo de edad, características como sexo o exposición a factores de riesgo (tabaco, alcohol). Esto hace que existan una serie de variables que diversifican los posibles resultados obtenidos.

### **Pre-condiciones variables del estudio**

Con respecto al ayuno previo a la recolección de la muestra, su duración puede afectar a los resultados puesto que un ayuno más prolongado puede facilitar el descubrimiento de numerosos biomarcadores con potencial discriminatorio. Se estipula en la mayoría de los artículos que el ayuno es de una hora antes de la recolección, y se llevan a cabo enjuagues bucales con agua para la limpieza de posibles restos que distorsionen la muestra. Un ayuno de 8h (como se lleva a cabo en el caso de ensayos realizados con muestras de sérum) sería más conveniente para obtener resultados más precisos y específicos, sobre todo teniendo en cuenta que la saliva está en pleno contacto con alimentos, bebidas y otros.

### **Sensibilidad y especificidad como criterios**

Observamos que la mayoría de los estudios aquí recogidos centran sus análisis en la concentración en saliva de los biomarcadores prometedores, la especificidad, la sensibilidad y la probabilidad de aparición de éstos. Después de estudiarlos detenidamente surge la duda: ¿es suficiente? Podemos considerarlo insuficiente, puesto que los valores de sensibilidad y especificidad de un mismo biomarcador varían de un estudio a otro, sumando a esto que las poblaciones son exclusivamente del país de estudio y por lo tanto no hay una representación a nivel global. Esto se debe a la falta de estandarización de los grupos de investigación a la hora de elegir la población de la muestra y un tamaño de muestra pequeño. Es posible que esto se deba a la falta de acuerdo para reglar el tamaño de la población, y a su vez una falta de heterogeneidad y representatividad de ésta, que oscurece la posible validación de estos marcadores dada la disparidad de los resultados.

Esto no quiere decir que no sean válidos. Al contrario de lo que podríamos pensar, estos trabajos son necesarios para reconocer la verdadera necesidad: una búsqueda e investigación más específica y exhaustiva de estos biomarcadores, de una manera estandarizada para finalmente poder validarlos en la práctica clínica.

Muchos de los artículos recogidos afirman que son verdaderas herramientas diagnósticas en estadios tempranos de COCE y aportan estudios basados en la población que así lo respaldan. De cualquier forma, a nivel mundial hay una falta evidente de políticas dirigidas específicamente a los biomarcadores como herramienta diagnóstica de detección temprana del COCE u otra enfermedad. Además, la OMS y otras organizaciones como la *“US Preventive Services Task Force”* (27) no proporcionan recomendaciones más allá de la vigilancia clínica de posibles signos de lesiones cancerosas o precancerosas durante la exploración clínica rutinaria, incluso cuando a veces estas técnicas exploratorias no se llevan a cabo rutinariamente por los profesionales de la salud. Por lo tanto, a la hora de hablar de los biomarcadores como herramienta diagnóstica, nos referimos a ellos como prueba complementaria más que como reemplazo de la exploración clínica, ya que sólo algunos biomarcadores prometedores pueden trasladarse a la práctica clínica (aquellos con alta especificidad, sensibilidad, valores predictivos negativo y positivo y valor probabilístico de aparición), todo ello sin perder en consideración que la puesta en marcha de nuevos ensayos clínicos estandarizados siguen siendo necesarios para su validación clínica final.

## CONCLUSIONES

- Las ciencias “ómicas” muestran en numerosos estudios que, como en el caso de la sangre o los tejidos biopsiados, los fluidos orales pueden ser una fuente de información en tiempo real gracias a su bioquímica, con la ventaja adicional de su fácil recolección y no invasividad. Estas ciencias permiten detectar enfermedades como el cáncer oral o la leucoplasia analizados en este trabajo.
- Cabe mencionar que los últimos estudios desarrollados sobre los biomarcadores salivales con respecto al diagnóstico del cáncer oral progresan hacia su aplicación clínica. Varios de los biomarcadores han sido ya identificados y validados a nivel preclínico (IL-8, IL-6, S100P, CA125, IL-1B e IL-1A), dato que debe servir de motivación en próximas investigaciones para conseguir la validación de los biomarcadores salivales. Este objetivo se podría lograr coordinando las investigaciones clínicas y biológicas junto con una sanidad pública, obteniendo así mejores resultados y costes/efectos a nivel de la población (28).
- Muchos de los estudios aquí recogidos investigan el potencial de los biomarcadores salivales para el COCE en comparación con controles sanos, y varios de ellos validan la asociación de un estado primario inflamatorio con el desarrollo de éste. Esta interacción puede guiar a falsos positivos debido al incremento de los biomarcadores salivales en procesos inflamatorios, por lo que el potencial de los biomarcadores salivales para la detección del COCE puede verse ensombrecido. Con el fin de evitarlo, se prueban diferentes combinaciones de biomarcadores para poder realizar el diagnóstico correcto. Por lo tanto, futuros estudios que proporcionen métodos de validación para el uso de la combinación de estos biomarcadores salivales son necesarios, y su utilidad en el diagnóstico precoz del cáncer oral.
- Estos estudios deberán utilizar protocolos estandarizados, fieles a los métodos de detección y una población heterogénea y representativa, incluyendo pacientes con factores de riesgo de cáncer oral y pacientes con lesiones malignas potencialmente cancerosas en diferentes estadios clínicos. Así, conseguiremos una alta especificidad de los biomarcadores y entonces se podrán implementar como herramientas diagnósticas protocolarizadas en la práctica clínica.

## BIBLIOGRAFÍA

1. OMS. No Title. 2015;
2. McGurk M, Chan C, Jones J, O'Regan E, Sherriff M. Delay in diagnosis and its effect on outcome in head and neck cancer. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2005;43(4):281–4.
3. Warnakulasuriya S. Causes of oral cancer - An appraisal of controversies. *Br Dent J* [Internet]. 2009;207(10):471–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.bdj.2009.1009>
4. Feng Y, Li Q, Chen J, Yi P, Xu X, Fan Y, et al. Salivary protease spectrum biomarkers of oral cancer. *Int J Oral Sci*. 2019 Mar 1;11(1).
5. Gualtero DF, Suarez Castillo A. Biomarkers in saliva for the detection of oral squamous cell carcinoma and their potential use for early diagnosis: A systematic review. *Acta Odontol Scand*. 2016;74(3):170–7.
6. OMS OM de la S. Definición Lesiones precancerosas [Internet]. 1978. Available from: [www.who.int](http://www.who.int)
7. Walsh T, Liu JLY, Brocklehurst P, Glennly AM, Lingen M, Kerr AR, et al. Clinical assessment to screen for the detection of oral cavity cancer and potentially malignant disorders in apparently healthy adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013;2013(11).
8. Huang SH, O'Sullivan B. Overview of the 8th Edition TNM Classification for Head and Neck Cancer. *Curr Treat Options Oncol*. 2017;18(7).
9. Denaro N, Russi EG, Merlano MC. Pros and Cons of the New Edition of TNM Classification of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Oncol*. 2018;95(4):202–10.
10. Hussein AA, Forouzanfar T, Bloemena E, de Visscher J, Brakenhoff RH, Leemans CR, et al. A review of the most promising biomarkers for early diagnosis and prognosis prediction of tongue squamous cell carcinoma. *Br J Cancer*. 2018 Sep 11;119(6):724–36.
11. D'Cruz AK, Vaish R, Dhar H. Oral cancers: Current status. *Oral Oncol*. 2018;87(September):64–9.
12. Wang X, Kaczor-Urbanowicz KE, Wong DTW. Salivary biomarkers in cancer detection. *Med Oncol*. 2017;34(1):1–8.

13. Mota-Ramírez A, Silvestre FJ, Simó JM. Oral biopsy in dental practice. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* [Internet]. 2007 Nov 1 [cited 2020 Mar 23];12(7):E504-10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17978774>
14. Kaczor-Urbanowicz KE, Martin Carreras-Presas C, Aro K, Tu M, Garcia-Godoy F, Wong DTW. Saliva diagnostics – Current views and directions. *Exp Biol Med*. 2017;242(5):459–72.
15. Kaczor-Urbanowicz KE, Martin Carreras-Presas C, Aro K, Tu M, Garcia-Godoy F, Wong DTW. Saliva diagnostics – Current views and directions. Vol. 242, *Experimental Biology and Medicine*. SAGE Publications Inc.; 2017. p. 459–72.
16. Rai V, Mukherjee R, Ghosh AK, Routray A, Chakraborty C. “Omics” in oral cancer: New approaches for biomarker discovery. *Arch Oral Biol* [Internet]. 2018;87(February 2017):15–34. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2017.12.003>
17. Ishikawa S, Sugimoto M, Kitabatake K, Sugano A, Nakamura M, Kaneko M, et al. Identification of salivary metabolomic biomarkers for oral cancer screening. *Sci Rep*. 2016 Aug 19;6.
18. Kaur J, Jacobs R, Huang Y, Salvo N, Politis C. Salivary biomarkers for oral cancer and pre-cancer screening: a review. Vol. 22, *Clinical Oral Investigations*. Springer Verlag; 2018. p. 633–40.
19. Martin JL, Gottehrer N, Zalesin H, Hoff PT, Shaw M, Clarkson JH, et al. Evaluation of Salivary Transcriptome Markers for the Early Detection of Oral Squamous Cell Cancer in a Prospective Blinded Trial. *Compend Contin Educ Dent*. 2015;36(5):365–73.
20. Sivadasan P, Gupta MK, Sathe G, Sudheendra H V., Sunny SP, Renu D, et al. Salivary proteins from dysplastic leukoplakia and oral squamous cell carcinoma and their potential for early detection [Internet]. Vol. 212, *Journal of Proteomics*. Elsevier B.V; 2020. 103574 p. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2019.103574>
21. Hu S, Arellano M, Boontheung P, Wang J, Zhou H, Jiang J, et al. Salivary proteomics for oral cancer biomarker discovery. *Clin Cancer Res* [Internet]. 2008 Oct 1 [cited 2019 Dec 23];14(19):6246–52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18829504>
22. Lohavanichbutr P, Zhang Y, Wang P, Gu H, Nagana Gowda GA, Djukovic D, et al. Salivary metabolite profiling distinguishes patients with oral cavity squamous cell carcinoma from normal controls. *PLoS One*. 2018 Sep 1;13(9).

23. Deepthi G, Nandan SRK, Kulkarni PG. Salivary tumour necrosis factor- $\alpha$  as a biomarker in oral leukoplakia and oral squamous cell carcinoma. *Asian Pacific J Cancer Prev.* 2019;20(7):2087–93.
24. Ghallab NA, Shaker OG. Serum and salivary levels of chemerin and MMP-9 in oral squamous cell carcinoma and oral premalignant lesions. *Clin Oral Investig.* 2017;21(3):937–47.
25. Michailidou E, Tzimagiorgis G, Chatzopoulou F, Vahtsevanos K, Antoniadis K, Kouidou S, et al. Salivary mRNA markers having the potential to detect oral squamous cell carcinoma segregated from oral leukoplakia with dysplasia. *Cancer Epidemiol.* 2016;43:112–8.
26. Cáceres SE, Rodríguez SJ, Rivas HA, Astorga SM. Capacidad diagnóstica de los biomarcadores salivales interleucinas 6 y 8 para el diagnóstico de carcinoma de células escamosas de cavidad oral. :67–75.
27. Nelson HD, Tyne K, Naik A, Bougatsos C, Chan BK, Humphrey L. *Annals of Internal Medicine Clinical Guidelines.* *Ann Intern Med.* 2008;149(9):627–38.
28. Bengt Franzon Björn Axtelius Sigvard Åkerman and Björn Klinge. Dental politics and subsidy systems for adults in Sweden from 1974 until 2016. *BDJOPEN* 17007; doi:10.1038/bdjopen.2017.7; published online 5 May 2017