



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

Departamento de Estomatología

LA SALIVA EN EL DIAGNÓSTICO DEL CÁNCER ORAL

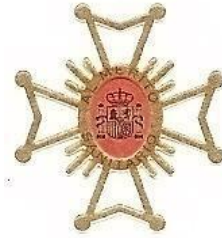
Autor: Francisco Jiménez Doblas

Tutora: Dra. Isabel Gallardo Castillo

Sevilla, 2021



Departamento de Estomatología
Universidad de Sevilla



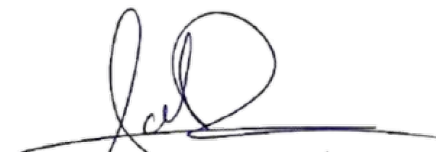
Medalla y Encomienda
Orden Civil de Sanidad

Dña. **ISABEL GALLARDO CASTILLO** Profesora Contratado Doctor del Departamento de Estomatología de la Facultad de Odontología de la Universidad de Sevilla.

CERTIFICA:

Que el alumno de Odontología D. **FRANCISCO JIMÉNEZ DOBLAS**, ha realizado bajo su tutela y dirección, el trabajo titulado: “**LA SALIVA EN EL DIAGNÓSTICO DEL CÁNCER ORAL**”, que cumple todos los requisitos del Trabajo Fin de Grado de la Titulación Grado en Odontología adscrito a la Facultad de Odontología de la Universidad de Sevilla.

Lo que firma en Sevilla a 24 de Mayo de 2021.



D/D^a Isabel Gallardo

TUTOR/A

Prof^a. Isabel Gallardo Castillo



Facultad de Odontología. C/ Avicena s/n, 41009 Sevilla



Facultad de Odontología



D/Dña. (Apellidos y Nombre) **JIMÉNEZ DOBLAS, FRANCISCO** con DNI **47514399X** alumno/a del Grado en Odontología de la Facultad de Odontología (Universidad de Sevilla), autor/a del Trabajo Fin de Grado titulado: "**LA SALIVA EN EL DIAGNÓSTICO DEL CÁNCER ORAL**".

DECLARO:

Que el contenido de mi trabajo, presentado para su evaluación en el Curso **2020/2021**, 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 a 24 de Mayo de 2021

(Firma del interesado)

Fdo.: **FRANCISCO JIMÉNEZ DOBLAS**

AGRADECIMIENTOS

Un trabajo de fin de grado no solo marca el final de un proyecto de un curso académico. Marca el final de un viaje, y el comienzo de uno nuevo. Este viaje, que ha requerido de nosotros una gran dedicación y esfuerzo nos deja ahora en un aeropuerto tan grande, que al principio nos hará sentir perdidos en busca de nuestra terminal.

Sin lugar a duda, lo mejor de cada uno de los vuelos, ha sido la compañía.

Gracias a ellos. Los que llegaron para quedarse un septiembre de 2016, aunque algunos habían llegado antes. A vosotros, los que llegasteis más tarde. Gracias a todos ellos, que me han cambiado la vida y han sacado la mejor versión de mí.

Gracias a mi familia, mis padres y mi hermano, por soportar estos años de carrera y cuidarme.

Gracias a mis amigos, por disfrutar junto a mí de cada una de las batallas que llevo conmigo a diario y que a ellos les gusta tanto escuchar.

Gracias Isabel Mari y Patri, por ser mi columna vertebral.

Gracias a ti, Susana, por guiar mis manos como si fueran las tuyas, por enseñarme, por creer, apostar y confiar en mí.

Gracias a la Doctora Isabel Gallardo, por su ayuda, consejos y profesionalidad a lo largo de mi trabajo.

Eternamente agradecido.

Paco

ÍNDICE

1. RESUMEN/ABSTRACT.....	1
2. INTRODUCCIÓN.....	2
2.1.CÁNCER.....	2
2.2.INCIDENCIA.....	2
2.3.CÁNCER ORAL.....	2
2.3.1. PATOGÉNESIS Y LOCALIZACIÓN.....	2
2.3.2. INCIDENCIA.....	3
2.3.3. ETIOLOGÍA.....	3
2.3.4. DIAGNÓSTICO CLÍNICO DEL CÁNCER BUCAL.....	4
2.3.5. PRONÓSTICO Y ESTADIAJE.....	5
2.3.6. TRATAMIENTO.....	6
2.4.MICROBIOTA ORAL.....	6
2.4.1. ALTERACIONES EN LA MICROBIOTA ORAL.....	7
2.5.SALIVA. DEFINICIÓN Y FUNCIONES.....	8
2.5.1. IDENTIFICACIÓN DE BIOMARCADORES PRONÓSTICOS.....	8
2.5.2. ANÁLISIS BIOQUÍMICOS E INMUNOLÓGICOS DE LA SALIVA.....	9
2.6.BIOPSIA LÍQUIDA.....	10
2.7.BIOMARCADORES SALIVALES PARA EL CÁNCER ORAL.....	11
3. OBJETIVOS.....	11
4. METODOLOGÍA DE LA BÚSQUEDA/MATERIAL Y MÉTODO.....	11
5. RESULTADOS.....	13
6. DISCUSIÓN.....	17
7. CONCLUSIONES.....	26
8. BIBLIOGRAFÍA.....	27

1. RESUMEN/ABSTRACT

RESUMEN: Los tumores malignos de la cavidad oral suponen un 4% del total de tumores malignos del organismo, del cual el 90% corresponden a carcinoma oral de células escamosas (COCE). La alta incidencia y su baja tasa de supervivencia hace que los esfuerzos en el desarrollo de herramientas diagnósticas eficaces sean más que necesarias. En esta revisión, presentamos las aplicaciones de la saliva para fines diagnósticos, intentando resaltar sus ventajas: proceso no invasivo, económico, rápido y sencillo. En los últimos años, se han investigado y desarrollado nuevas tecnologías que han verificado una variedad de biomarcadores salivales, que pronto harán del uso de la saliva una realidad clínica. Otra tecnología prometedora es la denominada biopsia líquida, que puede detectar células tumorales circulantes (CTC) y fragmentos de ADN tumoral en la saliva. Estos recientes desarrollos han expandido el enfoque de la cavidad bucal a todo el sistema fisiológico, apuntando a un futuro prometedor de los diagnósticos a través de la saliva.

ABSTRACT: Malignant tumors of the oral cavity account for 4% of all malignant tumors in the body, 90% of which correspond to oral squamous cell carcinoma (OSCC). The high incidence and low survival rate make efforts in the development of effective diagnostic tools more than necessary. In this review, we present the applications of saliva for diagnostic purposes, trying to highlight its advantages: non-invasive, inexpensive, fast and simple process. In recent years, new technologies have been researched and developed that have verified a variety of salivary biomarkers, which will soon make the use of saliva a clinical reality. Another promising technology is the so-called liquid biopsy, which can detect circulating tumor cells (CTCs) and tumor DNA fragments in saliva. These recent developments have expanded the focus from the oral cavity to the entire physiological system, pointing to a promising future of diagnostics through saliva.

2. INTRODUCCIÓN

2.1.CÁNCER

La palabra cáncer es una palabra que desgraciadamente forma parte de nuestra jerga diaria y que constituye una entidad clínica compleja y de gran importancia.

Bajo esta palabra se engloban más de doscientas enfermedades con un curso evolutivo radicalmente diferente. En algunas de ellas, la curación será posible, pero en otras neoplasias, la incurabilidad será la norma.(1)

2.2.INCIDENCIA

El cáncer es la segunda causa de muerte más común en los países desarrollados y la tercera causa de mortalidad en los países en desarrollo. Se estima que la incidencia del cáncer aumentará a 26 millones de casos y 17 millones de muertes por año en 2030 y, por lo tanto, es un importante problema de salud mundial.(2)

2.3.CÁNCER ORAL

El carcinoma oral de células escamosas es la neoplasia maligna más frecuente de la cavidad oral. Los tumores malignos de la cavidad oral suponen un 4% del total de tumores malignos del organismo, del cual el 90% corresponden a carcinoma oral de células escamosas (COCE), siendo este el más común de los cánceres de cabeza y cuello.(3)

2.3.1. PATOGÉNESIS Y LOCALIZACIÓN

La célula que da origen a este tipo de carcinoma es el queratinocito de la mucosa bucal. Este es causado por la mutación del ADN, fenómeno que a menudo ocurre de manera espontánea, pero su riesgo aumenta con la exposición de algunos tipos de mutágenos. En el cáncer, las células se vuelven autónomas y los resultados de éste se caracterizan por la invasión a través de la membrana basal epitelial y finalmente la metástasis.

Este tipo de carcinoma puede aparecer en cualquier lugar de la cavidad bucal, aunque hay algunas áreas en las cuales se puede encontrar con mayor frecuencia. La lengua y el suelo de la boca, son las áreas más comunes donde se puede localizar y ocurre en un 50 % de los casos. Otros lugares de aparición son el área retromolar, encía, paladar blando, y con menos frecuencia, el paladar duro.(4)

2.3.2. INCIDENCIA

El cáncer del labio y la cavidad oral fue responsable de 145.000 muertes en todo el mundo en 2012 (2% del total de casos de cáncer).(2)

El cáncer de cabeza y cuello es más frecuente en hombres y con mayor incidencia de aparición entre los 50 y 70 años, pero la incidencia en mujeres y en personas jóvenes está aumentando en los últimos años, probablemente por los hábitos tóxicos que se equilibran al de los hombres cada vez más. Es curioso resaltar que se ha observado también un incremento en la aparición en mujeres jóvenes, en las que no aparece relacionado el hábito del tabaco.(3)

Teniendo en cuenta la alta incidencia de esta patología y el impacto que produce su baja tasa de supervivencia a nivel de la salud pública, los esfuerzos en el desarrollo de herramientas diagnósticas eficaces continúan siendo necesarios.(4)

2.3.3. ETIOLOGÍA

Los principales factores de riesgo son fumar y el consumo de alcohol, y suponen un mayor riesgo sinérgico usados conjuntamente, aumentando exponencialmente el riesgo de padecer cáncer oral y faríngeo.(5) Sin embargo, la carcinogénesis bucal muestra una etiología multifactorial, donde se involucran factores endógenos (genéticos) y exógenos (ambientales y comportamentales). Entre estos factores se destacan diferentes variables sociodemográficas y económicas, incluyendo a la falta de higiene bucal y la exposición laboral.(4) En cuanto a estas variables, suponen un riesgo añadido hábitos como el de mascar tabaco y fumar “con la candela para dentro” así como el consumo de nuez de betel o de areca.(5) Así mismo existen casos en los que la etiología es desconocida o se encuentra involucrado el Virus del Papiloma Humano.(4)

A continuación, se detallan algunos de los factores de riesgo nombrados anteriormente:

1. TABACO. En torno al 85% de los pacientes con COCE son “grandes fumadores” (>2 paquetes de cigarrillos al día).(3) La lucha contra factores de riesgo como el tabaco se hace evidente en las numerosas leyes antitabaco existentes. El Doctor Francisco Rodríguez Lozano expresaba en la revista “gaceta dental”: —*La mayoría de los fumadores quieren dejar de fumar y estas leyes han sido la excusa ideal para intentarlo.*(6)

II. ALCOHOL. Casi un 90% de los pacientes con COCE son “grandes bebedores”. Se piensa que el alcohol es un iniciador o es el encargado de promover los cambios degenerativos del epitelio, actuando como irritante y contribuyendo al sinergismo con el tabaco, que aprovecharía la susceptibilidad de los tejidos.(3)

III. VIRUS Y OTROS AGENTES INFECCIOSOS. Se ha visto en personas jóvenes, no fumadoras, no consumidoras de alcohol, con buena alimentación, sin antecedentes familiares, etc. que han desarrollado un cáncer. Se ha sugerido el papel que muchos virus tienen en el cáncer, siendo cada vez más los estudios que relacionarían al virus del papiloma humano (VPH) como posible factor etiológico, observándose que los tipos más relacionados con el desarrollo de un proceso cancerígeno son el 16 y 18.(3)

IV. TRASTORNOS ORALES POTENCIALMENTE MALIGNOS. El precáncer oral tiene diversos aspectos clínicos que se engloban en los llamados trastornos potencialmente malignos, que pueden incrementar el riesgo de padecer cáncer oral. Dentro de éstas, las que normalmente preceden al cáncer oral son la eritroplasia y la leucoplasia.(5)

V. ONCOGENES. GENES SUPRESORES TUMORALES. El carcinoma oral resulta de la acumulación sucesiva de cambios genéticos heterogéneos en las células escamosas, que modifican la función normal de los protooncogenes y los genes supresores de tumor, los cuales afectan a la regulación del ciclo celular, reparación del ADN y la inmunidad celular, proporcionando a las células transformadas una mayor capacidad proliferativa e invasiva. Los genes supresores tumorales son el primer sistema de vigilancia tumoral.(3)

VI. OTRAS FACTORES. Algunos estudios implican a la higiene oral y al estado de los dientes, pero el papel de estas es incierto.(3)

2.3.4. DIAGNÓSTICO CLÍNICO DEL CÁNCER BUCAL

El examen clínico intraoral convencional (examen visual y palpación) es considerada la prueba de referencia para el diagnóstico presuntivo de una lesión potencialmente maligna o cáncer bucal, mientras que el estudio relevante para la detección definitiva de casos es la biopsia y el diagnóstico histopatológico.

Asimismo, existen diferentes técnicas complementarias que pueden contribuir al diagnóstico del cáncer bucal como la tinción con azul de toluidina, la citología por

cepillado, los sistemas de imágenes ópticas, el uso de la sangre o el análisis de la saliva, entre otros.(4)

Clínicamente, en los estadios primarios las lesiones pueden ser asintomáticas y suelen ser pasadas por alto si el examen de la cavidad oral no es adecuado. Pero en otras ocasiones, o en estadios más avanzados nos podemos encontrar síntomas como sangrado, pérdida de piezas dentarias, dificultad o dolor al deglutir, dificultad para llevar dentaduras, bultos en el cuello, úlcera que no cura, aparición de placas o lesiones de color blanco (leucoplasia) o rojo (eritroplasia), o una mezcla de lesión blanca y roja (eritroleucoplasia). A su vez, los signos que podemos observar son úlcera sin dolor, induración, parestesia de lengua o labio, crecimiento papilar y dificultad para abrir la boca debida a la disminución de la movilidad del tejido. Sospecharemos que una lesión pueda ser cáncer si persiste más de 3 semanas en boca.(5)

Un aspecto importante en el diagnóstico es la clasificación de estas lesiones. Se han propuesto diversas clasificaciones desde el punto de vista patológico, siendo la más aceptada la de la OMS que los divide en tres grados; de peor pronóstico cuanto más indiferenciado sea el tumor:

- Bien diferenciados: presentan una gran semejanza con las células epiteliales y se observa abundante formación de queratina. La atipia celular es mínima, así como el número de mitosis.
- Moderadamente diferenciados: presentan menor semejanza con las células epiteliales, y el grado de atipia nuclear, así como el número de mitosis es mayor. Por otra parte, disminuye la queratinización individual.
- Pobremente o poco diferenciados: la similitud con las células epiteliales es tan pequeña que en ocasiones es difícil establecer el origen escamoso de estos tumores y hay que recurrir a técnicas inmunohistoquímicas para demostrar si hay positividad a la citoqueratina. Existe un gran pleomorfismo nuclear y un elevado número de mitosis.(3)

2.3.5. PRONÓSTICO Y ESTADIAJE

La angiogénesis es una de las características esenciales en la formación de tumores y es también muy importante en el desarrollo, reproducción y curación de éstos.

La metástasis es, aparte de un proceso selectivo, uno de los aspectos más temidos del cáncer. Se ha observado que el número de metástasis que se desarrollan es directamente

proporcional al número de células tumorales inyectadas intravascularmente. Los tumores metastáticos de la cavidad oral son poco comunes, lo cual supone el 1% de las neoplasias malignas orales. Se ha visto que la frecuencia de micrometástasis es mucho mayor cuando se trata de cáncer de cabeza y cuello.(5)

Para el seguimiento clínico y terapéutico de los pacientes se utiliza la clasificación TNM, que describe la extensión anatómica de la enfermedad y se basa en 3 parámetros: tamaño tumoral (T), presencia de ganglios linfáticos regionales a la palpación (N) y presencia o no de metástasis a distancia (M). (Tabla 1)

Según estos parámetros se dividen en 4 estadios clínicos. Los estadios I y II se consideran iniciales, ya que en ellos no hay metástasis ganglionares y el tamaño es menor de 4cm en general, se ha observado que tienen un buen pronóstico con una tasa de supervivencia elevada, mientras que los estadios III y IV son avanzados, disminuyendo en gran medida el porcentaje de supervivencia global.(3)

2.3.6. TRATAMIENTO

El tratamiento del carcinoma oral de células escamosas es multidisciplinario. Los objetivos fundamentales del tratamiento son: curar la enfermedad, preservar o restaurar la función, minimizar las secuelas del tratamiento y la prevención de segundos tumores primarios.(3)

Tanto la cirugía como la radioterapia siguen siendo el *gold standard*, ya sea por separado, o en combinación con quimioterapia en estadios avanzados. El tipo de cirugía dependerá de si los nódulos cervicales están afectados o no. Si no lo están, nos bastará con extirpar toda la lesión con márgenes de seguridad, además de los ganglios cervicales.

T (Descripción del tamaño del tumor primario)	
Tx	El tumor primario no puede ser evaluado.
T0	No hay evidencia de tumor primario.
Tis	Carcinoma <i>in situ</i> .
T1	Tumor de 2 cm de tamaño o menor.
T2	Tumor entre 2-4 cm.
T3	Tumor mayor a 4 cm.
T4	Tumor invade otras estructuras como: el hueso cortical, seno maxilar, piel, músculo pterigoideo (T4a, T4b).
N (estado de los ganglios linfáticos regionales)	
Nx	Los ganglios linfáticos regionales no pueden ser evaluados.
N0	No hay evidencia de tumor primario.
N1	Metástasis a nivel de un solo nódulo linfático ipsilateral de 3 cm o menor.
N2	Metástasis a nivel de un solo nódulo linfático ipsilateral entre 3-6 cm de tamaño (2a), metástasis en múltiples nódulos linfáticos ipsilaterales no mayores de 6 cm (2b) o metástasis a nivel de nódulos linfáticos bilaterales no mayor de 6 cm (2a).
N3	Metástasis en un nódulo linfático mayor de 6 cm.
M (metástasis a distancia)	
M0	No hay metástasis a distancia.
M1	Hay metástasis a distancia.

Tabla SEQ Tabla * ARABIC 1.
Estadíaje TNM de tumores de cavidad oral. (5)

Para el tratamiento de las lesiones premalignas, por lo general, se recomienda trabajar según el nivel de displasia, bien eliminando el factor de irritación o realizando su extirpación en casos de displasia severa o moderada.(5)

2.4. MICROBIOTA ORAL

La microbiota oral o los biofilms orales se componen de 700 especies microbianas diferentes, una matriz extracelular compuesta por ADN, proteínas, polisacáridos y lípidos, y glicoproteínas salivales, fluido crevicular gingival, albúminas y componentes de las células del huésped. La colonización bacteriana, la interacción entre las adhesinas de la superficie celular bacteriana y los receptores del huésped y la matriz extracelular son los factores clave para la formación, el desarrollo y la maduración de las biopelículas orales. Las bacterias patógenas de las biopelículas orales contribuyen al desarrollo de la caries dental, la periodontitis y el cáncer oral.

La saliva es la principal fuente de nutrientes para las bacterias que residen en las biopelículas supragingivales, mientras que el fluido crevicular gingival proporciona nutrientes a las bacterias de las biopelículas subgingivales.

Los factores que afectan a la población de la microbiota oral son la temperatura, el pH, la salinidad, el potencial redox y el agua de la saliva. Factores como la edad del huésped; las condiciones ambientales como el pH, los niveles de oxígeno y la nutrición en los hábitats de la cavidad oral así como el estilo de vida del huésped, modulan la composición de la microbiota oral.(7)

2.4.1. ALTERACIONES EN LA MICROBIOTA ORAL

La alteración que podemos presentar en la microbiota oral dependerá de los factores comentados con anterioridad. En este texto vamos a tratar de centrarnos en cómo estas alteraciones microbianas pueden servirnos para entender como este hecho puede ser un aviso de una patología neoplásica como es el cáncer oral.

Las mutaciones somáticas relacionadas con el desarrollo de procesos malignos pueden utilizarse como biomarcadores para diagnosticar tumores orales o de otro tipo. En la saliva, el ADN específico del tumor fue positivo en el 100% de los pacientes con tumores orales. Sin embargo, sólo el 47%-70% de los pacientes con tumores en otras partes del cuerpo humano presentan ADN específico del tumor en la saliva.(8)

El papel de *lactobacillus gasseri*, *lactobacillus johnsonii*, *lactobacillus vaginalis* y *fusobacterium nucleatum* es esencial para el cribado, el diagnóstico y las estrategias de quimioprevención en el carcinoma de células escamosas orofaríngeo y el carcinoma oral de células escamosas abriéndonos la posibilidad de desarrollar una terapia de fagos contra estos patógenos orales, consiguiendo bloquear la formación de biopelículas patógenas e interrumpir las ya establecidas. Estas estrategias también deberían dirigirse al microambiente de pH ácido en la biopelícula alternando el pH.(7)

2.5. SALIVA. DEFINICIÓN Y FUNCIONES

La saliva es una solución hipotónica de acinos salivales, líquido crevicular gingival y exudados de la mucosa oral. Aproximadamente el 90% de la saliva se segrega a partir de las glándulas salivales y las principales glándulas son la parótida, las submandibulares y las sublinguales.

La saliva es incolora, inodora y tiene una densidad relativa de 1,004-1,009 y un pH de 6,6 a 7,1. Una persona normal produce 600mL de saliva al día.(8)

En su composición tenemos en primer lugar, un contenido en agua y sales, siendo el 99% de la saliva agua, mientras que el 1% restante está constituido por moléculas orgánicas e inorgánicas que proceden del torrente sanguíneo, que le confieren parte de sus propiedades. (Tabla 2)

Funciones de la saliva	Componentes
Limpieza	Agua
Lubricación	Agua, mucinas, glicoproteínas ricas en prolina
Capacidad tampón y remineralización	Bicarbonato, fosfato, calcio, estaterina, proteínas aniónicas ricas en prolina, flúor
Mantenimiento de la integridad de la mucosa	Mucinas, factor de crecimiento epidérmico, electrolitos, agua
Antimicrobiana	Lisozima, lactoferrina, lactoperoxidas, mucinas, cistatinas, histatinas, inmunoglobulinas, proteínas ricas en prolina
Digestión	Amilasa, lipasa, ribonucleasas, proteasas, agua, mucinas
Preparación de los alimentos para la deglución	Agua, mucinas
Sabor	Agua, gustina
Fonación	Agua, mucina

Tabla 2. Propiedades de la saliva.(3)

2.5.1. IDENTIFICACIÓN DE BIOMARCADORES PRONÓSTICOS

Existen más de 100 biomarcadores potenciales para el carcinoma bucal de células escamosas. Avances en proteómica han permitido la detección de moléculas de poca abundancia en la saliva, como es el caso de algunas proteínas, las cuales, al ser producto de las glándulas salivales, pueden servir de biomarcadores tanto para patologías locales como sistémicas.(4)

Los biomarcadores se pueden clasificar en cinco grupos según su función biológica, entre los que cabe destacar: (3)

- Actúan en la aceleración y proliferación del ciclo celular: EGFR, Ciclina D1, Ki 67, PCNA y Akt1.
- Supresión y apoptosis tumoral: p53/p63, p21/p27, Bax, Bcl-2, pRb y survivin
- Biomarcadores de hipoxia: HIF-1 α , anhidrasa carbónica IX, GLUT-1 y EPOR.
- Biomarcadores de angiogénesis: VEGF, CD105 y Eph receptor tiosina kinasa.
- Biomarcadores de degradación y adhesión celular: MMPs, CD44, Cadherina, Cateninas y Versican.

La diversidad de especies y la abundancia relativa de bacterias en la saliva de los pacientes con tumores orales son mayores que en los pacientes sanos.(8)

La identificación y conocimiento de los biomarcadores pronósticos podrían implicar una predicción de la agresividad del tumor, y en este sentido la identificación de algunos de estos factores en el momento del diagnóstico permitiría identificar aquellos pacientes afectados de tumores más agresivos, y por consecuencia, susceptibles de tratamientos más agresivos, así como alternativas terapéuticas prometedoras. Sin embargo, siguen existiendo resultados contradictorios en los diferentes estudios, que podrían ser atribuidas a la utilización de diferentes métodos en la evaluación de la expresión de los biomarcadores, así como a la heterogeneidad de las muestras.(3)

Con el desarrollo de la tecnología de secuenciación de alto rendimiento los investigadores se han dado cuenta de la importancia de los microorganismos en el desarrollo del cáncer oral.(8)

2.5.2. ANÁLISIS BIOQUÍMICOS E INMUNOLÓGICOS DE LA SALIVA

- Las muestras de citología exfoliativa se pueden emplear para detectar alteraciones genéticas en el epitelio oral de pacientes con riesgo elevado de desarrollar cáncer y para detectar alteraciones microsatélites en el carcinoma oral de células escamosas.
- Entre los marcadores salivales cabe destacar citoquinas como la IL-6, IL-8, TNF- α y la IL-1- β que presentan niveles elevados en pacientes con carcinomas. Otros marcadores como el factor de crecimiento epidérmico (EGF), la endotelina 1 que está incrementado en la saliva de pacientes con cáncer, y relacionado con la extensión y metástasis tumoral. Las mutaciones en el gen p53 son considerados como una de las alteraciones genéticas más frecuentes en la aparición de neoplasias.
- Los niveles en saliva de CD44, fueron mayores en los pacientes con cáncer que en los controles.(3)

2.6. BIOPSIA LÍQUIDA.

Prevenible y curable en estadios tempranos, la mayoría de los casos de carcinomas de células escamosas orales (COCE) no se diagnostican hasta estadios avanzados, un punto en el que la terapia es menos eficaz y el pronóstico es peor. La biopsia tisular es el patrón de oro en el diagnóstico del cáncer oral, pero es bien sabido que los perfiles moleculares de los tumores tienen un comportamiento dinámico a lo largo del tiempo.

En este sentido, el campo de la biopsia líquida ha surgido como una revolución en múltiples áreas de la oncología y el desarrollo de la medicina de precisión tumoral. La biopsia líquida es una herramienta de diagnóstico no invasiva, basada en la detección de células tumorales circulantes (CTCs), ADN tumoral circulante (ctADN) y ARN tumoral circulante (ctARN), proteínas y exosomas. Es importante destacar que, además de la sangre, hay otros fluidos corporales como la orina, la saliva, el plasma, líquido seminal, los derrames pleurales, el líquido cefalorraquídeo, el esputo y las muestras de heces que pueden utilizarse para una biopsia líquida. Una de las principales ventajas del estudio de las biopsias líquidas es

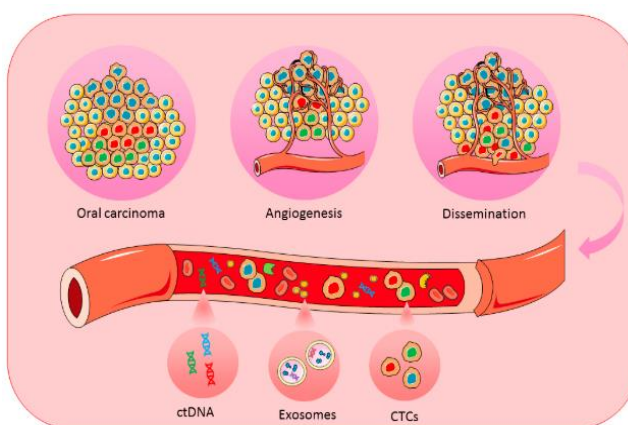


Figura SEQ Ilustración * ARABIC 1. Representación esquemática de las CTC, el ctADN y los exosomas para lograr una medicina personalizada en el cáncer oral. (9)

que proporcionan una instantánea personalizada de los tumores primarios y metastásicos en puntos temporales sucesivos. Por lo tanto, mediante el uso de biopsias líquidas, podemos obtener un perfil molecular para cada paciente. (*Figura. 1*)

Los diferentes subtipos de tumores podrían complementar el sistema de estadificación de tumores, ganglios y metástasis (TNM). Este sistema de estadificación no refleja la heterogeneidad biológica de un tumor, una adición adecuada sería la inclusión del tipo molecular. Esto ayudará a crear una medicina más personalizada, disminuyendo el riesgo de sobretratamiento o infratratamiento.(9)

2.7. BIOMARCADORES SALIVALES PARA EL CÁNCER ORAL

Teniendo en cuenta que la saliva puede considerarse como "el espejo del cuerpo", se ha convertido en una atractiva herramienta clínica debido a su fácil recogida y sencillo almacenamiento. Ya se han caracterizado cinco alfabetos de diagnóstico en muestras salivales: proteoma, transcriptoma, micro-ARN, metaboloma y microbioma.(9)

3. OBJETIVOS

El cáncer constituye un término al que estamos habituados, pues se trata de una enfermedad que vive en nuestra sociedad y desde su sospecha, diagnóstico, el comienzo del tratamiento y sus consecuencias provoca en la población cambios que condicionarán el resto de su vida.

Los avances en nanotecnología y el estudio del rastro molecular del cáncer podría suponer un antes y un después en la oncología, pues la detección precoz del cáncer sería la norma.

El objetivo principal es revisar los biomarcadores salivales que se han observado en pacientes que sufren cáncer oral. Como objetivos secundarios nos planteamos: resaltar la evidente importancia que tiene el diagnóstico precoz, y con ello, la necesidad de investigación en un campo, del que aún conocemos poco.

Tenemos las herramientas necesarias para poder detectar procesos tumorales, incluso antes de que sean visibles o detectables mediante lo que hasta hoy es el gold estándar en diagnóstico del cáncer, la biopsia tisular.

4. METODOLOGÍA DE LA BÚSQUEDA/MATERIAL Y MÉTODO

Para realizar esta revisión bibliográfica, se han efectuado varias búsquedas bibliográficas utilizando principalmente como base de datos PubMed y Dialnet. Se han establecido dos tipos de limitaciones; las limitaciones generales, las cuales constan de una acotación de resultados a los últimos 5 años, seleccionando como idioma español o inglés y texto completo libre. En cuanto a las limitaciones específicas, estas constan de una acotación de resultados pertenecientes a revistas de odontología, estudios en humanos, así como publicaciones en revistas científicas, revisiones, ensayos clínicos y metaanálisis de impacto.

En la primera búsqueda, realizada en Dialnet, empleamos como criterio para la misma (**cancer OR neoplasia OR oncología**) AND **saliva**. Sin aplicar ningún tipo de filtro aparecen 112 resultados. Establecemos limitaciones generales, (acotando los resultados a los últimos 5 años, seleccionando como idioma español o inglés, y con texto completo libre), obteniendo 45 resultados. Tras introducir las limitaciones específicas (publicaciones en revistas científicas, revisiones, ensayos clínicos y metaanálisis, así como estudios en humanos), título y resumen, obtenemos un total de 30 resultados, de los cuales elegimos 4, descartando el resto por la falta de relación con el objetivo de esta revisión.

La misma estrategia de búsqueda fue usada en la base de datos de PubMed, obteniendo tras establecer los filtros generales, un total de 592 resultados. Finalmente, tras limitar específicamente obtenemos 54 resultados y tanto por título y resumen, seleccionamos 6 artículos.

En la segunda búsqueda, empleamos como estrategia de búsqueda **Saliva AND Cancer diagnosis** en PubMed. Los resultados totales son 1447, sin utilizar filtros. Estableciendo las mismas limitaciones, los resultados se reducen a 214. Finalmente, tras las limitaciones específicas, por título y resumen, seleccionamos 3 artículos de los 14 resultados obtenidos.

En la tercera y última búsqueda realizada en PubMed, empleamos como estrategia **Salivary biomarker AND oral cancer**. Los resultados totales son 1089, sin utilizar filtros. Tras las limitaciones generales, los resultados se reducen a 221. Finalmente, por título, resumen y las limitaciones específicas, seleccionamos 2 artículos de los 22 totales.

Criterios de búsqueda	Base de datos	Resultados con limitaciones generales	Resultados con limitaciones específicas	con	Artículos seleccionados
“(cancer OR neoplasia OR oncología) AND saliva”	Dialnet	45	30		4
	PubMed	592	“Review”	30	6
			“Systematic review”	3	
			“Clinical trial”	8	
			“Randomized controlled trial”	12	
“Meta-analysis”	1				
“Saliva AND cancer diagnosis”	PubMed	214	“Review”	6	3
			“Systematic review”	1	
			“Clinical trial”	2	
			“Randomized controlled trial”	4	
			“Meta-analysis”	1	
“Salivary biomarker AND oral cancer”	PubMed	221	“Review”	16	2
			“Systematic review”	3	
			“Clinical trial”	2	
			“Randomized controlled trial”	0	
			“Meta-analysis”	1	

5. RESULTADOS

De todos los artículos encontrados, en total se seleccionan 15 artículos después de realizar lecturas de estos, clasificándolos dentro de los que nos interesaban para nuestra revisión. De esta selección, 12 se han tomado como referencia para realizar la discusión.

A continuación, exponemos un breve resumen de los artículos usados en nuestra discusión.

Artículo	Lee WH, Chen HM, Yang SF, Liang C, Peng CY, Lin FM, et al. Bacterial alterations in salivary microbiota and their association in oral cancer. Sci Rep. 1 de diciembre de 2017;7
Resumen	En este estudio, investigan las diferencias de la microbiota entre individuos normales, pacientes con lesiones precursoras epiteliales y pacientes con cáncer con diferentes hábitos de vida, revelándose diferencias significativas entre los pacientes con lesiones precursoras epiteliales y con cáncer. Estos cambios en la composición podrían constituir un biomarcador para ayudar a controlar la transición desde la lesión precursora epitelial al cáncer.
Artículo	Zhang CZ, Cheng XQ, Li JY, Zhang P, Yi P, Xu X, et al. Saliva in the diagnosis of diseases. Vol. 8, International Journal of Oral Science. Sichuan University Press; 2016. p. 133-7
Resumen	Esta revisión resume los últimos avances en los estudios relacionados con la saliva y aborda el valor potencial de la saliva en el diagnóstico precoz de enfermedades orales, como la caries dental y la enfermedad periodontal, así como el cáncer, la diabetes y otros trastornos sistémicos. Los biomarcadores de la saliva abarcan desde cambios en los índices bioquímicos del ADN, el ARN y las proteínas hasta la diversificación de las estructuras de la microbiota.
Artículo	Tamayo Cabeza G, Madera Anaya M, González Martínez F. El cáncer bucal y su relación con la proteína translocadora mitocondrial de 18kda. Rev CES Odontol [Internet]. 2017;30(1):17-29.
Resumen	La presente revisión tiene como objetivo presentar aspectos teóricos en relación con la proteína translocadora (TSPO) mitocondrial de 18kDa como un biomarcador a estudiar en sujetos con cáncer bucal, considerando su implicación en los procesos de apoptosis celular y participación en el estrés oxidativo.

Artículo	Lousada-Fernandez F, Rapado-Gonzalez O, Lopez-Cedrun JL, Lopez-Lopez R, Muinelo-Romay L, Suarez-Cunqueiro MM. Liquid biopsy in oral cancer. Vol. 19, International Journal of Molecular Sciences. MDPI AG; 2018.
Resumen	Esta revisión ofrece una visión general de la importancia biológica y clínica de las células tumorales circulantes (CTC), el ADN tumoral circulante (ADNc) y los exosomas para el diagnóstico y el pronóstico del cáncer oral. Describe la importancia de la biopsia líquida como una alternativa potencial a la biopsia sólida para el diagnóstico y el pronóstico. Además, los biomarcadores líquidos permiten el seguimiento en tiempo real de la evolución del tumor y de las respuestas terapéuticas, iniciando la era de la medicina personalizada.
Artículo	Nonaka T, Wong DTW. Liquid Biopsy in Head and Neck Cancer: Promises and Challenges. J Dent Res. 1 de junio de 2018;97(6):701-8
Resumen	En esta revisión, se resume el conocimiento actual de los biomarcadores circulantes en el campo de la biopsia líquida, centrándose en su viabilidad, limitaciones y áreas clave de aplicaciones clínicas. También se destacan los recientes avances en el diagnóstico salival y su posible aplicación en el cáncer de cabeza y cuello.
Artículo	Chu HW, Chang KP, Hsu CW, Chang IYF, Liu HP, Chen YT, et al. Identification of salivary biomarkers for oral cancer detection with untargeted and targeted quantitative proteomics approaches. Mol Cell Proteomics. 2019;18(9):1796-806
Resumen	El objetivo de este estudio fue explorar los biomarcadores metabólicos salivales mediante el análisis de muestras de saliva y de tejido tumoral para la detección del cáncer oral. Se obtuvieron tejidos tumorales y de control emparejados de pacientes con cáncer oral y se recogieron muestras de saliva entera sin estimular de pacientes y controles sanos. El enfoque demostrado, que integra la metabolómica de la saliva y del tejido tumoral, ayuda a eliminar las pseudomoléculas que son casualmente diferentes entre los cánceres orales y los controles. Estos metabolitos salivales combinados podrían ser la base de un método clínicamente factible de detección no invasiva del cáncer oral.

Artículo	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. 1 de marzo de 2019;11(1).
Resumen	En este estudio se analiza el espectro de proteasas salivales de pacientes con COCE, masas orales benignas y periodontitis crónica, así como el de los sanos, utilizando kits de matriz de proteasas humanas, ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas, Western Blot e inmunofluorescencia. Así pues, el análisis del espectro de proteasas salivales puede ser un enfoque innovador y rentable para evaluar el estado de salud de la cavidad oral. En concreto, los aumentos de catepsina V, calicreína 5 y ADAM9 pueden ser biomarcadores útiles en el cribado y el diagnóstico del COCE.
Artículo	Chattopadhyay I, Verma M, Panda M. Role of Oral Microbiome Signatures in Diagnosis and Prognosis of Oral Cancer. Vol. 18, Technology in cancer research & treatment. NLM (Medline); 2019.
Resumen	Los recientes avances en las tecnologías metagenómicas pueden ser útiles para identificar el microbioma relacionado con el cáncer oral, sus genomas, sus propiedades de virulencia y su interacción con la inmunidad del huésped. Es muy importante abordar qué especies bacterianas son las responsables de la carcinogénesis oral. La alteración de las comunidades microbianas comensales orales tiene una aplicación potencial como herramienta de diagnóstico para predecir el carcinoma oral de células escamosas. En esta revisión, se narra el papel del microbioma en la progresión del cáncer oral y su función como biomarcador de diagnóstico y pronóstico temprano del cáncer oral.
Artículo	Kaur J, Politis C, Jacobs R. Salivary apoptotic cells in oral (pre-) cancer as a potential diagnostic means. J Clin Exp Dent [Internet]. 2015;7(3):400-4. Disponible en: http://dx.doi.org/10.4317/jced.52212
Resumen	El objetivo de este estudio fue conocer las células apoptóticas salivales en pacientes precancerosos y cancerosos orales y además observar el potencial valor diagnóstico de las células apoptóticas salivales en la detección del

	precáncer y cáncer oral, concluyéndose que las células epiteliales apoptóticas salivales podrían utilizarse en la detección y el diagnóstico tempranos del precáncer y el cáncer orales.
Artículo	Ghizoni JS, Nichele · R, De Oliveira · M T, Pamato · S, Pereira · J R. The utilization of saliva as an early diagnostic tool for oral cancer: microRNA as a biomarker. Clin Transl Oncol [Internet]. 2014;22:804-12. Disponible en: https://doi.org/10.1007/s12094-019-02210-y
Resumen	El objetivo de este trabajo fue explorar todas las posibilidades teóricas que ofrece el microARN como herramienta de diagnóstico precoz del cáncer oral. Dado que el microARN es más específico para los tejidos y las enfermedades que el ARNm, tiene la premisa de ser un biomarcador factible, no invasivo y estable para el diagnóstico precoz del cáncer oral.
Artículo	Swiecicki PL, Brennan JR, Mierzwa M, Spector ME, Brenner JC. Head and Neck Squamous Cell Carcinoma Detection and Surveillance: Advances of Liquid Biomarkers
Resumen	Este artículo expone un manual para entender los estudios recientes que apoyan la transición para utilizar estos biomarcadores circulantes como parte de la atención clínica de rutina. Siendo fundamental comprender los avances recientes en esta área, así como las cuestiones emergentes que deben abordarse a medida que estos biomarcadores se acercan a la mejora de los paradigmas de atención clínica de rutina.
Artículo	Kaczor-Urbanowicz KE, Martín Carreras-Presas C, Aro K, Tu M, García-Godoy F, Wong DTW. Saliva diagnostics – Current views and directions. Vol. 242, Experimental Biology and Medicine. SAGE Publications Inc.; 2017. p. 459-72
Resumen	Esta revisión, ofrece una actualización de las aplicaciones actuales y futuras de la saliva con fines de diagnóstico. El uso de la saliva como fluido con fines de diagnóstico supondría un gran avance tanto para los pacientes como para los profesionales sanitarios, ya que la recogida de saliva es fácil, no invasiva y poco costosa. Repasa las principales aplicaciones

	diagnósticas actuales de la saliva y destaca las nuevas tecnologías y herramientas emergentes para el cribado, la detección y el seguimiento del cáncer.
--	--

6. DISCUSIÓN

La combinación de análisis de sangre y saliva puede ser una forma menos invasiva que la biopsia para identificar el cáncer en la cavidad oral, laringe, hipofaringe y la orofaringe. Aunque se sabe que este tipo de tumores desprenden fragmentos de ADN en fluidos como la sangre, la saliva, las heces o la orina, sus niveles son tan bajos que hacen que sea difícil analizar. En los últimos años, gracias a los adelantos en las técnicas de secuenciación, se ha podido probar que es posible detectar en sangre, saliva o en ambos los fragmentos de ADN en pacientes con cáncer. El objetivo final será desarrollar un test barato y destinado a la población general para que pueda ser realizado por médicos y dentistas.(10)

El examen oral convencional seguido de una biopsia de la zona sospechosa es el método actual para el cribado del COCE. En algunas ocasiones, la biopsia suele realizarse en una sola zona, lo que puede hacer que se pierdan otras zonas cancerosas, especialmente en pacientes con múltiples tipos de lesiones. El uso de biomarcadores en los fluidos corporales puede representar una herramienta eficaz para la detección precoz del COCE.(11)(12)(13) La saliva tiene una sobreabundancia de ADN específico de tumores orales. Por lo tanto, el ADN específico de los tumores en la saliva tiene el potencial de aplicarse para diagnosticar los cánceres orales. El ADN de los virus relacionados con los tumores en la saliva, como el VIH y el virus del herpes humano (HHV), también puede asociarse con los cánceres de la cavidad oral o de otras zonas.(8)(12)

Sin embargo, hasta la fecha no se ha aprobado ningún biomarcador eficaz para el diagnóstico o el pronóstico del COCE. Se ha informado de 22 proteínas como potenciales biomarcadores salivales del COCE. Entre ellas, la resistina se sometió a una validación adicional mediante ELISA. Los datos confirmaron que los niveles salivales de resistina en los pacientes con COCE eran significativamente más altos que en el grupo sano, lo que indica que el análisis del proteoma de la saliva es factible para el descubrimiento de biomarcadores de COCE. Aunque se han publicado numerosos estudios para la búsqueda de biomarcadores, son pocos los biomarcadores proteicos notificados que se han

trasladado a la práctica clínica. Tres biomarcadores candidatos (CFH, FGA y SERPINA1) se han evaluado además como biomarcadores del COCE utilizando una cohorte independiente de muestras de saliva con ELISA. Finalmente, los autores seleccionaron un panel de marcadores que muestra una alta sensibilidad y especificidad para el diagnóstico del COCE.(14)

El uso de biomarcadores salivales ha ganado una mayor atención como método novedoso y no invasivo para el diagnóstico del cáncer. En la actualidad, múltiples moléculas salivales se han propuesto para utilizarse como biomarcadores en el cáncer para el diagnóstico, el pronóstico, el seguimiento del tratamiento y los estudios farmacogenéticos. Un estudio realizado por Spafford et al., en el cual se analizó a un total de 44 pacientes con COCE (13 de los cuales estaban localizados en la cavidad oral) y a 43 sujetos sanos, siendo estudiados 23 marcadores de microsatélites en esta muestra (D9S753, D20S77, UT5307, D9S242, CSFIR-6, D11S488, ACTBP2, D8S321, UT5320, D9S171, D9S162, D20S82, D20S85, Li7686, FGA, D9SIFNA, D11S654, D3S1560, D3S1286, D3S1289, D17S695, D17S654 y D17S656), se encontró que el 86% (38/44) de los tumores primarios había pérdida de heterocigosidad o inestabilidad de microsatélites de al menos uno de los marcadores, mientras que en el grupo de control sano no se detectaron. Cabe destacar que se encontraron alteraciones idénticas en la saliva de 35 de estos 38 casos (92%).(9)

También han sido analizados nueve marcadores de microsatélites (D5s178, D9S104, IFNA, D11S910, D11S1356, D13S273, TP53, D18S46 y D22S274) en el tejido y el suero de pacientes con COCE en tres momentos diferentes (preoperatorio, postoperatorio y cuatro semanas después de la cirugía) y se ha llegado a la conclusión de que el cfDNA (ADN libre circulante) refleja las características del tumor. Numerosas características de los tumores, como el tamaño global, la estadificación, la vascularidad, el recambio celular, la localización y la respuesta al tratamiento, han demostrado estar asociadas a las concentraciones de ctADN (ADN tumoral circulante).(9)(15) El ctADN liberado activamente en el plasma y la saliva puede ser preferible para la detección temprana del cáncer de cabeza y cuello, mientras que las CTC liberadas de las lesiones metastásicas pueden predecir un mal pronóstico.(16) Aunque todavía hay algunas cuestiones que resolver antes de alcanzar un uso generalizado a nivel clínico.(9)

Un enfoque adicional para los análisis de biopsia líquida implica el estudio de los exosomas. Los exosomas derivados del líquido oral han sido caracterizados

morfológicamente en el cáncer oral. Se ha analizado la expresión de tres marcadores exosomales como los implicados principalmente en el cáncer oral (CD9, CD81 y CD63).(9)

Acuñamos por primera vez el término salivaexosómica para describir la salivaómica de próxima generación que estudia los exosomas salivales a través de las tecnologías "ómicas" avanzadas para delinear mejor sus funciones específicas y biomarcadores para el cáncer (Nonaka y Wong 2017).(16)

Los resultados de los experimentos realizados demuestran que los exosomas de origen tumoral pueden detectarse no sólo en la sangre, sino también en la saliva, lanzando así una nueva vía para la detección no invasiva de proteínas específicas de los tumores, micro ARN, ARNm, así como de mutaciones genéticas en la saliva.(13)

La cuestión clave en relación con todos los tipos de biomarcadores circulantes (ctDNA, CTCs y miRNAs exosomales) es hasta qué punto son representativos de la totalidad del tumor. Se considera que las CTC contienen la información celular completa; sin embargo, si un tumor es heterogéneo, pueden representar sólo una pequeña proporción del tumor, lo que compromete su relevancia clínica.(16)

Para la detección temprana del cáncer bucal existen pruebas que evalúan la presencia de la enfermedad en individuos asintomáticos, así como pruebas para la detección de casos, en las que se aplica un procedimiento específico en pacientes con una lesión identificada.(4)

En la actualidad, la ddPCR y la secuenciación de nueva generación desempeñan un papel fundamental en el análisis del ctADN y el miARN. Sin embargo, su elevado coste y la complicada manipulación de los datos impiden su aplicación en la atención clínica rutinaria. Recientemente ha sido desarrollada una novedosa plataforma de diagnóstico, EFIRM (liberación y medición inducida por campo eléctrico), que puede detectar directamente el ctADN y el ARN exosomal, requiriendo solo 40 µl de fluido corporal (Wei et al. 2014; Tu et al. 2015; Pu et al. 2016). Un mayor desarrollo y aplicación de las tecnologías de punto de atención basadas en la saliva permitirá una mejor gestión clínica inmediata, lo que conducirá a una intervención más temprana y a una reducción de la morbilidad y la mortalidad.(16)

La biopsia líquida para el cáncer oral está en sus inicios, por lo que los esfuerzos de investigación deben dirigirse a realizar grandes estudios prospectivos multicéntricos que investiguen el papel de las CTC, el ctDNA y los exosomas en el cáncer oral.(9)

Con el desarrollo de la salivaómica, se está identificando en la saliva un número cada vez mayor de biomarcadores relacionados con enfermedades orales y sistémicas. Las proteasas son moléculas importantes que escinden las proteínas en péptidos más pequeños en las regiones N-terminal o C-terminal, y están implicadas en muchos procesos fisiológicos y patológicos. En la actualidad, se han identificado alrededor de 500-600 proteasas diferentes en los seres humanos. La activación anormal de las proteasas puede generar cambios patológicos en las células, los tejidos y los órganos. Investigaciones anteriores han demostrado que muchas proteasas están asociadas con la metástasis y la translocación de los cánceres humanos. Es por ello, por lo que los inhibidores de estas proteasas pueden aliviar la invasión y la metástasis de las células cancerosas.

A diferencia de otros cánceres profundamente invasivos, el cáncer oral se localiza en la cavidad oral en contacto directo con la saliva; por lo tanto, es probable que el muestreo de la saliva sea la forma más eficaz de identificar varios biomarcadores sensibles y específicos de esta enfermedad en los pacientes. Así, el análisis del espectro de proteasas salivales puede ser un enfoque útil para detectar y diagnosticar el cáncer oral durante la evaluación del estado de salud de la cavidad oral.(17)

Las células apoptóticas salivales podrían ser potencialmente útiles como biomarcador para distinguir entre tejidos blandos orales cancerosos, precancerosos y normales. Se necesitan más estudios para descubrir el mecanismo molecular subyacente entre el epitelio oral, la saliva y la apoptosis.(18)

Está clara la relación que existe entre la microbiota oral y las alteraciones que se pueden producir. Una demostrada correlación entre las bacterias patógenas y la enfermedad oral es la infección por *Porphyromonas gingivalis* y la periodontitis. No hay que descuidar la relación entre los factores inductores del cáncer oral y la ecología bacteriana. La asociación de las bacterias con la progresión de los COCE puede explicarse por el daño del ADN inducido por la inflamación en las células epiteliales y causado por las endotoxinas segregadas por los microorganismos. Se han identificado algunas especies específicas que se correlacionan fuertemente con el COCE, como *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* y *Prevotella intermedia*. Los

investigadores también han descubierto que taxones bacterianos específicos, como *Veillonella*, *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Actinomyces*, *Clostridium*, *Haemophilus*, *Enterobacteriaceae* y *Streptococcus*, están relacionados con el cáncer oral y las lesiones epiteliales precursoras. Así, la microbiota salival podría ser un indicador de diagnóstico de los pacientes con COCE en comparación con los controles sin COCE.(19)

En un estudio realizado por Feng Y et al, se analizó el espectro de proteasas de la saliva de los pacientes con cáncer oral y lo compararon con otras enfermedades orales. Sus resultados indicaron que el espectro de proteasas de los pacientes con cáncer oral era notablemente distinto al de los controles sanos, así como al de los pacientes con masas orales benignas y periodontitis crónica leve.

Fueron analizadas 16 muestras de saliva de individuos sanos, así como de pacientes con COCE utilizando un kit de matriz de proteasas. El espectro de proteasas salivales era bastante diferente para las distintas condiciones orales. Estos resultados indicaron que el espectro de proteasas salivales estaba muy relacionado con el estado de salud bucodental, y que la saliva de los pacientes con COCE tenía más proteasas que la de los pacientes con otras enfermedades bucodentales, estableciéndose la combinación de catepsina V/calicreína 5/ADAM9 como un biomarcador óptimo para diagnosticar el COCE.(17)

El objetivo de la investigación de las alteraciones bacterianas en la microbiota se basó en comparar los perfiles microbianos salivales no estimulados de pacientes con lesiones precursoras epiteliales, pacientes con cáncer oral y controles sanos. Los resultados de esta investigación demostraron que las redes de correlación de la microbiota salival variaban notablemente dentro de los tres grupos y que cinco géneros -*Bacillus*, *Enterococcus*, *Parvimonas*, *Peptostreptococcus* y *Slackia*- indicaban diferencias significativas entre los grupos de lesiones precursoras epiteliales y de cáncer. Estas correlaciones pueden sugerir que la comunidad microbiana de la saliva cambia de forma grupal y que debemos estudiar estas alteraciones en grupos, lo que podría dar lugar a la identificación de varias combinaciones de bacterias correlacionadas con el cáncer oral y las lesiones precursoras epiteliales.(19)

En la saliva de los pacientes con COCE se ha observado una gran abundancia de *P. melaninogenica*, *S. mitis* y *Capnocytophaga gingivalis*. Mager et al. informaron de la presencia de *F. periodonticum* en la saliva de pacientes con COCE. *Capnocytophaga*

gingivalis, *P. melaninogenica* y *S. mitis* fueron muy abundantes en la saliva de pacientes con COCE y sirvieron como posibles marcadores de diagnóstico del cáncer oral. La abundancia de *Aggregatibacter*, *Lautropia*, *Haemophilus*, *Neisseria* y *Leptotrichia* fue significativamente mayor en las muestras de control. *Haemophilus*, *Neisseria*, *Gemellaceae* o *Aggregatibacter* fueron más abundantes en la saliva de individuos normales en comparación con los pacientes con carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello. La abundancia de *Lactobacillus vaginalis*, *Lactobacillus gasseri*: *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus salivarius* aumentó en el estadio TNM más alto del carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello. *Fusobacterium nucleatum*, *S. salivarius*: *Streptococcus vestibularis*, *Prevotella oris* y *Rothia mucilaginosa* fueron muy abundantes en las muestras de saliva de los pacientes con carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello. Se informó de una pérdida de abundancia de *P. jejuni*, *P. melaninogenica*, y *Prevotella pallens* en el carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello. La abundancia de *L. gasseri*/*L. johnsonii* y *L. vaginalis* en la saliva de pacientes con carcinoma orofaríngeo es el resultado del transporte de bacterias comensales de la flora vaginal normal a la oral a través del sexo oral.(7)

FROTIS ORAL
<u>Elevado:</u> <i>Fusobacterium naviforme</i> , <i>Peptostreptococcus</i> , <i>Capnocytophaga gingivalis</i> , <i>Streptococcus parasanguinis</i> , <i>Haemophilus</i>
<u>Reducido:</u> <i>Rothia</i>
SALIVA
<u>Elevado:</u> <i>Leptotrichia buccalis</i> , <i>Fusobacterium nucleatum</i> , <i>Rothia</i> , <i>Streptococcus oralis</i> , <i>parasanguinis</i> , <i>salivarius</i> y <i>anginosus</i> , <i>Lactobacillus gasseri</i> , <i>fermentum</i> y <i>rhamnosus</i> , <i>Prevotella melaninogenica</i> , <i>Porphyromonas</i> , <i>Haemophilus</i>
<u>Reducido:</u> <i>Leptotrichia</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>S. mitis</i>
BIOPSIA
<u>Elevado:</u> <i>Fusobacterium periodonticum</i> , <i>Atopobium</i> , <i>Streptococcus oralis</i> , <i>salivarius</i> , <i>Staphyococcus aureus</i> , <i>Lactobacillus gasseri</i> , <i>fermentum</i> y <i>rhamnosus</i> , <i>Prevotella melaninogenica</i> y <i>salivae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Campylobacter concisus</i>
<u>Reducido:</u> <i>Actinobacteria</i> , <i>Actinomyces odontolyticus</i> , <i>Rothia mucilaginosa</i> , <i>Streptococcus mitis</i> , <i>S. mitis</i>
ENJUAGUE BUCAL

<u>Elevado:</u> <i>Firmicutes</i> , <i>Veillonella dispar</i> , <i>Gemella</i> , <i>Filifactor alocis</i> , <i>Oribacterium</i> , <i>Streptococcus anginosus</i> , <i>Dialister pneumosintes</i> , <i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Tannerella forsythia</i> , <i>Aggregatibacter</i> , <i>Haemophilus parainfluenza</i> , <i>Neisseria elongata</i> , <i>Eikenella corrodens</i>
<u>Reducido:</u> <i>Veillonella parvula</i> , <i>Capnocytophaga</i>

Tabla 5. Alteraciones en las bacterias predominantes identificadas en el cáncer oral.(7)

La existencia de bacterias viables en las partes profundas del COCE favorece la hipótesis de que las bacterias sobreviven en el microambiente tumoral.(7)

El papel de *L. gasseri*/*L. johnsonii*, *L. vaginalis* y *F. nucleatum* es esencial para el cribado, el diagnóstico y las estrategias de quimioprevención en el carcinoma orofaríngeo de células escamosas y el COCE. La alteración de las comunidades microbianas comensales orales tiene una aplicación potencial como herramienta de diagnóstico para predecir el COCE, tanto las cepas bacterianas patógenas como las comensales tienen una contribución significativa en el COCE. La alteración de la flora bacteriana oral residente normal en microbios patógenos no residentes en presencia de factores etiológicos conocidos, como el tabaquismo y el consumo de alcohol, contribuye a la carcinogénesis oral. Los médicos deben conocer las propiedades protectoras beneficiosas de la microflora residente para definir estrategias de tratamiento. Evitar el consumo de alcohol y tabaco reduce la exposición a los aldehídos en la mucosa oral. La identificación de la microbiota oral y su papel funcional mediante la secuenciación de próxima generación (NGS) será útil para la aplicación terapéutica en el COCE.(7)

Los factores de virulencia también pueden servir como objetivo terapéutico para la prevención del cáncer oral. Es esencial abordar qué especie bacteriana es responsable de impulsar la carcinogénesis oral. La identificación de fagos en el cáncer oral que infectan a *F. nucleatum*, *S. mutans* y *N. meningitidis*, abriría la posibilidad de desarrollar una terapia de fagos contra estos patógenos orales. Es posible que se necesiten estrategias terapéuticas multiobjetivo para bloquear la formación de biopelículas patógenas e interrumpir las ya establecidas. Estas estrategias también deberían dirigirse al microambiente de pH ácido en la biopelícula alternando el pH.(7) Siendo interesante conocer que *Streptococcus dentisani* o *Streptococcus A12* tienen una acción probiótica a través de la prevención del crecimiento de especies cariogénicas y la alteración del pH ácido mediante actividades arginolíticas. Los compuestos antimicrobianos que intervienen en la degradación de la matriz de la biopelícula, la modificación de la superficie y los recubrimientos antibiopelícula pueden utilizarse en el tratamiento del

COCE. Los sistemas de administración de fármacos basados en la nanotecnología pueden utilizarse para penetrar eficazmente en las biopelículas orales cariogénicas. Para desarrollar enfoques terapéuticos altamente precisos y eficaces, puede ser necesaria la identificación de microbiomas orales específicos.(7)

Se están desarrollando nuevas tecnologías de diagnóstico preciso que pueden facilitar la identificación de biomarcadores sin ningún tipo de preprocesamiento, cribado y pruebas diagnósticas no invasivas, como el Oral Fluid NanoSensor Test (OFNASET) para la detección del cáncer oral, My PerioPath (OralDNA Labs) para el diagnóstico de la enfermedad periodontal, o la prueba OraRisk HPV (OralDNA Labs) para detectar la infección oral por el virus del papiloma humano (VPH) que podría provocar cáncer oral. Existen varias tecnologías disponibles en la actualidad o de reciente aparición basadas en el diagnóstico salival y en el desarrollo de microfluidos o sistemas micro/nanoelectromecánicos (MEMS/NEMS). Estas tecnologías permiten medir las proteínas, el ADN, los transcritos (ARNm), los electrolitos y las moléculas pequeñas en la saliva. Las herramientas desarrolladas en la actualidad incluyen la detección electroquímica, la qRT-PCR en el chip, las matrices basadas en microesferas de fibra óptica, las micromatrices de ADN de alto rendimiento, los sensores de fibra óptica basados en la resonancia de plasmón de superficie, y el inmunoensayo electroforético basado en el microchip.(13)

Estudios han analizado la expresión y los niveles de la proteína translocadora (TSPO) mitocondrial de 18kDa en tumores del cáncer bucal (en lengua) utilizando inmunohistoquímica, así mismo se ha examinado la afinidad de la TSPO en células tumorales del cáncer bucal y en la fracción celular de la saliva. Los ensayos han mostrado que la expresión de la TSPO podría estar aumentada en los tumores del cáncer bucal, incluso se ha observado en algunos estudios, una relación estadísticamente significativa con la tasa de supervivencia a los 5 años, sobre todo en sujetos con valores negativos de TSPO a nivel tumoral. Así mismo, ha sido demostrada una disminución de la TSPO con sitios de unión de alta afinidad, al tener exposición al humo de cigarrillo, lo cual podría ayudar a entender un poco más los mecanismos de la carcinogénesis bucal, en los cuales el humo de cigarrillo ha sido ampliamente reconocido como el principal inductor del cáncer bucal.

El análisis de la TSPO en los sujetos con cáncer bucal ha demostrado que la alteración de la TSPO puede contribuir a la carcinogénesis bucal, manifestando su

relación directa con la mortalidad y el pronóstico de los sujetos que la padecen, pero a su vez se debe reconocer la falta de estudios que establezcan una relación causal entre los factores implicados, identificándose una necesidad potencial para evaluar en estudios experimentales este tipo de biomarcadores que permitan afianzar la evidencia disponible y tener suficiente soporte teórico para su uso en la clínica.(4)

7. CONCLUSIONES

1. A través del análisis de la saliva se podrían detectar procesos tumorales y otras patologías locales y sistémicas, mediante procesos mínimamente invasivos de extracción de muestras y su análisis.
2. Las mutaciones somáticas pueden utilizarse como biomarcadores para diagnosticar tumores. En la saliva, el ADN específico del tumor fue positivo en el 100% de los pacientes con tumores orales y en el 47%-70% de los pacientes con tumores en otras partes del cuerpo.
3. La alteración o cambio en las concentraciones de la TSPO de 18kDa en muestras de sujetos con cáncer bucal podría representar un importante biomarcador para el cáncer bucal.
4. La denominada biopsia líquida, permite detectar células tumorales circulantes (CTC) y fragmentos de ADN tumoral en la saliva, lo que permitiría el diagnóstico precoz de varios tipos de cáncer.
5. *Porphyromonas gingivalis* y *F.nucleatum* podrían ser de utilidad como biomarcadores del cáncer oral.
6. Aunque algunas especies se correlacionan con el cáncer oral, la complejidad de las condiciones que provocan el cáncer asociados con el microbioma sigue sin explicarse por un único patógeno.
7. El término "salivaómica" pretende destacar el rápido desarrollo de conocimientos sobre diversos componentes "ómicos" de la saliva, entre ellos: proteoma, transcriptoma, micro-ARN, metaboloma y microbioma.
8. Hay una necesidad urgente de descifrar los fundamentos científicos y los mecanismos que transmiten las enfermedades sistémicas a la saliva.
9. Son necesarios más estudios para que en un futuro próximo se disponga de sistemas de diagnóstico clínico sencillos, rápidos, portátiles y rentables.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Barceló R, López Vivanco GM, Viteri A, Muñoz A. Incidencia y mortalidad del cáncer. *Historia natural. Gaceta Médica Bilbao.* 2003;100(4):139-43. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6492935&orden=0&info=link>
2. Ganesh D, Sreenivasan P, Ohman J, Wallström M, Braz-Silva PH, Giglio D, et al. Potentially malignant oral disorders and cancer transformation. *Anticancer Res.* 2018;38(6):3223-3229.
3. Bagán Sebastián JV. *Medicina y patología bucal.* Valencia: Medicina Oral, imp. 2013; 2013. 333-34,340-43,653,741
4. Tamayo Cabeza G, Madera Anaya M, González Martínez F. El cáncer bucal y su relación con la proteína translocadora mitocondrial de 18kda. *CES Odontol.* 2017;30(1):17-29. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/6139419.pdf>
5. Mateo-Sidrón Antón MC, Somacarrera Pérez ML. Cáncer oral: Genética, prevención, diagnóstico y tratamiento. Revisión de la literatura. *Av Odontoestomatol.* 2015;31(4):247-59. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5186357&orden=0&info=link>
6. Rodríguez Lozano FJ. «No debemos olvidarnos nunca de la Medicina Oral pues gracias a ella podemos salvar la vida de nuestros pacientes». *Gac Dent Ind y Prof.* 2015;(272):102-6. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/extart?codigo=5422057>
7. Chattopadhyay I, Verma M, Panda M. Role of Oral Microbiome Signatures in Diagnosis and Prognosis of Oral Cancer. *Technol Cancer Res Treat.* 2019 Jan 1;18:1533033819867354.
8. Zhang CZ, Cheng XQ, Li JY, Zhang P, Yi P, Xu X, et al. Saliva in the diagnosis of diseases. *Int J Oral Sci.* 2016; 8(3): 133–137.
9. Lousada-Fernandez F, Rapado-Gonzalez O, Lopez-Cedrun JL, Lopez-Lopez R, Muínelo-Romay L, Suarez-Cunqueiro MM. Liquid biopsy in oral cancer. *Int J Mol Sci.* 2018; 19(6): 1704 .
10. Un sencillo test de saliva detecta el cáncer de cabeza y cuello: Investigación desarrollada por la Universidad Johns Hopkins (EE.UU.). *Gac Dent Ind y Prof.* 2015;(272):109. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/extart?codigo=5422059>
11. 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; 6: 31520.

12. Ghizoni JS, Nichele · R, De Oliveira · M T, Pamato · S, Pereira · J R. The utilization of saliva as an early diagnostic tool for oral cancer: microRNA as a biomarker. *Clin Transl Oncol*. 2019;22:804-12. <https://doi.org/10.1007/s12094-019-02210-y>
13. 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): 459–472.
14. Chu HW, Chang KP, Hsu CW, Chang IYF, Liu HP, Chen YT, et al. Identification of salivary biomarkers for oral cancer detection with untargeted and targeted quantitative proteomics approaches. *Mol Cell Proteomics*. 2019;18(9):1796-806.
15. Swiecicki PL, Brennan JR, Mierzwa M, Spector ME, Brenner JC. Head and Neck Squamous Cell Carcinoma Detection and Surveillance: Advances of Liquid Biomarkers. *Laryngoscope*. 2019;129(8):1836-1843.
16. Nonaka T, Wong DTW. Liquid Biopsy in Head and Neck Cancer: Promises and Challenges. *J Dent Res*. 2018;97(6):701-708.
17. 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*. 11, 7 (2019).
18. Kaur J, Politis C, Jacobs R. Salivary apoptotic cells in oral (pre-) cancer as a potential diagnostic means. *J Clin Exp Dent*. 2015;7(3):400-4. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4317/jced.52212>
19. Lee WH, Chen HM, Yang SF, Liang C, Peng CY, Lin FM, et al. Bacterial alterations in salivary microbiota and their association in oral cancer. *Sci Rep*. 2017;28;7(1):16540.
20. Markopoulos AK, Michailidou EZ, Tzimagiorgis G. Salivary Markers for Oral Cancer Detection. *Open Dent J*. 2010; 4: 172–178. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21673842/>