

**Grado en ODONTOLOGÍA**

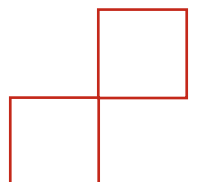
**Trabajo Fin de Grado**

**Curso 2021-22**

**ESTRÈS OXIDATIVO COMO POSIBLE  
MARCADOR DEL CÁNCER ORAL.  
REVISIÓN SISTEMÁTICA.**

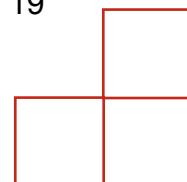
**Presentado por: Claudia Paulette Alizé HOLTZ.**

**Tutor: Profesor Antonio Pellin Carcelen.**

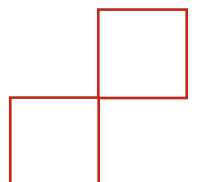


# INDÍCE

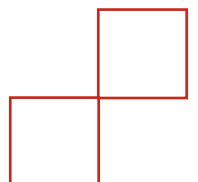
<b>LISTADO DE SIMBOLOS Y SIGLAS.....</b>	<b>5</b>
<b>PALABRAS CLAVES.....</b>	<b>7</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>7</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>8</b>
<b>1. INTRODUCCION.....</b>	<b>9</b>
1.1. Historia del estrés oxidativo.....	9
1.2. Origen del estudio del estrés oxidativo.....	11
1.3. Definición del estrés oxidativo.....	12
1.4. Paradoja entre estrés oxidativo beneficioso y nocivo.....	13
1.5. Metodología para medir el estrés oxidativo.....	14
1.5.1. Métodos directos.....	14
1.5.2. Métodos indirectos.....	14
1.5.2.1. Determinación de productos terminales de la acción oxidante...	14
1.5.2.2. Medición de la concentración de antioxidantes.....	15
1.5.2.3. Medición del estado antioxidante total.....	15
1.6. Mecanismo de acción de las especies reactivas del oxígeno en cáncer....	15
1.7. Marcadores del estrés oxidativo.....	19



<b>1.8. Defensas antioxidante.....</b>	<b>20</b>
<b>1.8.1. Sistema de defensa no enzimática.....</b>	<b>21</b>
<b>1.8.2. Sistema de defensa enzimática.....</b>	<b>22</b>
<b>1.8.3. Oligoelementos.....</b>	<b>23</b>
<b>1.9. Antioxidantes como factores beneficiosos del cáncer.....</b>	<b>23</b>
<b>1.10. estrés oxidativo y enfermedades orales.....</b>	<b>24</b>
<b>1.11. justificación, hipótesis y objetivos.....</b>	<b>26</b>
<b>2. MATERIAL Y METODO .....</b>	<b>27</b>
<b>2.1. Protocolo.....</b>	<b>27</b>
<b>2.2. Criterios de elegibilidad.....</b>	<b>27</b>
<b>2.3. Fuentes de información.....</b>	<b>28</b>
<b>2.4. Estrategia de búsqueda/Proceso de selección de los estudios.....</b>	<b>29</b>
<b>2.5. Proceso de extracción de los datos.....</b>	<b>31</b>
<b>2.6. Evaluación del riesgo de sesgo de los estudios individuales.....</b>	<b>31</b>
<b>2.7. Evaluación de la certeza de la evidencia.....</b>	<b>32</b>
<b>3. RESULTADO. ....</b>	<b>33</b>



<b>3.1. Selección de los estudios.....</b>	<b>33</b>
<b>3.2. Características del estudio.....</b>	<b>34</b>
<b>3.3. Riesgo de sesgo en los estudios.....</b>	<b>38</b>
<b>3.4. Resultados de estudios individuales.....</b>	<b>39</b>
<b>3.4.1</b> Marcadores del estrés oxidativo prometedores para el diagnóstico del cáncer oral.....	<b>39</b>
<b>3.4.2</b> Marcadores del estrés oxidativo prometedores para el diagnóstico de los trastornos orales potencialmente malignas.....	<b>42</b>
<b>3.4.3</b> Resumen de los marcadores del estrés oxidativo prometedores en el diagnóstico de los trastornos orales potencialmente malignos y el cáncer oral.....	<b>44</b>
<b>4.DISCUSIÓN. ....</b>	<b>49</b>
4.1 Marcadores del estrés oxidativo con resultados más prometedores para el diagnóstico del cáncer oral.....	<b>50</b>
4.2 Marcadores del estrés oxidativo con resultados más prometedores para el diagnóstico de los trastornos orales potencialmente malignos....	<b>54</b>
<b>5. CONCLUSIONES.....</b>	<b>56</b>
<b>6. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>57</b>
<b>7. ANEXOS.....</b>	<b>62</b>



## LISTADO DE SIMBOLOS Y SIGLAS

### A :

ATP = Adenosín-5-trifosfato o trifosfato de adenosina.

### C :

COCE = Carcinoma oral de las células escamosas.

Cu = Cobre.

### E :

ERO = Especies reactivas de oxígeno.

### G:

GPx = Glutación peroxidasas.

GSH = Glutación reducida.

GSSG = Glutación en forma oxidada.

### H:

$H_2O_2$  = Peróxido de hidrógeno.

$H_2O$  = Agua.

HO-1 = Hemo Oxigenasa 1.

### L:

LPO = Liquen plano oral.

### M:

MDA = *Malondialdehído*.

### O:

$O_2$  = Oxygeno.

$O_2\bullet$  = Radical superoxido.

$\bullet OH$  = Radical hidroxilo.

OH8dg = 8-hidroxi-20-desoxiguanosina.

OMS = Organización Mundial de la Salud.

ONOO = Nitrotirosina.

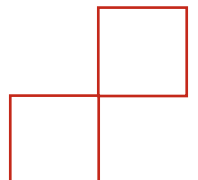
OPV = Pénfigo vulgar oral.

### P:

PMN = Neutrófilo polimorfonuclear.

### R:

RAS = Estomatitis aftosa recurrente.



ROS = Especies reactivas del oxígeno.

$RO_2\bullet$  = Radicales peróxido.

$RO_2H$  = Hidroperóxidos.

RO $\bullet$  = Radicales alcoxilo.

**S:**

SOD = Superóxido dismutasa.

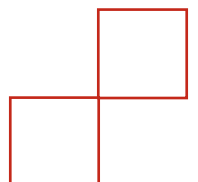
**T:**

TOPM = Trastornos orales potencialmente malignos.

TrxR = Tiorredoxina reductasa.

**Z:**

Zn = Zinc.



## **PALABRAS CLAVES**

Radicales libres, estrés oxidativo, cáncer oral, trastornos orales potencialmente malignos, biomarcadores, diagnóstico.

## **RESUMEN**

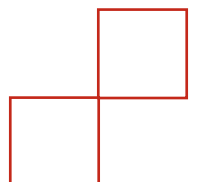
*INTRODUCCIÓN:* En los últimos años, existe una curiosidad cada vez mayor para estudiar nuevas áreas de búsqueda para mejorar el pronóstico del cáncer. Un nuevo concepto ha invadido el mundo de las ciencias biológicas y médicas: el estudio del estrés oxidativo. Gracias a los avances científicos, los biomarcadores del estrés oxidativo se pueden estudiar. Estos biomarcadores, además de su fácil medición en los fluidos humanos tienen varias ventajas. Una de las ventajas más importantes en nuestro campo de estudio es que la identificación de biomarcadores apropiados puede conducir al diagnóstico temprano del cáncer oral. El objetivo principal de la investigación es de conocer los biomarcadores del estrés oxidativo prometedores para el diagnóstico del cáncer oral y trastornos orales potencialmente malignos (TOPM).

*MATERIAL Y METODO:* Esta revisión sistemática se realiza siguiendo los 27 ítems de las revisiones sistemáticas y meta-análisis de la declaración PRISMA. La búsqueda bibliográfica se realiza principalmente a través de 3 bases de datos: PubMed, Lilacs y Scopus desde noviembre 2021 hasta febrero 2022.

*RESULTADOS:* Se incluyen doce estudios publicados en inglés dentro del estudio. Gracias a la checklist de la Joanna Briggs Institute de casos y controles, se realiza el estudio de sesgo de los doce artículos. En diferentes tablas se comparan los niveles de biomarcadores en pacientes sanos, pacientes con cáncer oral y trastornos orales potencialmente malignos.

*DISCUSIÓN:* Aunque falta muchos estudios sobre los biomarcadores, se ve que dentro de los estudiados hay algunos que sobresalen y muestran resultados prometedores en el diagnóstico, la detección temprana y el pronóstico del cáncer oral.

*CONCLUSIÓN:* Se puede concluir que la investigación de los marcadores GSH, MDA, ceruloplasmina, 8-OHdG salival, urinario y plasmático, GSSG, GSH/GSSG, PON1, OD, AOPP, ácido nítrico, tGSH, albúmina, vitamina C, ARE, TAC son marcadores con resultados prometedores al día de diagnosticar el cáncer oral. Los biomarcadores GSH, ceruloplasmina, GR, AOPP, GSH/GSSG, albúmina, óxido nítrico, vitamina C son marcadores con resultados prometedores en el diagnóstico de los trastornos orales potencialmente malignos.



**KEY WORDS**

free radicals, oxidative stress, oral cancer, precancerous lesions, biomarkers, diagnosis

**ABSTRACT**

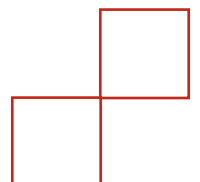
*Background:* In recent years, the interest in studying new areas of research to improve cancer prognosis has increased. A new concept had been introduced to the world of biological and medical sciences. It is the study of the role of free radicals and oxidative stress. In fact, free radicals play a fundamental role in various physiological conditions, as well as in their involvement in a broad range of diseases. Through the work of advanced scientists, biomarkers of oxidative stress can be studied. These biomarkers, besides being easy to measure in human fluids, have a number of benefits. One of the most significant advantages in our field of study is that the identification of appropriate biomarkers can lead to early diagnosis of oral cancer. The main aim of the research is to identify/understand the biomarkers of oxidative stress involved in oral cancer carcinogenesis.

*Method:* This systematic review is conducted in accordance with the 27 items of the systematic reviews and meta-analyses of the PRISMA statement. The bibliographic research is carried out mainly through 3 databases, PubMed, Lilacs and Scopus from 2021 to February 2022.

*Results:* Twelve studies published in English are included in the study. Through the Joanne Briggs Institute of cases and controls, the bias study of the twelve articles was completed. Different charts compare biomarkers levels in healthy patients, patients with oral cancer and precancerous lesions.

*Discusión:* Although many studies on biomarkers are lacking, it is seen that among those studied there are some that stand out and show promising results in the diagnosis, early detection and prognosis of oral cancer.

*Conclusion:* The markers GSH, MDA, Ceruloplasmin, salivary, urinary and plasma 8-OHdG, GSSG, GSH/GSSG and PON1 have a strong influence on the reflection of the oral cancer development. GSH, Ceruloplasmin, GR, AOPP, GSH/GSSG, Albumin, Nitric Oxide, Vitamin C are significant diagnostic markers in patient diagnosed with precancerous lesions.





## **1. INTRODUCCIÓN.**

El carcinoma oral representa la sexta causa de muerte por cáncer. A pesar de los avances de las últimas décadas, la tasa de supervivencia a 5 años no ha cambiado significativamente y se mantiene próxima al 50% debido al diagnóstico tardío en un alto porcentaje de casos (1). Como sabemos el diagnóstico precoz de un cáncer es primordial para un buen pronóstico y necesita diferentes tipos de exámenes : clínicos, biológicos, radiológicos... Dentro de los exámenes biológicos, por vía de análisis de sangre o de orina buscamos parámetros del estado de salud generales y marcadores tumorales.

En los últimos años, existe una curiosidad cada vez mayor para estudiar nuevas áreas de búsqueda para mejorar el pronóstico del cáncer. Un nuevo concepto ha invadido el mundo de las ciencias biológicas y médicas: el estudio del papel de los radicales libres y del estrés oxidativo. En efecto los radicales libres tienen un papel fundamental en diversas condiciones fisiológicas, así como su participación en una amplia gama de enfermedades como diabetes mellitus, trastornos neurodegenerativos, enfermedades cardiovasculares, enfermedades respiratorias y lo que más nos interesa el desarrollo de varios cánceres.

Actualmente, gracias a los avances científicos, los biomarcadores del estrés oxidativo se pueden estudiar y evaluar en diversos fluidos biológicos, como la sangre, la saliva o la orina. Lo que nos ayuda para comprender y diagnosticar diversas enfermedades orales y su asociación con el estrés oxidativo. El estudio del mecanismo de acción de los radicales libres se está convirtiendo en una meta fundamental y debe tender a la búsqueda de biomarcadores que permitan terapéuticas personalizadas, con el fin de incrementar la tasa de supervivencia (1;2;3).

### **1.1. Historia del estrés oxidativo.**

Por primera vez en 1900, Moses Gomberg, profesor de Química en la Universidad de Michigan, logró demostrar la existencia de un radical libre

orgánico: el radical trifenilmetilo. Se denominan radicales libres para diferenciarlos de los grupos de moléculas fijas en las moléculas orgánicas.

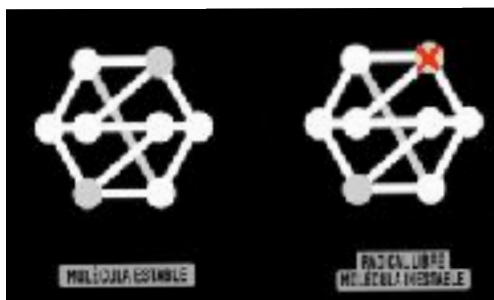
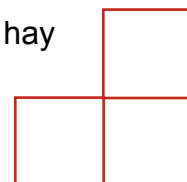


Imagen 1 : Diferencia entre molécula estable y radical libre.

Más tarde, en 1954, Gershman (4) propuso la "*teoría de los radicales libres de la toxicidad del oxígeno*", según la cual, la toxicidad del oxígeno se debe a su capacidad para formar radicales libres. La "teoría de Gershman" es un modelo que se caracteriza por reunir y sintetizar numerosas ideas. Son ideas dispersas sobre temas que, en principio, no parecían estar relacionados, pero que con la teoría de Gerschman alcanzaron una armonía (2;4;5).

Poco después, Denham Harman (2), en 1956, propuso la "teoría del envejecimiento de los radicales libres", que establece que los radicales libres juegan un papel central en el proceso de envejecimiento (2). Una segunda área de investigación de radicales libres comenzó en 1969 por Mccord y Fridovich (5). Descubrieron la superóxido dismutasa (SOD), el primer sistema de defensa enzimático contra el anión superóxido. En efecto la superóxido dismutasa es una enzima intracelular antioxidante cuya función biológica es proteger a las células de las agresiones producidas por los radicales libres generados en los procesos de respiración celular. Se trata, por lo tanto, de un antioxidante que se genera naturalmente en los tejidos de los mamíferos (5).

Después en 1971, Loschen (2) indicó que las especies reactivas de oxígeno se generan en la respiración metabólica celular. En 1985, H. Sies (2) propuso la definición del «estrés oxidativo» como un desequilibrio, donde hay



un aumento de oxidantes o una disminución de antioxidantes, en comparación con la situación definida como “normal” (2).

Hoy en día, el estrés oxidativo se ha convertido en un concepto esencial en la biología médica y no solamente en un campo específico de la física, química o biología.

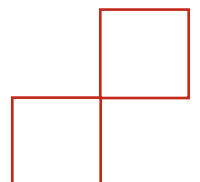
### **1.2. Origen del estudio del estrés oxidativo.**

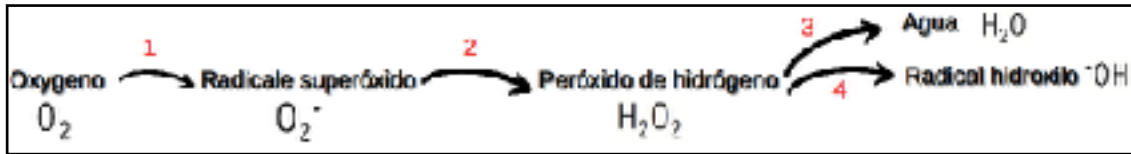
Con la excepción de ciertos organismos anaeróbicos, el oxígeno es esencial para la producción de energía. Esta producción de energía en forma de ATP denominada fosforilación oxidativa tiene lugar en la membrana interna de las mitocondrias. Durante el metabolismo normal, la reducción de oxígeno a agua tiene varios pasos que dan lugar a intermedios reducidos, llamados radicales primarios o especies reactivas de oxígeno (ROS). Estos radicales primarios tienen la propiedad de ser más reactivos que el oxígeno.

Así, alrededor del 2% del oxígeno consumido a nivel mitocondrial se transforma en radical superóxido  $O_2\cdot$  durante la primera etapa de reducción del oxígeno. Estos radicales tienen una baja reactividad lo que permite su utilización por el organismo como mediadores reguladores de funciones biológicas.

Después la degradación de estos radicales está controlada por la enzimas superóxido dismutasas (SOD), que dará lugar al peróxido de hidrógeno,  $H_2O_2$  (3).

El peróxido de hidrógeno no es en sí mismo un radical sino una molécula que sería capaz de dar lugar, al radical hidroxilo  $\cdot OH$  ; este radical es el oxidante más poderoso de las ROS. Tiene una alta constante de velocidad. Sin embargo estas reacciones están limitadas, por lo que el radical hidroxilo ( $\cdot OH$ ) es una especie que reacciona en su lugar de producción, que no tiene objetivos privilegiados y que tiene una vida media muy corta (3;6).





Esquema 1 : Origen de las especies reactivas de oxígeno (3).

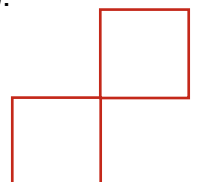
La degradación de estos radicales está controlada por sistemas de defensa, los antioxidantes, que se adaptan a los niveles de radicales presentes en la célula.

Sin embargo, también existen otras ROS, denominadas secundarias, como los radicales peroxilo  $RO_2^{\bullet}$ , los hidroperóxidos  $RO_2H$  y los radicales alcoxilo  $RO^{\bullet}$ .

A parte de la producción de ROS en el complejo enzimático mitocondrial de la cadena respiratoria, la mayoría de las células son capaces de producir radicales superóxido  $O_2^{\bullet}$  (3;6).

### **1.3. Definición del estrés oxidativo.**

En efecto, los radicales libres están presentes en las células en dosis fisiológicas. Su concentración está regulada por su tasa de producción y su tasa de eliminación gracias a los sistemas antioxidantes, que mantienen el equilibrio. Sin embargo, la homeostasis puede romperse, ya sea por una producción excesiva de radicales libres o por una reducción de las capacidades antioxidantes. Esto se llama el estrés oxidativo. Este desequilibrio puede ser regulado por la respuesta antioxidante de la célula entonces solo será un desequilibrio transitorio. En desquite, en determinadas situaciones patológicas, la producción de radicales libres es mayor y prolongada, y la respuesta antioxidante es insuficiente. Entonces el desequilibrio persiste en el tiempo (3). Esta ruptura de la homeostasis puede tener diferentes orígenes como el estilo de vida, los factores ambientales y el mecanismo bioquímico (Figura 1) (2;7).



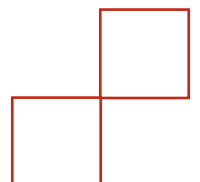
FACTORES EXOGENOS		FACTORES ENDOGENOS
<i>Estilo de vida</i>	<i>Factores ambientales</i>	<i>Mecanismo bioquímicos</i>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Tabaco</li> <li>- Alcohol</li> <li>- Fármacos : halotano, paracetamol, metronidazol, etanol.</li> <li>- Baja ingesta de frutos y verduras</li> <li>- UV</li> <li>- Deportes intensivo</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Polución de agua / aire</li> <li>- Ozono</li> <li>- Amianto</li> <li>- Radiaciones</li> <li>- Contacto con sustancias cancerígenas</li> <li>- Metales : Co, Cu, Cr, Fe, Cd, Hg, Pb, As.</li> <li>- Pesticidas</li> <li>- Temperaturas altas</li> <li>- tetraclorometano.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Inflamación</li> <li>- Alteraciones de la función endotelial</li> <li>- Sobrecarga en hierro</li> <li>- Oxidación de la hemoglobina</li> </ul>

Figura 1 : Fuente del estrés oxidativo : exógeno y endógeno (2;7).

#### **1.4. Paradoja entre ERO beneficios y nocivos.**

La paradoja de los radicales libres en biología es que son especies extremadamente peligrosas, capaces de causar un número considerable de enfermedades, siendo especies esenciales para la vida. En efecto, un gran número de funciones fisiológicas están bajo el control de las ROS por sus efectos de regulación en las vías de señalización. Entre las funciones podemos citar: la regulación del tono vascular, la relajación del músculo liso, la adhesión plaquetaria, la defensa inmune contra patógenos, la destrucción de células tumorales, la diferenciación celular, la defensa antimicrobiana, el buen funcionamiento de determinadas neuronas, la fecundación del óvulo, la regulación de los genes y mucho más...

Por lo tanto, al necesitar una cierta cantidad de especies reactivas de oxígeno para su buen funcionamiento, el cuerpo no busca destruirlas sino controlar su nivel para evitar el estrés oxidativo (3;6).



### **1.5. Metodología para medir el estrés oxidativo.**

La detección de las especies reactivas del oxígeno suele ser problemática, porque tienen una vida media corta de solamente algunos segundos. No obstante, se pueden evaluar estos biomarcadores en la saliva, la sangre o la orina de manera directa o indirecta (8).

#### **1.5.1. Métodos directos.**

Una de las técnicas para la detección directa de ROS es la resonancia de espín electrónico, pero su aplicación en el ser humano no es factible aún, además de ser muy caros los equipos necesarios y muy raros (8,9).

Una otra técnica ha sido desarrollado, tiene la capacidad de catalizar reacciones de tipo REDOX, que resultan en la formación de una solución coloreada que puede ser medida espectrofotométricamente (9).

#### **1.5.2. Métodos indirectos.**

##### **1.5.2.1 Determinación de productos terminales de la acción oxidante.**

Se han desarrollado métodos para medir algunas de ROS, pero indirectamente, gracias a los productos terminales de su acción oxidante sobre las proteínas, el ADN y los lípidos.

En efecto la acción de las ROS sobre las proteínas inducen una acumulación de grupos carbonilos, que pueden ser evaluados. Según su definición un grupo carbonilo es un grupo funcional que consiste en un átomo de carbono con un doble enlace ligado a un átomo de oxígeno (10). Sin embargo, este método es muy laborioso, largo y utiliza gran cantidad de solventes. Por esa razón se ha desarrollado un nuevo método ELISA para medir este compuesto (8).

Segundo, para estudiar los productos terminales de la acción oxidante del ADN, se pudo analizar los metabolitos producidos durante el ataque del ADN, pero sólo algunos han podido ser utilizados como marcadores de dicho

ataque como el OH8dg (8-hidroxi-20-desoxiguanosina). Veremos a continuación su importante papel en la patogénesis del carcinoma oral de células escamosas (COCE).

Por fin la acción oxidante sobre los lípidos es un proceso complejo, existen varias formas de medirla.

#### **1.5.2.2 Medición de la concentración de antioxidantes.**

Los resultados de diferentes estudios muestran que los niveles de antioxidantes pueden disminuir o aumentar por diferentes enfermedades. Monitorizando estos niveles, pueden ser utilizados como marcadores de enfermedades y para el seguimiento terapéutico.

Se han desarrollado productos diagnósticos que tienen la capacidad de medir los antioxidantes de tipo enzimático y no enzimático (9).

#### **1.5.2.3 Medición del estado antioxidante total.**

El estado antioxidante total refleja el balance dinámico entre el sistema antioxidante y las ROS.

La medición del estado antioxidante total es beneficiosa en muchas enfermedades porque las técnicas son más fáciles y tienen bajo coste de evaluación. Podría ser útil para la identificación de pacientes con cáncer oral con alto riesgo de recurrencia y/o pacientes con precáncer oral con alto riesgo de cáncer oral (8;9).

### **1.6. Mecanismo de acción de las especies reactivas del oxígeno en cáncer.**

Antes que nada, el cáncer oral es un término amplio bajo el cual se clasifican muchas formas. Puede tener su origen en cualquier tipo de tejido. Las neoplasias de origen epitelial se denominan carcinoma y las derivadas del tejido conjuntivo son llamadas sarcomas. El tipo más común de cáncer oral es el carcinoma oral de células escamosas (11).

Por otra parte es importante de entender que el COCE es la finalidad de la enfermedad pero antes de que un paciente padece un cáncer, existe otros tipos de lesiones que son llamadas “Trastornos orales potencialmente malignos”.

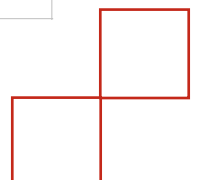
En efecto, en el año 2005, la Organización Mundial de la Salud (O.M.S), propuso una clasificación que diferencia las lesiones precancerosas y condiciones precancerosas, que podemos ver en la tabla 2.

Así una lesión precancerosa es un tejido de morfología alterada mientras que una condición precancerosa es un estado generalizado, o enfermedad, que se asocia con un riesgo significativamente mayor de cáncer.

En 2007, se modifica la clasificación de la OMS, y agrupan las lesiones precancerosas y las condiciones precancerosas en un único término: “trastornos orales potencialmente malignos” (TOPM) (1).

<b>Organización Mundial de la Salud (2005)</b>	<b>Nueva clasificación (2007)</b>
<b>Lesiones precancerosas</b>	<b>Trastornos orales potencialmente malignos</b>
Eritroplasia	Eritroplasia
Leucoplasia	Leucoplasia
<b>Condiciones precancerosas</b>	Liquen plano oral
Liquen plano oral	Lupus eritematoso
Lupus eritematoso	Fibrosis oral submucosa
Queratosis actínica	Desórdenes hereditarios
Déficit de hierro	Disqueratosis congénita
Xeroderma pigmentoso	Epidermolisis bullosa
Fibrosis oral submucosa	Queratosis actínica
Sífilis	Lesiones en paladar por fumar invertido
	Epidermolisis bullosa

Figura 2: Clasificación clínica del precancer oral (1).





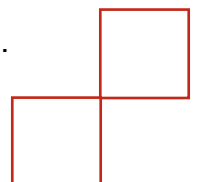
Ahora que conocemos los términos exactos del cáncer oral o de los trastornos orales potencialmente malignos, vamos a entender cuál es el papel de los radicales libres en la patogénesis del cáncer oral.

Como ya sabemos, los radicales libres provocan diferentes tipos de cambios químicos en el ADN, por lo que podrían ser mutagénicos e implicados en la etiología del cáncer. Las células cancerosas, en comparación con las células normales, tienen niveles más altos de ROS y son más susceptibles a la disfunción mitocondrial debido a su mayor tasa metabólica. Así, se han observado niveles elevados de estrés oxidativo y lesiones oxidadas del ADN en varios tumores, lo que implica fuertemente los radicales libres en la etiología del cáncer (2;12).

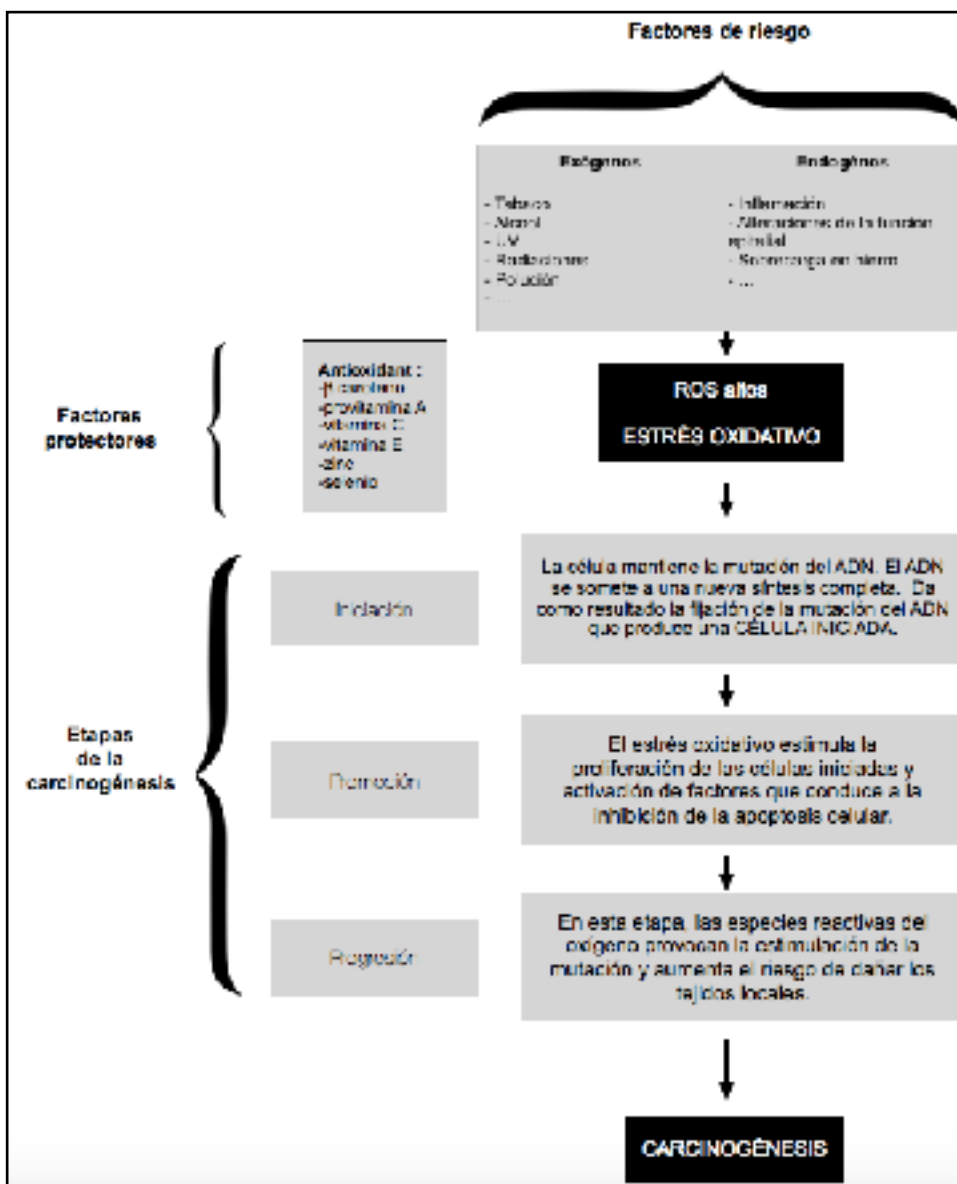
Más específicamente, el desarrollo del cáncer se caracteriza por la acción acumulativa de múltiples eventos que ocurren en una sola célula. Se puede explicar la carcinogénesis en tres etapas: iniciación, promoción y progresión. En cada de estas etapas las ROS están involucradas (13).

**INICIACIÓN:** La iniciación se produce cuando una célula normal sufre una mutación de ADN y la célula mantiene esta modificación. Luego, el ADN se somete al proceso de síntesis y este ADN mutado ahora está fijado. El ADN mutado en la célula inicia ahora el proceso de carcinogénesis (11).

**PROMOCIÓN:** La etapa de promoción se caracteriza por la expansión clonal de las células iniciadas, por la inducción de la proliferación celular y/o la inhibición de la apoptosis. El estrés oxidativo está fuertemente involucrado en esta etapa. Las ROS pueden estimular la expansión de clones de células mutadas y regular la actividad de ciertos factores de transcripción que controlan el crecimiento celular y la oncogénesis. Así, un nivel bajo de estrés oxidativo puede estimular la división celular en la etapa de promoción y, por lo tanto, promueve el crecimiento tumoral. Esto implica que la producción de ROS durante esta etapa es el principal mecanismo de promoción de tumores (13).



**PROGRESIÓN:** En esta etapa, las especies reactivas del oxígeno provocan la estimulación de la mutación y aumenta el riesgo de dañar los tejidos locales. Las bases del ADN sufren modificaciones oxidativas, y esto hace que la célula sea genéticamente inestable y aumenta las posibilidades de metástasis. Las ROS, que se forman a través de varios eventos y vías, reaccionan con los componentes celulares y los dañan, lo que contribuye a la transformación neoplásica. Esto sugiere que las ROS están involucradas en todas estas etapas de la carcinogénesis (11;13).



Esquema 2 : Proceso de carcinogénesis por el mecanismo del estrés oxidativo.

### **1.7. Los marcadores del estrés oxidativo**

❶ Radical hidroxilo: El  $\bullet\text{OH}$  se considera el radical más reactivo en los sistemas biológicos. A diferencia de los radicales superóxido que se consideran relativamente estables y tienen velocidades de reacción relativamente bajas, los  $\bullet\text{OH}$  son especies con vida media corta que poseen una gran afinidad hacia otras moléculas.  $\bullet\text{OH}$  es un poderoso agente oxidante que puede reaccionar a gran velocidad con la mayoría de las moléculas orgánicas e inorgánicas de la célula, como el ADN, las proteínas, los lípidos, los aminoácidos, los azúcares y los metales.

❷ Radical de iones superóxido ( $\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}_2$ ): Este radical posee diferentes propiedades según el ambiente y el pH. El superóxido puede existir de varias formas. En forma de  $\text{O}_2$  o de peróxido de hidrógeno cuando tiene un PH bajo. Este último puede penetrar más fácilmente en las membranas biológicas que la forma cargada.

❸ Peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ): Existe algunas enzimas que pueden producir  $\text{H}_2\text{O}_2$  directamente o indirectamente. Aunque las moléculas de  $\text{H}_2\text{O}_2$  se consideran como metabolitos reactivos del oxígeno, no son radicales por definición. Sin embargo, pueden causar daño a la célula a una concentración relativamente baja.

❹ 8-OHdG: La 8-OHdG es un importante producto de daño oxidativo del ADN que puede producir mutaciones. Un estudio realizado indicó un aumento en los niveles de 8-OHdG en el ADN de las células salivales del carcinoma de células escamosas de pacientes de cabeza y cuello. Además demostró un desequilibrio redox significativo en pacientes con cáncer, lo que sugiere su importancia primordial en el desarrollo del COCE.

❺ Nitrotirosina (ONOO): La presencia de ONOO se ha demostrado en diversas enfermedades humanas como la aterosclerosis, la isquemia miocárdica, la enfermedad inflamatoria intestinal y la esclerosis lateral

amiotrófica, así como en varios cánceres.

⑥COX-2: La COX-2 se induce en el sitio de la inflamación después de la estimulación con agentes proinflamatorios. Los investigadores sugirieron que la sobreexpresión de COX-2 está involucrada en la proliferación celular y la carcinogénesis en diferentes órganos.

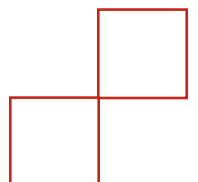
⑦GST-pi: El GST-pi, tiene el papel de catalizar reacciones de desintoxicación intracelulares, incluida la inactivación de carcinógenos.

⑧iNOS: Su función no es totalmente clara en la biología tumoral. Varios datos indican que promueve la progresión tumoral.

⑨Hemo Oxigenasa 1 (HO-1): es una proteína producida por varios estímulos, incluidos el choque térmico, la hiperoxia y el estrés oxidativo. Representa un poderoso mecanismo endógeno de protección contra los radicales libres en una variedad de condiciones patológicas (8).

### **1.8. Defensas antioxidantes.**

Como se mencionó anteriormente para regular los niveles de ROS e impedir los efectos nocivos en el cuerpo, existe un complejo de defensas que se llaman antioxidantes. Se puede definir un antioxidante como compuestos cuyo contenido en los tejidos disminuye durante el estrés oxidativo y que no producen derivados tóxicos. Existen dos fuentes de antioxidantes: una la proporcionan los alimentos en forma de frutas y verduras ricas en vitaminas C y E. Aquellos antioxidante actúan atrapando los radicales y capturando el único electrón, transformándolos en moléculas estables o iones. Mientras que, la otra fuente es endógena y tiene una estrategia de carácter enzimática, encaminada a destruir los superóxidos y peróxidos. A todo esto se suman algunos oligoelementos como el selenio, el cobre y el zinc que son cofactores de enzimas antioxidantes (6;7;8).



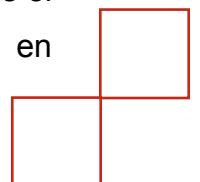
### **1.8.1. Sistema de defensa no enzimática.**

→Glutati6n: El glutati6n est1 presente en forma reducida (GSH) a nivel intracelular. En condiciones fisiol6gicas, su forma oxidada (GSSG) se encuentra en muy baja concentraci6n. El cociente GSH/GSSG se considera un excelente marcador de la peroxidaci6n lip6dica. As1, permite ver el nivel de estr6s oxidativo. Durante el envejecimiento y durante el ejercicio intenso, esta proporci6n tiende a disminuir. La cantidad diaria recomendada es de alrededor de 300 mg.

→Vitamina C: la mayor1a de los mam1feros pueden sintetizar vitamina C en el h1gado o los ri6ones. Sin embargo los hombres no los sintetizan y deben asegurarse una ingesta diaria de alrededor de 100 mg a trav6s de una dieta rica en frutas. La vitamina C, es sobre todo, un excelente atrapador de  $O_2\cdot$ . Sus funciones son m1ltiples: contribuci6n al buen funcionamiento del sistema inmunitario, participaci6n en la s1ntesis de col1geno, mecanismo del metabolismo del hierro...

→Vitamina E: Este t6rmino hace referencia a un conjunto de is6meros. Desde un punto de vista biol6gico, dos is6meros son particularmente interesantes, el  $\alpha$ - y el  $\gamma$ -tocoferol. Tienen un papel protector al reaccionar con los radicales peroxilo. Si el  $\alpha$ -tocoferol es el m1s abundante, parece que el  $\gamma$ -tocoferol es el m1s eficaz. La ingesta diaria de  $\alpha$ -tocoferol es de unos 10 mg. Se encuentra en cantidades variables en aceites (soja, ma1z, oliva) y en nueces y avellanas. El  $\gamma$ -tocoferol est1 presente principalmente en el aceite de s6samo. Tiene como propiedades la eliminaci6n de radicales libres, el mantenimiento de la integridad de la membrana, la inhibici6n del crecimiento/diferenciaci6n de c6lulas cancerosas. Adem1s inhibe la mutagenicidad e inhibe la s1ntesis de ADN, ARN y prote1nas en c6lulas cancerosas (7;8).

→Carotenoides: Existen muchos carotenoides, pero solo una peque1a cantidad de ellos se encuentra en la sangre y los tejidos animales. El l1der es el  $\beta$ -caroteno, tambi6n llamado provitamina A. El  $\beta$ -caroteno se encuentra en



albaricoques, melón, zanahorias...La ingesta diaria recomendada es de 1 a 5 mg. La provitamina A tiene propiedades de captar radicales libres, estimular el número de células T colaboradoras y inhibir la mutagénesis y sobretodo inhibir el crecimiento de células cancerosas

Sin embargo, varios estudios, incluido el estudio YALTA (Young Adult Longitudinal Trends in Antioxidants), han demostrado que el efecto beneficioso del  $\beta$ -caroteno solo se produce a dosis fisiológicas o dietéticas, mientras que es bastante perjudicial a dosis farmacológicas (7;8).

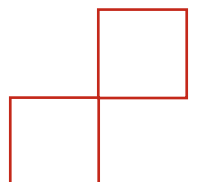
→Coenzima Q10: Juega un papel esencial en la cadena de transporte de electrones mitocondrial y es un potente inhibidor de la peroxidación lipídica.

→Ácido úrico: principal producto final del metabolismo de las purinas en humanos, a PH fisiológico se ioniza principalmente en forma de urato, un poderoso atrapador de radicales.

→Polifenoles: Constituyen una importante familia de antioxidantes presentes en las plantas. La dieta aporta alrededor de 1g de polifenoles al día principalmente a través de la ingesta de frutas y en menor medida, en las verduras y cereales (7).

### **1.8.2. Sistema de defensa enzimática.**

→Superóxido dismutasa (SOD): Representan una de las primeras líneas de defensa frente al estrés oxidativo, asegura la eliminación del anión superóxido  $O_2^{\bullet -}$  mediante una reacción de dismutación transformando el superóxido en peróxido de hidrógeno y oxígeno. SOD está secretada por las células del músculo liso y constituye el principal sistema antioxidante de la pared arterial: su expresión y su secreción aumentan por factores vasoactivos (histamina, endotelina I, angiotensina II) y disminuyen por la homocisteína. Además tiene actividad antitumoral (7;8).



→Glutación peroxidasas (GPx): Su función principal es la eliminación de los peróxidos lipídicos resultantes de la acción del estrés oxidativo sobre los ácidos grasos.

→Sistema tiorredoxina: El mayor antioxidante responsable de mantener las proteínas en estado reducido es la tiorredoxina la cual será regenerada por el NADPH bajo la acción de la tiorredoxina reductasa (TrxR). Interviene en la degradación de peróxidos lipídicos y peróxido de hidrógeno.

### **1.8.3. Oligoelementos.**

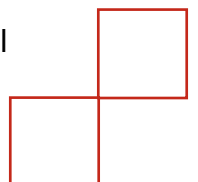
→Selenio: El selenio no es un antioxidante como tal porque no puede atrapar los radicales libres, pero juega un papel fundamental como cofactor de GPx.

→Cobre: A concentración fisiológica, el cobre es cofactor de enzimas como la SOD. Cuando su concentración es alta puede volverse pro-oxidante. Las cantidades diarias recomendadas son de alrededor de 2,5 mg. Está presente en la avena, el centeno y el hígado de ternera.

→Zinc: El zinc actúa como cofactor de muchas enzimas y, por tanto, participa en muchas funciones como el metabolismo de los nucleótidos, la síntesis de prostaglandinas... Al igual que el cobre, el zinc es uno de los cofactores esenciales de la SOD. La relación Cu/Zn (normalmente inferior a 1,5) será un excelente indicador del estado de estrés oxidativo de un individuo. Los alimentos más ricos en zinc son la carne y el pescado, los cereales integrales y las verduras. las cantidades diarias recomendadas son de 20 mg (7).

### **1.9. Antioxidantes como factores beneficiosos del cáncer.**

Los sistemas antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos funcionan de manera sinérgica para proteger las células contra el daño de los radicales libres y por lo tanto, el cáncer. A este respecto, los antioxidantes tienen el potencial



de prevenir, inhibir y revertir los múltiples pasos involucrados en la carcinogénesis oral.

En efecto, múltiples autores sugieren el papel de los antioxidantes en el tratamiento de las lesiones de la mucosa oral, en particular la leucoplasia oral, el liquen plano oral, la fibrosis de la submucosa oral y el cáncer oral.

Así, en varios estudios epidemiológicos, la ingesta baja de vitamina E, carotenoides o ambos se ha asociado con un mayor riesgo de cáncer. Como lo sabemos, fumar es un factor de riesgo clave, los fumadores producen concentraciones más bajas de  $\beta$ -caroteno en el plasma y las células de la mucosa oral, lo que aumentará el riesgo de desarrollar un cáncer oral.

Además, se ha demostrado en otras investigaciones el beneficio de los siguientes antioxidantes. Uno de ellos se llama la curcumina es un colorante amarillo presente en el cúrcuma y se ha relacionado con la supresión de la mutagénesis. El licopeno, otro antioxidante, parece tener un papel benéfico sobre las células cancerosas orales.

Para resumir, se cree que los antioxidantes como el  $\beta$  caroteno, la provitamina A, la vitamina C, la vitamina E, el zinc y el selenio tienen una función preventiva contra el cáncer bucal (7;8).

#### **1.10. Estrés oxidativo y enfermedades orales.**

→ Periodontitis: La periodontitis es una de las enfermedades orales más comunes que afectan a los dientes y sus estructuras de soporte, a saber, la encía, el ligamento periodontal, el cemento y el hueso alveolar. Inicialmente hay una inflamación de la encía conocida como gingivitis que eventualmente progresa a la pérdida de inserción y pérdida ósea.

El neutrófilo polimorfonuclear (PMN) es la célula que se produce inicialmente gracias a la inmunidad del huésped en respuesta a los patógenos



bacterianos. Los PMN llegan al sitio de la inflamación debido a las citocinas proinflamatorias secretadas como resultado del mecanismo inmunitario. Además, hay liberación de ROS que dañan a los tejidos. Las radicales libres pueden ser producidas por los osteoclastos en el hueso y tener un papel clave en la resorción ósea.

Para resumir, los PMN conducen a la formación de ROS, lo que resulta en la destrucción de los tejidos periodontales (11).

→ Liquen plano oral (LPO): El liquen plano oral se define como una enfermedad inflamatoria crónica. La LPO se manifiesta como una respuesta exagerada al sistema inmunitario del cuerpo (11;14). Según autores se observa una reducción de antioxidantes en la saliva de pacientes con liquen plano oral en comparación con controles sanos (11). Además estudios han destacado que los pacientes con LPO tienen niveles elevados de productos de peroxidación lipídica como el malondialdehído (MDA) y el 4-hidroxi-2-nonenal (14).

→ Leucoplasia oral: La leucoplasia oral es el trastorno potencialmente maligno más común de la mucosa oral. Los biomarcadores salivales de estrés oxidativo, como el ácido tiobarbitúrico y los productos finales de glicación avanzada, son significativamente más altos en individuos con leucoplasia que en aquellos sin la lesión. También se encontró que los niveles de antioxidantes son significativamente menores en individuos con leucoplasia (11).

→ Estomatitis aftosa recurrente (RAS): El trastorno ulceroso más común de la mucosa oral. Estas úlceras pueden perturbar el equilibrio oxidante-antioxidante del organismo provocando así la formación de radicales libres.

→ Pénfigo vulgar oral (OPV): El pénfigo vulgar es una enfermedad autoinmune que afecta tanto a la piel como a las mucosas. Provoca ampollas intraepiteliales. Estudios establecieron una posible correlación entre un aumento de la actividad de enzimas antioxidantes (SOD, catalasa y GPx) y una

capacidad antioxidante total reducida en pacientes con OPV en comparación con controles sanos (14).

### **1.11. justificación, hipótesis y objetivos**

**Justificación:** Para entender mejor uno de los problemas de salud oral más importante de esta década, es necesario conocer los biomarcadores pertinentes del estrés oxidativo que están involucrados en la patogénesis del cáncer oral. Así se va a aportar a la comunidad científica toda la información actualizada sobre este tema para mejorar la terapéutica del cáncer y desarrollar protocolos más precisos al día de diagnosticar un paciente con cáncer oral.

En efecto, para prevenir un cáncer oral debemos reconocer de manera sencilla las lesiones precancerosas que son por la mayoría el inicio de una malignidad. Hoy en día existen otros métodos, pero podemos dar la oportunidad a los marcadores del estrés oxidativo que se están convirtiendo en una meta fundamental. Además de ser accesible con un simple estudio analítica, o urinario, pueden dar resultados muy precisos sobre la evolución de la enfermedad. Todo este enfoque tiene un único objetivo: incrementar la tasa de supervivencia de los pacientes con cáncer oral gracias a un diagnóstico precoz.

**Hipótesis:** La hipótesis del presente trabajo considera que el cáncer oral tiene una relación estrecha con algunos marcadores específicos del estrés oxidativo.

#### **Objetivo general:**

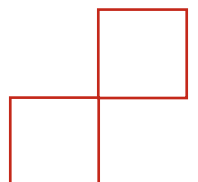
1. Conocer los biomarcadores del estrés oxidativo prometedores para el diagnóstico del cáncer oral y trastornos potencialmente malignos.

#### **Objetivos específicos:**

a. Identificar cuáles son los marcadores del estrés oxidativo relevantes en el diagnóstico del cáncer oral.

b. Identificar cuáles son los marcadores del estrés oxidativo relevantes en el diagnóstico de los trastornos orales potencialmente malignos.

c. Evaluar la capacidad productiva de los marcadores del estrés oxidativo conocidos en el diagnóstico del cáncer oral y trastornos orales potencialmente malignos.



## **2. MATERIAL Y MÉTODO.**

### **2.1. Protocolo.**

Esta revisión sistemática se realiza siguiendo los 27 ítems de las revisiones sistemáticas y meta-análisis de la declaración PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-analyses) publicado en julio 2020 (15)

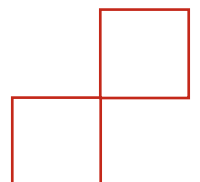
### **2.2. Criterios de elegibilidad.**

Para la elaboración de la pregunta de investigación y los criterios de elegibilidad se usa el acrónimo P.I.C.O (Patología, Intervención, Comparación, Resultados). Patología: cáncer oral y trastornos orales potencialmente malignos; Intervención: Marcadores del estrés oxidativo; Resultados: Capacidad de los marcadores para identificar correctamente las patologías. De esta pregunta P.I.C.O se sacó la pregunta de investigación de la revisión sistemática: Cuáles son los marcadores del estrés oxidativo prometedores para el diagnóstico del cáncer oral y los trastornos orales potencialmente malignos?

<b>Patología</b>	<b>Intervención</b>	<b>Comparación</b>	<b>Resultado</b>
Pacientes con cáncer oral y trastornos orales potencialmente malignos	Marcadores del estrés oxidativo	Pacientes sanos	Capacidad de los biomarcadores para identificar correctamente las patologías

**Figura 3: Elaboración de la pregunta de investigación con acrónimo PICO.**

Para la elegibilidad de los artículos se incluyen y excluyen criterios ya predefinidos antes de la búsqueda.



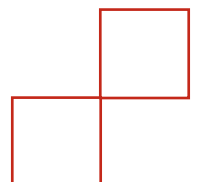
Criterios de inclusiones	Criterios de exclusiones
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Estudios en inglés, francés y español</li> <li>2. Artículos publicados hace menos de 10 años.</li> <li>3. Pacientes adultos con cáncer oral.</li> <li>4. Pacientes adultos con tumor pre-malignas.</li> <li>5. Estudios con muestra de más de 5 pacientes.</li> <li>6. Pacientes con trastornos orales potencialmente malignas.</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Artículos publicados hace más de 10 años.</li> <li>2. Estudios en animales.</li> <li>3. Revisión bibliográfica.</li> <li>4. Revisión sistemática.</li> <li>5. Estudios que investigan ubicaciones distintas de la cavidad bucal y no dan datos por separado para la cavidad bucal.</li> <li>6. Estudio con muestra inferior o igual a 5 pacientes.</li> </ol>

Figura 4: Criterios de inclusiones y exclusiones.

Como criterio de exclusión, no se seleccionan artículos con una fecha de publicación anterior a 2012. Además estudios en animales, revisión bibliográfica y revisión sistemática se eliminan. Las investigaciones en animales están descartados por una decisión propia a los autores de la revisión sistemática, además de ser estudios con menor evidencia. Se quitan también los estudios con investigación sobre el cáncer en general que no nos dan datos por separado de la cavidad bucal. Tampoco entran los estudios con muestra inferior o igual a 5 pacientes. Por último se excluyen algunos artículos con la lectura del título y del abstracto si no son interesantes para la revisión sistemática. Haciendo los resultados, se descartan 4 artículos que tienen palabras claves, títulos, abstractos coherentes con la presente revisión pero con la lectura atenta de la integridad, se ve que son estudios sobre marcadores del estrés oxidativo genético.

### **2.3. Fuentes de información:**

La búsqueda bibliográfica se realiza principalmente a través de 3 bases de datos : PubMed, Lilacs y Scopus. Además, la colaboración de la biblioteca universitaria José Planas de la UEV permite una ayuda adicional a este trabajo de investigación para encontrar libros en relación con nuestro tema. En efecto se usa también Academic search Ultimate, google scholar, Dentistry & oral Sciences source, sobre todo para la introducción.



#### **2.4. Estrategia de búsqueda/Proceso de selección de los estudios:**

Para la selección de artículos, se desarrolla una estrategia específica y similar dentro de las 3 bases de datos mencionadas anteriormente : Pubmed, Lilacs y Scopus.

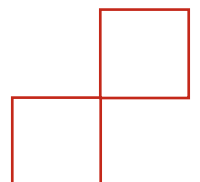
En primer lugar se empieza la búsqueda con Pubmed el 15 de noviembre de 2021. Se sigue la búsqueda el 20 de diciembre de 2020 con el motor de búsqueda Lilacs y por fin se termina el 18 de febrero de 2022 con la famosa base de datos, Scopus.

Para Pubmed se elabora previamente términos Mesh, que están descritos a continuación: (("Oxidative Stress"[Mesh]) AND "Mouth Neoplasms"[Mesh]) AND « Biomarkers »[Mesh]. Se añade el filtro: Año de publicación desde 2012 a 2022.

A partir de todos estos términos Mesh, estos filtros y los criterios de exclusión e inclusión, se encuentran 156 artículos. De estos 156 artículos, 141 son excluidos por título, resumen y criterios de exclusiones. Al final de la búsqueda nos quedamos con 14 artículos.

Luego se usa la base de datos Lilacs. Se elabora los términos DeCS que son similares a los de Pubmed: "Estrés Oxidativo" / "Neoplasias de la Boca" / "Biomarcadores". Para relacionar las palabras entre ellas se usa el termino " AND ". Después como mencionado antes se añade el mismo filtro que anteriormente.

Se encuentran 82 artículos. De estos artículos, 81 están excluidos tras la lectura del título y del abstracto. Además muchos están descartados por duplicaciones. Al final de la búsqueda se detiene 1 artículo. Después de la lectura total del artículo, no se puede sacar resultados pertinente. Por fin, la última búsqueda está realizada con el motor de búsqueda Scopus, siguiendo los mismos pasos de Pubmed y Lilacs.



Se encuentran 28 artículos usando las palabras claves: “Estrés-Oxidativo“ y “cáncer-oral: ( TITLE-ABS-KEY ( oxidative-stress )) AND ( cáncer oral ). De estos 28 artículos, 27 están rechazados leyendo el título, el abstracto y por duplicaciones. Al final de la búsqueda nos quedamos con 1 artículo.

Base de datos/ Palabras claves	mesh ( Pubmed )	DeCS ( Lilacs )	( Scopus )
Estrés oxidativo	Oxidative Stress	Estrés Oxidativo	Oxidative-stress
Cancer oral	Mouth Neoplasms	Neoplasias de la Boca	Cancer oral
Biomarcadores	Biomarkers	Biomarcadores	

Figura 5: Palabras claves para los diferentes motor de búsqueda.

En total, acumulando las bases de datos, tenemos 12 artículos. Se puede ver el resumen en figura 6.

Base de datos	Busqueda	Numero de artículos	Fecha
<b>Pubmed</b>	((“Oxidative Stress”[Mesh]) AND “Mouth Neoplasms”[Mesh]) AND « Biomarkers »[Mesh]	11	15/11/2021
<b>Lilacs</b>	“Estrés Oxidativo“ AND “Neoplasias de la Boca“ AND “Biomarcadores“	0	20/12/2021
<b>Scopus</b>	( TITLE-ABS-KEY ( oxidative-stress )) AND ( cancer oral )	1	18/02/2022

Figura 6: resumen de las búsquedas.

En todas las bases de datos no hay ninguna restricción en cuanto al origen geográfico, al género de los pacientes y al grupo de edad para la elección de los artículos.

La información extraída de cada artículo se acumula en tablas gracias a Microsoft Word y Excel y con la ayuda de Pages. Además se usó Canva, una plataforma de diseño gráfico para la realización de todos los esquemas.

Después de toda la búsqueda se realiza por parte de otro autor, Antonio Pellin, una lectura atenta de los artículos seleccionados. Además se realiza una búsqueda cruzada de artículos gracias a un observador exterior (Emma Jeannin) para confirmar la validez de la búsqueda.

### **2.5. Proceso de extracción de los datos.**

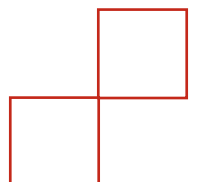
Para sintetizar los resultados obtenidos de nuestra búsqueda, se realiza tablas con las siguientes características:

- Autores y año.
- Características de los pacientes y muestra.
- Biomarcadores estudiado.
- Lugar de recopilación de los marcadores.
- Medición de los biomarcadores del estrés oxidativo.
- Tipo de estudio.
- Criterios de exclusión.

### **2.6. Evaluación del riesgo de sesgo de los estudios individuales/ Evaluación del sesgo en la publicación.**

La validez de los artículos sigue la checklist del Instituto Joanna Briggs (JBI). Es una organización internacional de investigación basada en la evidencia.

Este programa de lectura crítica tiene 10 preguntas que pueden ser respondidas rápidamente a modo de checklist con 4 respuestas posibles : “si” , “no” , “no claro” , “no se puede responder“. (16)



¿Había criterios claros para la inclusión en la serie de casos?
¿Se midió la condición de una manera estándar y confiable para todos los participantes incluidos en la serie de casos?
¿Se utilizaron métodos válidos para la identificación de la condición para todos los participantes incluidos en la serie de casos?
¿La serie de casos tuvo inclusión consecutiva de participantes?
¿La serie de casos tuvo una inclusión completa de los participantes?
¿Hubo informes claros de la demografía de los participantes en el estudio?
¿Hubo un informe claro de la información clínica de los participantes?
¿Se informaron claramente los resultados o los resultados del seguimiento de los casos?
¿Hubo informes claros de la información demográfica de los sitios/clínicas de presentación?
¿Fue apropiado el análisis estadístico?

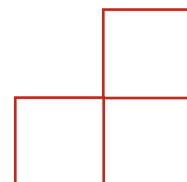
Figura 7: Preguntas de la checklist del Instituto Joanna Briggs (JBI).

## **2.7. Evaluación de la certeza de la evidencia.**

En cuanto a los métodos utilizados para evaluar la confianza se mira el número de citación de cada artículo.

<b>Estudio</b>	<b>Número de citación.</b>
1. Babiuch y cols.	18 veces
2. Murugaiyan y cols.	9 veces
3. Mutlu y cols.	2 veces
4. Nayyar y cols.	6 veces
5. Shah y cols.	6 veces
6. Patil y cols.	
7. Kumar y cols.	40 veces
8. Metgud y cols.	37 veces
9. Nandakumar y cols.	3 veces
10. Pakfetrat y cols.	16 veces
11. JuneJa y cols.	9 veces
12. Malik y cols.	44 veces

Figura 8: Número de citación de cada artículo.





### **3. RESULTADO.**

#### **3.1. Selección de los estudios.**

Algunos artículos están descartados aunque tienen muchos criterios de inclusión. La mayoría es porque hacen investigaciones en animales, este criterio de inclusión es una decisión propia a los autores de la revisión sistemática, además de ser estudios con menor evidencia. A parte de este criterio de inclusión limitante, los otros criterios no restringen tanto la elección de los artículos. Se quitan también los estudios con investigación sobre el cáncer en general y que no nos dan datos por separado de la cavidad bucal para tener resultados más específicos en cuanto a los marcadores del estrés oxidativo. Además, haciendo los resultados, se descartan 4 artículos que tienen palabras claves, títulos, abstractos coherentes con la presente revisión pero con la lectura atenta de la totalidad del estudio, se ve que son estudios sobre marcadores genéticos del estrés oxidativo.

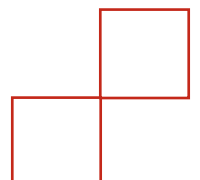
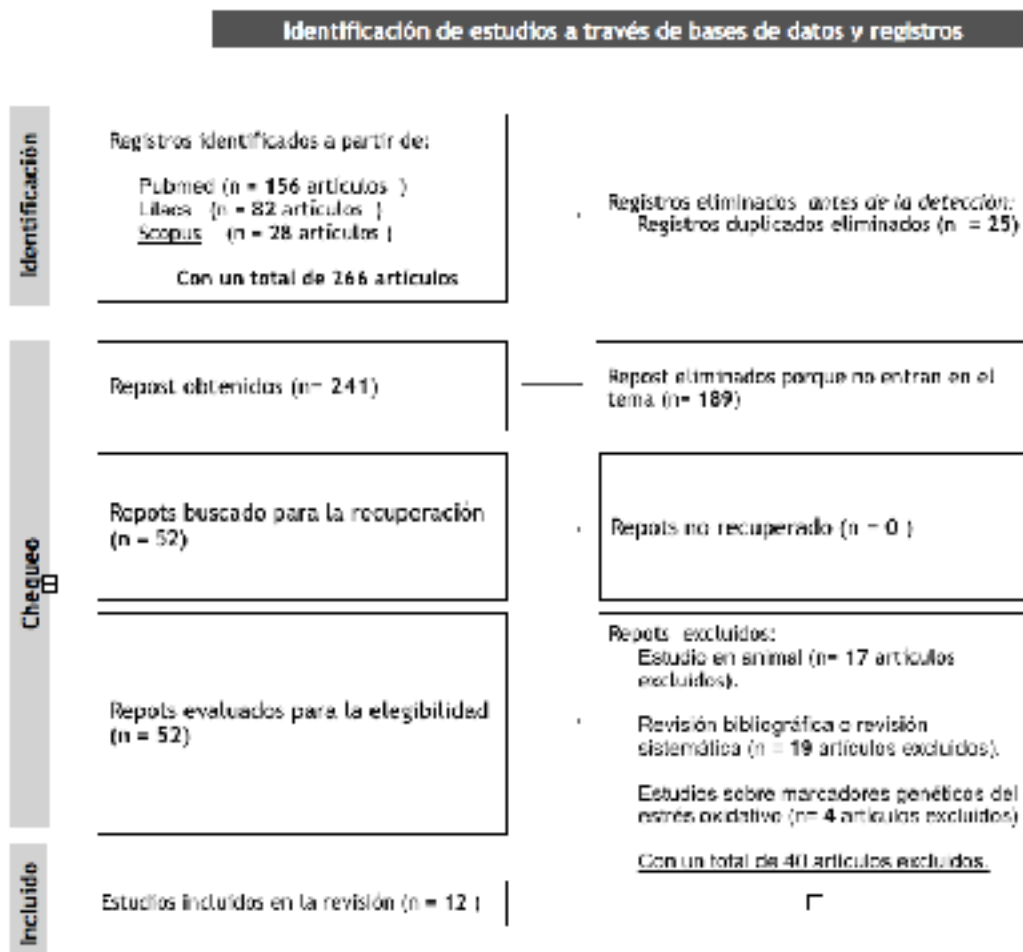
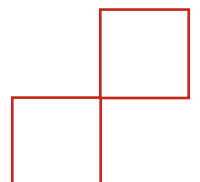


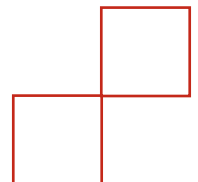
Figura 9 : Diagrama de flujo PRISMA 2020 para nuevas revisiones sistemáticas que incluyen búsquedas de sólo bases de datos y registros

### **3.2. Características del estudio.**

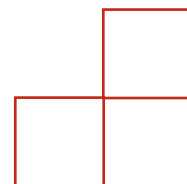
Se incluye 12 estudios publicados en inglés. Se puede identificar que la muestra de los estudios se encuentran entre 40 y 300 pacientes. Para el análisis de los resultados de los estudios se analizan los marcadores del estrés oxidativo encontrado en los pacientes con lesión precáncerosa y con cáncer oral. Se señalan la metodología para estudiar estos biomarcadores del estrés oxidativo. Para la elaboración de las características de los estudios se elabora una tabla que incluye : Autores, año, características de los pacientes y muestra, biomarcadores, lugar de recopilación de los marcadores, medición de los biomarcadores, tipo de estudio, criterio de exclusión del estudio. La totalidad de los artículos son casos clínicos. (tabla 1)



Autores y año	Características de los pacientes y muestra	Biomarcadores estudiado	Recopilación de los marcadores	Medición de los biomarcadores del estrés oxidativo	Tipo de estudio	Criterios de exclusión
1. Babluch y cols. (2018)	COCC: 20 p. Leucoplasia pacientes: 20 p. Sancos: 20 p. <u>TOTAL: 60</u> pacientes.	1. Capacidad antioxidante total (TAC). 2. Actividad de superóxido dismutasa (SOD). 3. Glutación peroxidasa (GPA). 4. Glutación reductasa (GR) 5. Niveles de glutatión total (GSH). 6. Glutación reducido (GSH). 7. Glutación oxidado (GSSG) 8. Relación GSH/GSSG. 9. Ácido úrico (UA) 10. 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina plasmática (8-OHdG) 11. Malondialdehído (MDA).	En saliva.	1. TAC: ensayo de poder antioxidante reductor férrico (FRAP). 2. SOD: método espectral fotométrico basado en autooxidación de epinefrina. 3. GPA: método indirecto utilizando H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> como sustrato y evaluando la concentración de GSH. 4. GR: método espectral fotométrico. 5. GSH: kit de ensayo colorimétrico de Cell Biolabs. 6. GSH: método que involucra la oxidación de GSH por un reactivo. 7. GSSG: = GSH - GSH 8. AU: método automatizado en el analizador XL-110 con reactivos Erba Lachema. 9. 8-OHdG: Método ELISA. 10. MDA: método de inmunensayo enzimático competitivo disponible en kits comerciales de MyBioSource.	C/C	Enfermedades; hábitos que afectan a los niveles de marcadores; seales; ferribarazo, suplementos de vitaminas, cirugía oral, oncoestomía...
2. Murugabya y cols. (2015)	Cáncer oral: 30 pacientes Sancos: 30 <u>TOTAL: 60</u> pacientes.	1. 8-OHdG 2. MDA 3. TAC 4. Grupos "Tiol"	En orina para 8-OHdG.  En plasma para otros biomarcadores.	8-OHdG: no cara  MDA: método de sustancias reactivas con ácido tiorbitilúrico.  TAC: método de ensayo FRAP.  Grupos "Tiol": método de Ellman usando un espectrofotómetro.	C/C	P. con DM, HTA, enfermedad arterial coronaria, DM, enfermedad vascular periférica, enfermedad renal y aquellos que tomaban suplementos vitamínicos.
3. Mufly y cols. (2018)	CCC: 85 pacientes Sancos: 115 pacientes <u>TOTAL: 204</u> pacientes.	1. PON 1 2. CAT 3. CA 4. XO	En plasma.	PON 1: se cuantificó espectrofotométricamente por el método descrito por Gan et al.  CAT: se determinó utilizando el método de ensayo UV espectral fotométrico de Hecox (Witczak, V., EE. U.U.).  CA: se midió por hidrólisis de CO <sub>2</sub> según el método de Wilbur y Ancerson.  XO: se analizó esencialmente según el método descrito por Housick.	C/C	



<p>4. Nayyar y cols. (2012)</p>	<p>COCE : 30 pacientes Leucocitos : 10 pacientes Sanos : 25 TOTAL : 65 pacientes.</p>	<p>1. AOPP 2. Niveles de albumina</p>	<p>En plasma.</p>	<p>Albumina: se ensayaron con la ayuda del método de Biuret.  AOPP: productos de proteínas de oxidación avanzadas se midieron por espectrofotometría.</p>	<p>C/C</p>	<p>Pacientes sin ninguna modalidad terapéutica antes de la inclusión en el estudio o padeció alguna afección sistémica.</p>
<p>6. Shah y cols. (2017)</p>	<p>Pacientes con fibrosis oral Submucosa (OSMF) : 50 Leucocitos Oral (LOL) : 50 Estomatitis Nicotina(NST) : 50 Neoplasias Orales (ON) : 50 Pacientes sanos : 100 TOTAL : 300 pacientes.</p>	<p>1. Niveles de ceruloplasmina en pre malignidadas orales y cáncer oral</p>	<p>En plasma</p>	<p>Ceruloplasmina: conulplasma SunIT con calitrador, Agappa Diagnostic Ltd. y ERBA-CHEM + ANOVA</p>	<p>C/C</p>	<p>Antecedentes de enfermedad importante: enfermedad hepática, DM, HTA, TBC, sujetos sometidos a radioterapia o quimioterapia, neoplasias malignas que no sean cánceres orales y &gt; 60 años.</p>
<p>8. Patil y cols. (2021)</p>	<p>COCE : 25 pacientes Leucocitos : 50 Sanos : 25 TOTAL : 100 pacientes.</p>	<p>1. Niveles de ceruloplasmina sérica.</p>	<p>En plasma</p>	<p>Ceruloplasmina: se midió con ANOVA.</p>	<p>C/C</p>	<p>Antecedentes de enfermedad importante: enfermedad hepática, DM, HTA, TBC, sujetos sometidos a radioterapia o quimioterapia, neoplasias malignas que no sean cánceres orales y &gt; 60 años.</p>
<p>7. Kumar y cols. (2012)</p>	<p>COCE : 100 pacientes Sanos : 90 pacientes TOTAL : 190 pacientes.</p>	<p>1. capacidad antioxidante total sérica (TAC) 2. glutatión (GSH) 3. 8-OHdG.</p>	<p>En saliva</p>	<p>TAC: Kit de ensayo de antioxidantes (Cayman Chemical Company, EE. UU.) GSH: CPT 8-OHdG: Kit de cuantificación de daños en el ADN (Biovisor, EE. UU.)</p>	<p>C/C</p>	<p>P. Con enfermedades sistémicas subyacentes, cánceres distintos al cáncer oral y casos previamente tratados por cáncer oral.</p>
<p>8. Metzquand y cols. (2014)</p>	<p>COCE : 40 pacientes Leucocitos : 30 Sanos : 30 TOTAL : 100 pacientes.</p>	<p>1. MDA 2. GSH</p>	<p>En saliva y plasma</p>	<p>MDA: Método TBARS (Jabarutic) GSH: método que involucra la oxidación de GSH por un reactivo</p>	<p>C/C</p>	<p>P. Con enfermedades sistémicas subyacentes, cánceres distintos al cáncer oral y casos previamente tratados por cáncer oral.</p>



9. Nandaku mar y cola. (2020)	Pacientes con COCE : 30 Pacientes con fibrosis submucosa : 30 Pacientes sanos : 30 <b>TOTAL : 60 pacientes.</b>	En saliva	8-OHdG: ELISA	C/C	Los pacientes y controles con comorbilidades y otros trastornos sistémicos fueron excluidos del estudio.
10. Pakietrat y cola. (2018)	COCE : 20 pacientes Sanos : 20 pacientes <b>TOTAL : 40 pacientes.</b>	En plasma	método de espectrofotometría.	C/C	Casos de cáncer bucal previamente tratados, abuso crónico de alcohol, pacientes con trastornos hepáticos o renales y cualquier lesión bucal en los últimos 6 meses.
11. Jumala y cola. (2017)	COCE : 20 pacientes OPM : 20 pacientes Sanos : 10 pacientes <b>TOTAL : 50 pacientes.</b>	En plasma	método de espectrofotometría.	C/C	Enfermedad hepática, TBC, DM, HIA o neoplasias malignas distintas del cáncer oral. Pacientes sometidos a radioterapia o quimioterapia. P. tomado antibióticos y preparaciones multivitámicas. No hábito de tabaco. alcohol.
12. Malik y cola. (2014)	COCE 45 Pacientes Sanos : 30 pacientes <b>TOTAL : 75 sujetos.</b>	En plasma	<b>PONI:</b> Método espectrofotométrico <b>MDA:</b> Método TBARS (tiorbatánico). <b>ARE:</b> se midió estimando la tasa de hidrólisis del acetato de fenilo.	C/C	DM, cataratas, enfermedades cardiovasculares, HTA, trastorno de la función hepática y renal, anemia, artritis, hipertiriodismo, hipotirodismo, cáncer de mama, colorrectal, pulmón, hígado y esófago.

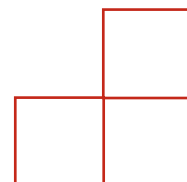
Tabla 1: Resultados de las características del estudio.

### **3.3. Riesgo de sesgo en los estudios.**

#### JOANNA Checklist.

<b>PREGUNTA</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>Total</b>
<b>1. Babiuch y cols. (2019)</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10/10
<b>2. Murugaiyan y cols. (2015)</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10/10
<b>3. Mutlu y cols. (2018)</b>	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	9/10
<b>4. Nayyar y cols. (2012)</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10/10
<b>5. Shah y cols. (2017)</b>	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	9/10
<b>6. Patil y cols. (2021)</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10/10
<b>7. Kumar y cols. (2012)</b>	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	9/10
<b>8. Metgud y cols. (2014)</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10/10
<b>9. Nandakumar y cols. (2020)</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10/10
<b>10. Pakfetrat y cols. (2018)</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10/10
<b>11. JuneJa y cols. (2017)</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10/10
<b>12. Malik y cols. (2014)</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10/10

Tabla 2 : Evaluación del riesgo de sesgo según la checklist de la Joanna Briggs institute para casos y controles (<http://joannabriggs.org/research/critical-appraisal-tools.html>).

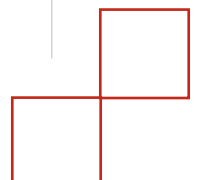


Gracias a la checklist de la Joanna Briggs institute de casos y controles se realiza el estudio de sesgo de los doce artículos. El Resultado de los doce artículos es que nueve de ellos tienen el puntaje máximo de 10/10. (1;2;4;6;8;9;10;11;12). En cuanto a los otros estudios se obtiene un puntaje de 9/10. (3;5;7) En efecto, los estudios que no tienen la totalidad de la puntuación son los que no tienen criterios claros de inclusión.

### **3.4. Resultados de estudios individuales.**

#### **3.4.1. Marcadores del estrés oxidativo prometedores para el diagnóstico del cáncer oral.**

<b>Artículos</b>	<b>Marcadores del estrés oxidativo</b>	<b>Sanos</b>	<b>COCE</b>	<b>CCC</b>
1. Babiuch y cols. 2019 7. Kumar y cols. 2012 8. Metgud y cols. 2014 10. Pakfetrat y cols. 2018	<b>GSH</b>	↑	↓	x
1. Babiuch y cols. 2019	<b>MDA</b>	.=	.=	x
2. Murugaiyan y cols. 2015 8. Metgud y cols. 2014 12. Malik y cols. 2014		↓	↑	x
5. Shah y cols. 2017 6. Patil y cols. 2021	<b>Ceruloplasmina</b>	↓	↑	x
7. Kumar y cols. 2012 9. Nandakumar y cols. 2020	<b>8-OHdG salival</b>	↓	↑	x
1. Babiuch y cols. 2019	<b>GSSG</b>	↑	↓	x
10. Pakfetrat y cols. 2018		.=	.=	x
1. Babiuch y cols. 2019 10. Pakfetrat y cols. 2018	<b>GSH/GSSG</b>	↑	↓	x
3. Mutlu y cols. 2018	<b>PON1</b>	↑	x	↓
12. Malik y cols. 2014			↓	x
1. Babiuch y cols. (2019)	<b>SOD</b>	↓	↑	x
2. Murugaiyan y cols. (2015)	<b>8-OHdG urinario</b>			



4. Nayyar y cols. 2012	<b>AOPP</b>			
11. JuneJa y cols. 2017	<b>Oxido nitrico</b>			
1. Babiuch y cols. 2019	<b>tGSH</b>			
1. Babiuch y cols. 2019	<b>8-OHdG plasmatico</b>	↑	↓	x
4. Nayyar y cols. 2012	<b>Albumina</b>			
11. JuneJa y cols. 2017	<b>Vitamina C</b>			
12. Malik y cols. 2014	<b>ARE</b>			
1. Babiuch y cols. 2019	<b>TAC</b>	=	=	x
7. Kumar y cols. 2012				x
2. Murugaiyan y cols. 2015		↑	↓	x
1. Babiuch y cols. 2019	<b>GR</b>	=	=	x
1. Babiuch y cols. 2019	<b>Gpx</b>	=	=	x
1. Babiuch y cols. 2019	<b>Au</b>			
2. Murugaiyan y cols. 2015	<b>Grupos "Tiol"</b>			
3. Mutlu y cols. 2018	<b>CA</b>	=	=	=
	<b>CAT</b>			
	<b>XO</b>			

Tabla 3: Marcadores del estrés oxidativo prometedores en el diagnóstico del cáncer oral.

**X** : No data

= : No diferencia significativa entre sanos y enfermos.

↑ : Marcador con niveles altos con respecto a los niveles de pacientes sanos.

↓ : Marcador con niveles bajos con respecto a los niveles de pacientes sanos.

**Marcadores en negro:** Marcadores con resultados significativos.

**Marcadores en naranja:** Marcadores con resultados significativos pero falta estudios para tener evidencia alta.

**Marcadores en rojo:** Marcadores con resultados menos significativos.



En primer lugar, según los resultados obtenidos de *Babiuch y cols. (2019)* para el marcador **GSH**, se encuentra que los niveles están más bajos en los pacientes con COCE en comparación con pacientes controles sanos. Estos resultados se confirman en los estudios de *Kumar y cols. (2012)*, *Metgud y cols. (2014)* y *Pakfetrat y cols. (2018)*.

A continuación, se observa el marcador **MDA** y tenemos niveles significativamente mayor en los sujetos con cáncer oral que en pacientes sanos. Estos resultados se comprueban en las investigaciones de *Murugaiyan y cols. (2015)*, *Metgud y cols. (2014)* y *Malik y cols. (2014)*. En el estudio de *Babiuch y cols. (2019)* no se encuentran diferencias significativas entre pacientes sanos y pacientes diagnosticados con COCE.

Después se evalúa los niveles de **ceruloplasmina séricos**. Se observa actividad más bajos en el grupo de control sano. A medida que aumenta la gravedad de la enfermedad, los niveles séricos de ceruloplasmina también aumentan en consecuencia. Se observan estas variaciones en la investigación de *Shah y cols. (2017)* y *Patil y cols. (2021)*.

Los autores, *Kumar y cols. (2012)* y *Nandakumar y cols. (2020)* encuentran que los niveles de **8-OHdG salivales** aumentan en pacientes con COCE en comparación con pacientes controles sanos.

Otros investigadores al nombre de *Babiuch y cols. (2019)* y *Pakfetrat y cols. (2018)* estudian los niveles de **GSSG** y encuentran resultados diferentes. *Babiuch y cols. (2019)* encuentran resultados significativamente más bajo en la saliva de pacientes con COCE en comparación con individuos sanos. En cambio, *Pakfetrat y cols. (2018)* no observan diferencias significativas entre pacientes con COCE y sanos.

Sin embargo, los mismos autores, *Babiuch y cols. (2019)* y *Pakfetrat y cols. (2018)* tienen mismos resultados para **GSH/GSSG**. Encuentran que este marcador es significativamente más bajo en la saliva de pacientes con COCE en comparación con individuos sanos.

Luego, los niveles de **PON1** estudiados están significativamente más altos en los pacientes controles tanto para los autores *Mutlu y cols. (2018)* y *Malik y cols. (2014)*, en comparación con pacientes con cáncer de cabeza y cuello (CCC) y en pacientes con COCE.

**SOD** estudiado por *Babiuch y cols. (2019)*, además del marcador **8-OHdG urinario** investigado por *Murugaiyan y cols. (2015)* y los marcadores **AOPP** y **óxido nítrico** estudiado respectivamente por *Nayyar y cols. (2012)* y *JuneJa y cols. (2017)* resultan que tienen niveles bajos en pacientes sanos y significativamente más altos en pacientes diagnosticados con COCE.

En cuanto, a los marcadores **tGSH** y **8-OHdG plasmático**, ambos estudiado por el autor *Babiuch y cols. (2019)*, encuentran un aumento significativo en los niveles de pacientes sanos en comparación con los

pacientes diagnosticados con COCE. Los resultados son iguales para la **Albumina** estudiado por *Nayyar y cols. (2012)*, la **vitamina C** estudiada por *JuneJa y cols. (2017)* y **ARE** investigado por *Malik y cols. (2014)*

La capacidad antioxidante total (**TAC**) esta estudiado por tres autores: *Babiuch y cols. (2019)*, *Murugaiyan y cols. (2015)* y *Kumar y cols. (2012)*. Dentro de estas tres investigaciones encuentran niveles diferentes de TAC. *Babiuch y cols. (2019)* encuentran que los niveles de TAC aumentan en pacientes con COCE, mientras que bajan en pacientes sanos. Al contrario, *Murugaiyan y cols. (2015)* encuentran que los niveles de TAC bajan en pacientes con COCE y aumentan en pacientes controles. En cuanto a los autores *Kumar y cols. (2012)* no encuentran diferencias significativas entre pacientes con COCE y sanos.

Acerca del marcador **GR**, Se observa que no hay diferencia entre pacientes sanos y pacientes diagnosticados con COCE. (*Babiuch y cols.(2019)*)

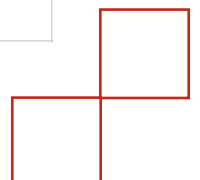
Para los marcadores **GPx** y **Au**, en el estudio de *Babiuch y cols. (2019)* no observan diferencias significativas entre pacientes sanos y pacientes con COCE.

Después, *Murugaiyan y cols. (2015)* estudian el marcador **grupos “tiol”** y tampoco observan diferencias significativas.

Por ultimo, según los resultados de *Mutlu y cols. (2018)* no hay diferencias significativas entre **CA**, **CAT** y **XO** cuando se comparan los niveles de enzimas de pacientes con cáncer oral y controles sanos.

### 3.4.2 Marcadores del estrés oxidativo prometedores en el diagnóstico de los trastornos orales potencialmente malignas.

Artículos	Marcadores del estrés oxidativo	Sanos	Leucoplasia	TOPM
1. Babiuch y cols. 2019 8. Metgud y cols. 2014	<b>GSH</b>	↑	↓	x
5. Shah y cols. 2017 6. Patil y cols. 2021	<b>Ceruloplasmina</b>	↓	↑	↑
1. Babiuch y cols.. 2019	<b>GR</b>	↓	↑	x
4. Nayyar y cols. 2012	<b>AOPP</b>			
1. Babiuch y cols. 2019	<b>GSH/GSSG</b>	↑	↓	x
4. Nayyar y cols. 2012	<b>Albumina</b>			



11. JuneJa y cols. 2017	<b>Oxido nitrico</b>	↓	x	↑
11. JuneJa y cols. 2017	<b>Vitamina C</b>	↑	x	↓
1. Babiuch y cols. 2019	<b>tGSH</b>	=	=	x
	<b>8-OHdG plasmatico</b>			
	<b>GSSG</b>			
1. Babiuch y cols. 2019	<b>SOD</b>	=	=	x
1. Babiuch y cols. 2019	<b>TAC</b>	=	=	x
	<b>GPx</b>			
	<b>Au</b>			
	<b>MDA</b>			

Tabla 4: Marcadores del estrés oxidativo prometedores en el diagnóstico de los trastornos orales potencialmente malignas.

**X** : No data

= : No diferencia significativa entre sanos y enfermos.

↑ : Marcador con niveles altos con respecto a los niveles de pacientes sanos.

↓ : Marcador con niveles bajos con respecto a los niveles de pacientes sanos.

**Marcadores en negro:** Marcadores con resultados significativos.

**Marcadores en naranja:** Marcadores con resultados significativos pero falta estudios para tener evidencia alta.

**Marcadores en rojo:** Marcadores con resultados menos significativos.

Primero, los resultados obtenidos para el marcador **GSH**, se ve que los niveles están más bajos en los pacientes con leucoplasia en comparación con pacientes sanos. Estos resultados se confirman en dos estudios de los autores *Babiuch y cols. (2019)* y *Metgud y cols. (2014)*.

Con respecto a los niveles séricos de **ceruloplasmina** se observa en el grupo sano niveles más bajos. A medida que aumenta la gravedad de la enfermedad, los niveles séricos de ceruloplasmina también aumentan en consecuencia. Se observan estas variaciones en la investigación de *Shah y cols. (2017)* y *Patil y cols. (2021)*.

En cuanto al marcador **GR**, tiene una actividad alta en pacientes con leucoplasia mientras que hay una actividad baja en pacientes sanos según el autor *Babiuch y cols. (2019)*

Asimismo se encuentran resultados igual para el marcador **AOPP** estudiado por los autores *Nayyar y cols. (2012)*

Acerca del marcador **GSH/GSSG**, se obtiene niveles altos en pacientes sanos mientras que los pacientes diagnosticados con leucoplasia tienen actividad baja del marcador según el estudio de *Babiuch y cols. (2019)*

Resultados sobre la **albumina** están analizados en el estudio de *Nayyar y cols. (2012)*. Se obtiene que los niveles de este marcador bajan en los pacientes con leucoplasia comparando con pacientes sanos.

El **oxido nítrico** estudiado por el autor *JuneJa y cols. (2017)*, tiene niveles altos en pacientes con TOPM, al contrario los pacientes sanos tienen niveles más bajos.

Hablando de la **vitamina C**, *JuneJa y cols. (2017)* encuentran que los niveles están bajos en pacientes con TOPM mientras se encuentran altos en pacientes sanos.

*Babiuch y cols. (2019)*, documenta en su estudio niveles de **tGSH** iguales en pacientes con leucoplasia como en pacientes sanos. Estos hallazgos, resultan ser iguales para el marcador **8-OHdG plasmático** y **GSSG**.

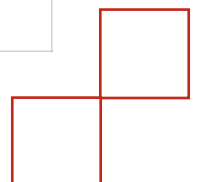
Para el marcador **SOD**, *Babiuch y cols. (2019)*, observan una actividad igual tanto para pacientes con leucoplasia e individuos sanos.

Finalmente los mismos autores observan no solo para el marcador **TAC** sino también **GPx**, **Au** y **MDA**, resultados no significativos comparando los pacientes sanos y con leucoplasia

### 3.4.3 Resumen de los marcadores del estrés oxidativo prometedores en el diagnóstico de los trastornos orales potencialmente malignos y el cáncer oral.

Artículos	Marcadores del estrés oxidativo	Sanos	TOPM (leucoplasia)	COCE CCC
1. Babiuch y cols. (2019)	<b>GSH</b>	↑	↓	↓
8. Metgud y cols. (2014)				
7. Kumar y cols. (2012)				
10. Pakfetrat y cols. (2018)			x	

2. Murugaiyan y cols. (2015)	<b>MDA</b>	↓	x	↑
8. Metgud y cols. (2014)				
12. Malik y cols. (2014)				
1. Babiuch y cols. (2019)		.=	.=	.=
5. Shah y cols. (2017)	<b>Ceruloplasmina</b>	↓	↑	↑
6. Patil y cols. (2021)				
7. Kumar y cols. (2012)	<b>8-OHdG salival</b>	↓	x	↑
9. Nandakumar y cols. (2020)				
1. Babiuch y cols. (2019)	<b>GSH/GSSG</b>	↑	↓	↓
10. Pakfetrat y cols. (2018)			x	
1. Babiuch y cols. (2019)	<b>GSSG</b>	↑	↑	↓
10. Pakfetrat y cols. (2018)		.=	x	.=
1. Babiuch y cols. (2019)	<b>8-OHdG plasmatico</b>	↑	↑	↓
1. Babiuch y cols. (2019)	<b>tGSH</b>	↑	↑	↓
3. Mutlu y cols. (2018)	<b>PON1</b>	↑	x	↓
12. Malik y cols. (2014)				
4. Nayyar y cols. (2012)	<b>Albumina</b>	↑	↓	↓
11. JuneJa y cols. (2017)	<b>Vitamina C</b>	↑	↓	↓
12. Malik y cols. (2014)	<b>ARE</b>	↑	x	↓
1. Babiuch y cols. (2019)	<b>SOD</b>	↓	↓	↑



1. Babiuch y cols. (2019)	<b>GR</b>	↓	↑	↓
2. Murugaiyan y cols. (2015)	<b>8-OHdG urinario</b>	↓	x	↑
4. Nayyar y cols.(2012)	<b>AOPP</b>	↓	↑	↑
11. JuneJa y cols. (2017)	<b>Oxido nitrico</b>	↓	↑	↑
2. Murugaiyan y cols. (2015)	<b>Grupos "tiol"</b>	.=	x	.=
1. Babiuch y cols. (2019)	<b>Au</b>	.=	.=	.=
1. Babiuch y cols. (2019)	<b>Gpx</b>	.=	.=	.=
1. Babiuch y cols. (2019)	<b>TAC</b>	.=	.=	.=
7. Kumar y cols.(2012)				
2. Murugaiyan y cols. (2015)		↑		
3. Mutlu y cols. (2018)	<b>CA</b>	.=	.=	x
	<b>CAT</b>			
	<b>XO</b>			

Tabla 5: Resumen de los marcadores del estrés oxidativo que influyen en los trastornos orales potencialmente malignos y el cáncer oral.

**X** : No data

**=** : No diferencia significativa entre sanos y enfermos.

**↑** : Marcador con niveles altos con respecto a los niveles de pacientes sanos.

**↓** : Marcador con niveles bajos con respecto a los niveles de pacientes sanos.

**Marcadores en negro**: Marcadores con resultados significativos.

**Marcadores en rojo**: Marcadores con resultados menos significativos.

Para empezar, según los resultados obtenidos de *Babiuch y cols. (2019)* para el marcador **GSH**, se encuentra que los niveles están más bajos en los pacientes con COCE y pacientes con leucoplasia en comparación con pacientes controles sanos. Estos resultados se confirman en el estudio de

*Metgud y cols. (2014)*. Los otros estudios de *Kumar y cols. (2012)* y *Pakfetrat y cols. (2018)* encuentran mismos resultados citados anteriormente y no tienen resultados para pacientes con TOPM.

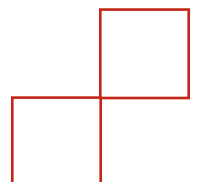
A continuación, se observa el marcador **MDA** y tenemos niveles significativamente mayor en los sujetos con cáncer oral que en pacientes sanos. Estos resultados se comprueban en las investigaciones de *Murugaiyan y cols. (2015)*, *Metgud y cols. (2014)* y *Malik y cols. (2014)*. En el estudio de *Babiuch y cols. (2019)* no encuentran diferencias significativas entre pacientes sanos, pacientes con leucoplasia y pacientes diagnosticados con COCE.

Después, los niveles séricos más bajos de **ceruloplasmina** se observan en el grupo de control sano, a medida que aumenta la gravedad de la enfermedad, los niveles séricos de ceruloplasmina también aumentan en consecuencia. Se observa estas variaciones en la investigación de *Shah y cols. (2017)* y *Patil y cols. (2021)*.

Los autores, *Kumar y cols. (2012)* y *Nandakumar y cols. (2020)* encuentran igualmente que los niveles de **8-OHdG salival** aumentan en pacientes con COCE en comparación con pacientes controles sanos.

*Babiuch y cols. (2019)* y *Pakfetrat y cols. (2018)* tienen mismos resultados para **GSH/GSSG** y encuentran que este marcador es significativamente más bajo en la saliva de pacientes con COCE y leucoplasia en comparación con individuos sanos.

Sin embargo, los mismos autores han estudiado los niveles de **GSSG** y encuentran resultados diferentes. *Babiuch y cols. (2019)* encuentran resultados significativamente más bajo en la saliva de pacientes con COCE en comparación con individuos sanos y pacientes con leucoplasia. Mientras que, *Pakfetrat y cols. (2018)* no observan diferencias significativas en los grupos de controles.



*Babiuch y cols. (2019)*, documentan niveles altos de **tGSH** en pacientes con leucoplasia como en pacientes sanos en cambio los niveles están significativamente más bajos en pacientes con COCE. Estos hallazgos, resultan ser iguales para el marcador **8-OHdG plasmático**.

En cuanto a los niveles de **PON1**, están significativamente más altos en los pacientes controles según los autores *Mutlu y cols. (2018)* y *Malik y cols. (2014)*, en comparación con cáncer oral.

Resultados sobre la **albumina** están analizados en el estudio de *Nayyar y cols. (2012)*. Se obtiene que los niveles de este marcador bajan en los pacientes con leucoplasia comparando con pacientes sanos.

Acerca de la **vitamina C**, los autores *JuneJa y cols. (2017)* encuentran que los niveles están más bajos en pacientes con COCE y TOPM mientras se encuentran altos en pacientes sanos.

El marcador **ARE**, estudiado por *Malik y cols. (2014)* tiene bajos niveles en pacientes con COCE y altos niveles en pacientes controles.

Para los marcadores **GPx** y **Au**, en el estudio de *Babiuch y cols. (2019)* no se observan diferencias significativas entre pacientes sanos, pacientes con COCE o con leucoplasia. Además, *Murugaiyan y cols. (2015)* estudian el marcador de los **grupos "tiol"** y tampoco observan diferencias significativas.

La capacidad antioxidante total (**TAC**) esta estudiado en tres estudios por los autores *Babiuch y cols. (2019)*, *Murugaiyan y cols. (2015)* y *Kumar y cols. (2012)*. Dentro de estas tres investigaciones encuentran resultados diferentes. *Murugaiyan y cols. (2015)* encuentran que los niveles de TAC bajan en pacientes con COCE y aumentan en pacientes sanos. En cuanto a *Kumar y cols. (2012)* y *Babiuch y cols. (2019)*, no encuentran diferencias significativas entre pacientes con COCE y sanos.

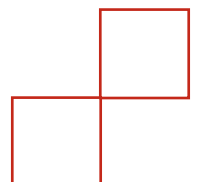


Por fin, según los resultados de Mutlu y cols. (2018) no hay diferencias significativas entre **CA**, **CAT** y **XO** cuando se comparan los niveles de enzimas de pacientes con cáncer oral y controles sanos.

#### **4. DISCUSIÓN.**

Como lo hemos visto a lo largo de la introducción, la carcinogénesis oral sigue un curso complejo de varios pasos en el que se producen una serie de cambios celulares, moleculares y bioquímicos en respuesta a diversos estímulos endógenos y exógenos. Una de las vías importantes y la que más nos interesa en nuestro estudio implica la generación de radicales libres en el micro-ambiente tumoral. En comparación con un estado fisiológico, en condiciones patológicas, se forman cantidades mucho mayores de radicales libres de lo normal. Esta alta concentración de radicales libres, lo nombramos el estrés oxidativo. En otras palabras, es una condición en la que el aumento de la concentración de ROS supera la capacidad de defensa antioxidante, lo que conduce al daño oxidativo de las moléculas. Esto da como resultado la señalización celular que conduce a la generación de cánceres. Esta señalización celular va a permitir de cuantificar el daño que se está produciendo, vamos a llamarlos los biomarcadores del estrés oxidativo.

Estos biomarcadores, además de su fácil medición en los fluidos como la sangre o la orina tienen una variabilidad de ventajas. No solo las personas que se someten a su detección tienen un mínimo de molestias sino también los ensayos de marcadores son relativamente baratos en comparación con los procedimientos radiológicos, histológicos y endoscópicos. Una de las ventajas más importante en nuestro campo de estudio es que la identificación de biomarcadores apropiados puede conducir a la detección temprana del cáncer oral. Para estar clasificados como buenos marcadores deben tener algunas características como precisión, reproducibilidad, confiabilidad, fácil de medición... Estas características conducirán a tener marcadores clínicamente útil y guiar el manejo del diagnóstico del cáncer oral.



Sin embargo, tenemos un verdadero inconveniente a estos biomarcadores es la falta de estudios sobre ellos.

A continuación vamos a entender cuales son los biomarcadores que muestran resultados prometedores en el diagnóstico, la detección temprana y el pronóstico del cáncer oral.

#### **4.1 Marcadores del estrés oxidativo con resultados más prometedores para el diagnóstico del cáncer oral.**

Uno de los marcador más estudiado y con resultado concluyente es el **GSH**. Se ha visto que juega un papel fundamental en la protección del organismo contra la toxicidad y las enfermedades al desintoxicar el peróxido de hidrógeno nocivo. También es el antioxidante soluble no enzimático más abundante. Además de todo eso tiene una capacidad reductora para varias reacciones, asimismo tiene la capacidad prevenir la acumulación de ROS. En nuestro estudio hemos encontrado niveles más bajos de GSH en pacientes con COCE con respecto a los pacientes controles sanos. Más específicamente en cuatros investigaciones. (1. *Babiuch y cols. 2019*, 7. *Kumar y cols. 2012*, 8. *Metgud y cols. 2014*, 10. *Pakfetrat y cols. 2018*). Estos resultados pueden atribuirse a una mayor utilización del GSH en la desintoxicación de carcinógenos, eliminación de radicales libres y para contrarrestar las condiciones oxidativas causadas por un aumento de ROS. Entonces este marcador merece el crédito de ser estudiado más en profundidad porque podría tener un papel importante en el diagnóstico de lesiones precancerosa y en pacientes diagnosticados con cánceres orales.

Seguimos con el secundo biomarcador más estudiado, el **MDA**. Es un biomarcador de la peroxidación de lípidos. Vemos su expresión excesiva en los sujetos con cáncer oral mientras que en pacientes sanos tiene una expresión baja. Estos resultados se comprueban en las investigaciones de *Murugaiyan y cols. (2015)*, *Metgud y cols. (2014)* y *Malik y cols. (2014)*. En desquite, en el

estudio de *Babiuch y cols. (2019)* no encuentran diferencias significativas entre pacientes sanos y pacientes diagnosticados con COCE. Estos resultados divergentes pueden ser el resultado de las diferentes técnicas de laboratorio utilizadas. En efecto, *Murugaiyan y cols. (2015)*, *Metgud y cols. (2014)* y *Malik y cols. (2014)* tienen una técnica similar de recopilación de datos mientras que *Babiuch y cols. (2019)* tienen una técnica distinta.

Los estudios de *Shah y cols. (2017)* y *Patil y cols. (2021)* tienen resultados convergentes sobre la **Ceruloplasmina sérica**. La ceruloplasmina es una proteína antioxidante eficaz, es uno de los reactivos de fase aguda, cuya concentración aumenta en el plasma después de la lesión tisular. Se observan en los dos estudios que, a medida que aumenta la gravedad de la enfermedad, los niveles séricos de ceruloplasmina también aumentan en consecuencia. Resulta que los niveles de ceruloplasmina sérica parece ser una herramienta de calidad para comprender la progresión de la enfermedad desde la mucosa normal hasta los cambios en la mucosa.

Un otro biomarcador estudiado para comprender la progresión de la enfermedad desde un individuo sano hasta condiciones de malignidad es el **8-OHdG salival**. Se encuentra que los niveles aumentan progresivamente desde pacientes sanos hasta pacientes con COCE. Este aumento de la actividad de 8-OHdG refleja el aumento del daño en el ADN y de estrés oxidativo en estas condiciones de malignidad.

En cuanto a los niveles de **GSSG**, se obtienen resultados diferentes. *Babiuch y cols. (2019)* encuentran resultados significativamente más bajo en la saliva de pacientes con COCE en comparación con individuos sanos. En cambio, *Pakfetrat y cols. (2018)* no observan diferencias significativas en los niveles de GSSG entre pacientes con COCE y en grupos sanos. Estas diferencias pueden ser por las diferentes técnicas utilizadas para la recopilación de los datos, además pueden ser por las diferencias de estilo de vida de los pacientes tanto sanos como enfermos. En efecto el estilo de vida como el consumo de alcohol y tabaco tienen una alta influencia en la producción de

radicales libres y tienden a modificar los marcadores del estrés oxidativo y empeorar los resultados.

Acerca del **GSH/GSSG** obtenemos resultados similares con un alto nivel de este marcador en los pacientes sanos y una bajada de los niveles en pacientes con COCE. Así, nuestros resultados pueden sugerir que GSH/GSSG puede ser un indicador salival útil del estrés oxidativo. (*Babiuch y cols. 2019* y *Pakfetrat y cols. 2018*)

**PON1** es un otro biomarcador sensible al daño oxidativo. Tiene como papel de eliminar el exceso de radicales libres endogenas. En los artículos de *Mutlu y cols. (2018)* y *Malik y cols. (2014)* su actividad disminuye en paciente con COCE y CCC mientras que los niveles son más altos en pacientes sanos. Seria fundamental de entender como contribuye a la eliminación de los radicales cancerígenos al fin de ayudar al diagnostico precoz cuando se nota niveles alterados.

Los siguientes marcadores citados, parecen tener un papel importante en la influencia del cáncer oral no obstante faltan estudios para tener una evidencia alta. A pesar de todo merecen de ser mencionados como biomarcadores prometedores al diagnostico del cáncer oral.

El primer biomarcador de este subgrupo es la superóxido dismutasa (**SOD**) estudiada por *Babiuch y cols. (2019)*. Es una de las enzimas antioxidantes más importantes que regulan el estado redox-celular y extracelular en condiciones normales y tumorigénicas. Los resultados obtenidos tienden a indicar una actividad significativamente mayor de SOD en pacientes con COCE en comparación con pacientes sanos.

Después **8-OHdG urinario**, un marcador endogeno del daño oxidativo del ADN, estudiado por los autores *Murugaiyan y cols. (2015)* dan resultado significativamente mayor en pacientes con COCE. Aparte de la falta de

estudios, puede ser un campo de estudio interesante.

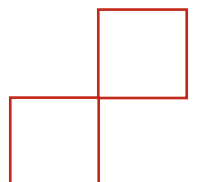
Aunque los niveles de **AOPP** en el estudio de *Nayyar y cols. (2012)*, están relativamente altos en pacientes diagnosticados con cáncer oral en comparación con pacientes sanos, no se pueden comparar con otros estudios como es la única investigación sobre este marcador. A pesar de todo parece tener la capacidad de estar referido como un marcador de diagnóstico importantes en pacientes diagnosticados con cánceres orales.

Luego el **óxido nítrico**, estudiado por *JuneJa y cols. (2017)*, encuentran niveles más bajos en el grupo control y significativamente más altos en el grupo con COCE. Por la falta de otros estudios no se puede comparar pero presenta aptitud para ser considerado como un marcador potencialmente adecuado.

**tGSH y 8-OHdG plasmático**, las dos estudiados por *Babiuch y cols. (2019)*, tienen niveles más bajos cuando los pacientes están diagnosticado con COCE. Considerando estos resultados pueden ser marcadores favorables.

En cuanto a los autores *Nayyar y cols. (2012)*, estudian la **albúmina**. Es la proteína plasmática más abundante y representa alrededor del 55 al 60% de las proteínas séricas medidas. La síntesis de albúmina tiene lugar únicamente en el hígado y se secreta a la circulación portal tan pronto como se forma. La tasa de síntesis varía con los estados nutricionales y de enfermedad. Se sabe que un pequeño número de factores dan como resultado una variación en la albúmina sérica. Por lo tanto, la albúmina puede representar cuantitativamente un componente importante en la defensa antioxidante.

También se ve unas diferencias significativas en los niveles de **vitamina C** y **ARE** en el estudio de los autores *JuneJa y cols. (2017)* y *Malik y cols. (2014)* cada uno respectivamente. Esta disminución significa de estos biomarcadores indican sus posibles contribuciones como marcadores importante en el diagnóstico el cáncer.



En la investigación se ve que hay biomarcadores que no son prometedores al día de diagnosticar un paciente con cáncer oral. El primero mencionado es un biomarcador que comprende todos los antioxidantes salivales (**TAC**). Aunque no obtenemos resultados significantes en los artículos de *Babiuch y cols. (2019)* y *Kumar y cols. (2012)* tiene una gran importancia clínica. En los presentes estudios, las diferencias en TAC entre los grupos de estudio no fueron significativas. Eso, está relacionado con el hecho de que existe una actividad creciente del sistema de defensa antioxidante en respuesta al estrés oxidativo sostenido en pacientes con patologías orales que actúan como un mecanismo defensivo compensatorio. Además puede ser por una mala recopilación de datos que nos dan resultados erróneos. En cuanto a *Murugaiyan y cols. (2015)* tienen resultados significativos, con altos niveles en pacientes sanos y bajos niveles en pacientes con COCE.

Los siguientes biomarcadores **GR, Gpx, Au, grupos "Tiol", CA, CAT, XO** no se observan ningunas diferencias significativas entre los pacientes sanos y pacientes con COCE.

#### **4.2 Marcadores del estrés oxidativo con resultados más prometedores para el diagnóstico de los TOPM.**

Como para el COCE, los niveles de **GSH** en los pacientes con lesiones precancerosas tienden a disminuir con respecto a los pacientes sanos. Estos resultados se comprueban en los estudios de *Babiuch y cols. (2019)* y *Metgud y cols. (2014)*.

Acerca del marcador **Ceruloplasmina**, se ve una actividad ascendente, desde los controles sanos hasta formas más graves de la enfermedad. Lo que podemos sacar de este hallazgo es que el cuerpo responde al daño de los radicales libres elevando la actividad antioxidante del plasma mediante niveles elevados de ceruloplasmina.

Los niveles de **GR** y **AOPP** cada uno respectivamente estudiado por *Babiuch y cols. (2019)* y *Nayyar y cols. (2012)* tienen resultados similares en las lesiones precancerosas. Tienden a tener niveles mayores en pacientes con leucoplasia y menores en pacientes sanos. Estos dos marcadores están estudiados solamente por un autor pero merecen el crédito de estar estudiado para poder comparar los resultados.

El estudio sobre **GSH/GSSG** de *Babiuch y cols. (2019)*, tienen una actividad alta en pacientes sanos. A medida que avanza la enfermedad los niveles bajan. Estos resultados pueden sugerir que GSH/GSSG puede ser un indicador útil del estrés oxidativo en estos grupos de pacientes.

Asimismo hay los mismo resultados para la proteína plasmática más abundante, la **albumina** por los autores *Nayyar y cols. (2012)*. A saber varias líneas de evidencia sugieren fuertemente que una concentración reducida de albúmina sérica, se relaciona con un mayor riesgo de mortalidad. Por lo tanto, la albúmina puede representar un componente importante.

El **óxido nítrico** estudiado por el autor *JuneJa y cols. (2017)*, tienen niveles altos en pacientes con TOPM, al contrario, los pacientes sanos tienen niveles más bajos. La vitamina C, tiene una actividad contraria, sus niveles están altos en pacientes sanos y más bajos en pacientes con TOPM.

Los biomarcadores mencionado a continuación, no tienen resultados reveladores. Tanto los pacientes sanos como los pacientes con leucoplasia o cualquiera enfermedad precancerosas tienen igual actividad de estos marcadores : **TGSH, 8-OHdG plasmático, GSSG, SOD, TAC, Gpx, Au, MDA.**

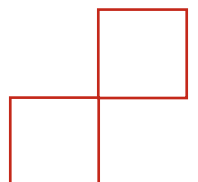
### **LIMITACIONES DEL ESTUDIO**

- Faltan muchos estudios sobre los marcadores para tener resultados con evidencia alta.
- No hay protocolos estrictos sobre la recopilación de los datos, esto puede distorsionar los resultados entre autores.

→ En las lesiones precancerosas, existen varias enfermedades. En nuestro estudio los resultados se comparan en un único grupo, podría ser más interesante estudiar la relación del estrés oxidativo en cada enfermedad individualmente.

## **5. CONCLUSIÓN.**

- La evidencia sobre los marcadores GSH, MDA, ceruloplasmina, 8-OHdG salival, urinario y plasmático, GSSG, GSH/GSSG, PON1, OD, AOPP, ácido nítrico, tGSH, albúmina, vitamina C, ARE, TAC indica que son prometedores para diagnosticar el cáncer oral.
- La evidencia sobre los biomarcadores GSH, ceruloplasmina, GR, AOPP, GSH/GSSG, albúmina, óxido nítrico, vitamina C indica que son prometedores en el diagnóstico de los trastornos orales potencialmente malignos.
- GSH, MDA, ceruloplasmina, 8-OHdG salival, urinario y plasmático, GSSG, GSH/GSSG y PON1 son los biomarcadores con mayor capacidad predictiva en el diagnóstico del cáncer oral en nuestro estudio. GSH y ceruloplasmina son los biomarcadores con mayor capacidad predictiva en el diagnóstico de los trastornos orales potencialmente malignos en nuestro estudio.



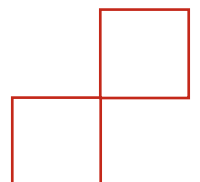


## **6. BIBLIOGRAFÍA.**

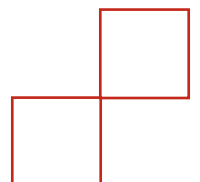
1. Pía López Jornet. Juan Manuel Seoane Lestón. CÁNCER ORAL PARA DENTISTAS. [Internet]. Primera edición. España: Fundación Dental Española; 2019. Disponible en: <https://www.consejodentistas.es/comunicacion/actualidad-del-consejo/publicaciones-del-consejo/libros-del-consejo/item/1628-cancer-oral-para-dentistas.html>
2. Alugoju Phaniendra. Dinesh Babu Jestadi. Latha Periyasamy. Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. 15 July 2014; Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4310837/>
3. Camille Migdal. Mireille Serres. Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. 2011; Volumen 27: 405-412. Disponible en: [https://www.medecinesciences.org/en/articles/medsci/full\\_html/2011/04/medsci2011274p405/medsci2011274p405.html](https://www.medecinesciences.org/en/articles/medsci/full_html/2011/04/medsci2011274p405/medsci2011274p405.html)
4. Alberto Boveris. La evolución del concepto de radicales libres en biología y medicina. 2005; Volumen 46: 85-92. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=1196506>
5. Jorge Norberto Cornejo. La Teoría de Gerschman: cuestiones históricas y epistemológicas. 2017; Volumen 2: 18-42. Disponible en: <https://revistas.unc.edu.ar/index.php/afjor/article/view/16653>
6. Alain Favier. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. 2003; 108-115. Disponible en: <https://new.societechimiquedefrance.fr/numero/le-stress-oxydant-interet-conceptuel-et-experimental-dans-la-comprehension-des-mecanismes-des-maladies-et-potentiel-therapeutique-p108-n270/>
7. J.Haleng, J.Pincemail, J.O.Defraigne, C.Charlier, J.P. Chapelle. LE STRESS OXYDANT. 2007; Volumen 62: 628-638. Disponible en: [https://www.chu.ulg.ac.be/upload/docs/application/pdf/2010-01/stress\\_oxydant\\_rmlg\\_2007.pdf](https://www.chu.ulg.ac.be/upload/docs/application/pdf/2010-01/stress_oxydant_rmlg_2007.pdf)

8. Payal Katakwar, Rashmi Metgud, Smitha Naik, Rashu Mittal. Oxidative stress marker in oral cancer: A review. 2021; Volumen 12: 438-446. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27461591/>
9. Pedro Luis Pérez Gastell, José Luis Pérez de Alejo. MÉTODOS PARA MEDIR EL DAÑO OXIDATIVO. 2000; Volumen 29: 192-198. Disponible: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0138-65572000000300007](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572000000300007)
10. [quimica.es](http://www.quimica.es). [Internet]. Disponible en: [https://www.quimica.es/enciclopedia/Grupo\\_carbonilo.html](https://www.quimica.es/enciclopedia/Grupo_carbonilo.html)
11. Aravind Kumar Subramanian, Vivek Narayan, and R. Navaneethan. Oxidative Stress and Oral Diseases. 2020; 3-12. Disponible en: [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-15-1568-2\\_1](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-15-1568-2_1)
12. Marian Valko, Dieter Leibfritz, Jan Moncol, Mark T.D. Cronin, Milan Mazur, Joshua Telser. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. 2006; Volumen 39: 44-84. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16978905/>
13. Sheetal Korde Choudhari, Minal Chaudhary, Amol R. Gadbail, Aparna Sharma, Satyajit Tekade. Oxidative and antioxidative mechanisms in oral cancer and precancer: A review. 2013; 1-9. Disponible en: [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1368837513006945?casa\\_token=2EoU2h1seQYAAAAA:gSDxHJSz6Z1RkejzPkVydABKG0ICEH HXh2bgpMzNr9JAKgspiCvjGs9hV3BqxQ0Jfy7V-cVf](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1368837513006945?casa_token=2EoU2h1seQYAAAAA:gSDxHJSz6Z1RkejzPkVydABKG0ICEH HXh2bgpMzNr9JAKgspiCvjGs9hV3BqxQ0Jfy7V-cVf)
14. Nicola Sardaro, Fedora Della Vella, Maria Angela Incalza, Dario Di Stasio, Alberta Lucchese, Maria Contaldo et al. Oxidative Stress and Oral Mucosal Diseases: An Overview. 2019; Volumen 33: 289-296. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30804105/>

15. Matthew J., Joanne E. McKenzie, Patrick M. Bossuyt, Isabelle Boutron, Tammy C. Hoffmann, Cynthia D. Mulrow, Larissa Shamseer et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. 2021;; 2-11. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s13643-021-01626-4>
16. Moola S, Munn Z, Tufanaru C, Aromataris E, Sears K, Sfetcu R et al. The Joanna Briggs Institute Critical Appraisal tools for use in JBI Systematic Reviews. THE JOANNA BRIGGS INSTITUTE. 2017;;1-7. Disponible en: [https://jbi.global/sites/default/files/2019-05/JBI\\_RCTs\\_Appraisal\\_tool2017\\_0.pdf](https://jbi.global/sites/default/files/2019-05/JBI_RCTs_Appraisal_tool2017_0.pdf)
17. Karolina Babiuch, Anna Bednarczyk, Katarzyna Gawlik, Dorota Pawlica-Gosiewska, Barbara Kęsek, Dagmara Darczuk et al. Evaluation of enzymatic and non-enzymatic antioxidant status and biomarkers of oxidative stress in saliva of patients with oral squamous cell carcinoma and oral leukoplakia: a pilot study. 2019;; 1-12. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/00016357.2019.1578409>
18. Sathish Babu Murugaiyan, Ramesh Ramasamy, M Nakkeeran, Vishwanath Rangdhol, AR Srinivasan, G Niranjan. Urinary 8-hydroxydeoxyguanosine as a marker of oxidative stress induced genetic toxicity in oral cancer patients. 2015; Volumen 26: 226-230. Disponible en: <https://www.ijdr.in/text.asp?2015/26/3/226/162880>
19. Murad Mutlua, M. Hakan Korkmazb, Ender Simsek, Emine Terzic, Beyza Ecem Oz Bedirc, Tugba Kevser Uysal. Do CO<sub>2</sub> and oxidative stress induce cancer?: a brief study about the evaluation of PON 1, CAT, CA and XO enzyme levels on head and neck cancer patients. 2018; Volumen 34: 459-461. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/14756366.2018.1555157>



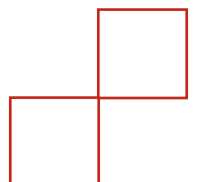
20. Abhishek Singh Nayyar, Mubeen Khan. In search of malignant transformation: A pilot study. 2012; Volumen 8: 277-281. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22842375/>
21. DR PALAK HASMUKHBHAI SHAH. Determination of role of ceruloplasmin in oral potentially malignant disorders and oral malignancy – A cross sectional study. 2017;; 1-15. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28513913/>
22. Manisha B. Patil, T. Lavanya, C. Meena Kumari, Shishir Ram Shetty, Khalid Gufran, Vipin Viswanath et al. Serum ceruloplasmin as cancer marker in oral pre-cancers and cancers. 2021;; 1-10. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8531576/>
23. Kumar A, Pant MC, Singh HS, Khandelwal S. Determinants of oxidative stress and DNA damage (8-OHdG) in squamous cell carcinoma of head and neck. 2012; Volumen 49: 309-315. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23238150/>
24. Rashmi Metgud, Saumya Bajaj. Evaluation of salivary and serum lipid peroxidation, and glutathione in oral leukoplakia and oral squamous cell carcinoma. 2014; Volumen 56: 135-142. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24930750/>
25. Arulmozhi Nandakumar, Priyadharsini Nataraj, Amritha James, Rajkumar Krishnan, Mahesh K M. Estimation of Salivary 8-Hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) as a Potential Biomarker in Assessing Progression towards Malignancy: A Case-Control Study. 2020; Volumen 21: 2325-2329. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32856861/>



26. Atessa Pakfetrat, Zohreh Dalirsani, Seyed Issac Hashemy, Ala Ghazi, Leyla Vazifeh Mostaan, Kazem Anvari et al. Evaluation of serum levels of oxidized and reduced glutathione and total antioxidant capacity in patients with head and neck squamous cell carcinoma. 2016; Volumen 14: 429-431. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29516932/>

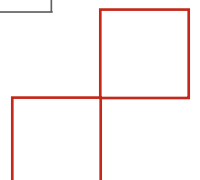
27. Saurabh Juneja, Ajit Singh Rathore, Kanika Sharma, Devicharan Shetty, Anshi Jain. Antioxidant-Oxidant Index as a Biomarker in Oral Potentially Malignant Disorders and Oral Squamous Cell Carcinoma: A Biochemical Study. 2017; Volumen 11: 5-8. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5427424/>

28. Uzma Urooj Malik, Imtiaz Ather Siddiqui, Zehra Hashim, Shamshad Zarina. Measurement of serum paraoxonase activity and MDA concentrations in patients suffering with oral squamous cell carcinoma. 2013; Volumen 430: 38-42. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24389054/>

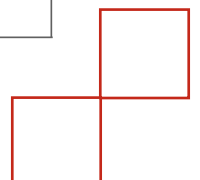


## 7. ANEXOS

		Checklist item	Reported on page
<b>TÍTULO</b>			
Título	1	Identificar la publicación revisión sistemática, metaanálisis o ambas.	1ª página
<b>RESUMEN</b>			
Resumen estructurado	2	incluir antecedentes, objetivos, fuente de los datos, criterios de elegibilidad de los estudios, participantes e intervenciones, evaluación de los estudios y métodos de síntesis, resultados, limitaciones, conclusiones e implicaciones de los hallazgos principales, número de registro de la RS.	Pag.7-8
<b>INTRODUCCIÓN</b>			
Justificación	3	Implica describir lo que se conoce del tema y comentar la necesidad de la RS haciendo referencia a la importancia del problema y a la controversia existente sobre las intervenciones que se desea revisar	Pag.26
Objetivos	4	Plantear de forma explícita las preguntas que se desea contestar en relación con los participantes, las intervenciones, las comparaciones, los resultados y el diseño de los estudios (PICOS)	Pag.26
<b>MÉTODOS</b>			
Protocolo y registro	5	Indicar si existe un protocolo de revisión al que se pueda acceder y si está disponible, la información sobre el registro, incluyendo su número de registro.	Pág.27
Criterios de elegibilidad	6	Especificar las características de los estudios (ej. Cada uno de los elementos de PICOS, duración del seguimiento) y de las características de la búsqueda (por ej años abarcados, idiomas o estatus de la publicación) utilizadas como criterios de elegibilidad y su justificación.	Pág.27
Fuentes de información	7	Describir todas las fuentes de información (por ej. las bases de datos y periodos de búsqueda, contacto con los autores para identificar estudios adicionales, etc. Y fecha de la última búsqueda realizada.	Pág.28-29
Búsqueda	8	Presentar la estrategia completa de búsqueda electrónica, en al menos una base de datos, incluyendo los límites utilizados, de tal forma que pueda ser reproducible.	Pág.29-31
Selección de los estudios	9	Especificar el proceso de selección de los estudios con los criterios de inclusión y exclusión. Definir la elegibilidad de los estudios incluidos en la RS y cuando sea pertinente en el MA.	Pág. 29-31
Proceso de extracción de datos	10	Describir los métodos para la extracción de datos de las publicaciones (por ej. Formularios pilotados por duplicado y de forma independiente) y cualquier proceso para obtener y confirmar datos por parte de los investigadores	Pág. 31

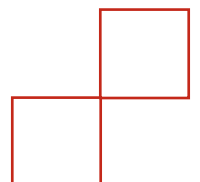


Lista de datos	11	Listar y definir todas las variables para las que se buscaron datos (por ej. PICOS, fuente de financiación) y cualquier asunción o simplificación que se haya hecho.	31
Riesgo de sesgo en los estudios	12	Describir los métodos utilizados para evaluar el riesgo de sesgo de los estudios individuales (especificar si se realizó a nivel de estudios o de resultados) y cómo esa información se ha utilizado en la síntesis de datos.	Pág. 31-32
Medidas de resumen	13	Especificar las principales medidas de resumen (por ej. razón de riesgos o diferencia de medias)	/
Síntesis de resultados	14	Describir los métodos para manejar los datos y combinar resultados de los estudios, cuando esto es posible, incluyendo medidas de consistencia para cada MA.	/
Riesgo de sesgo entre los estudios	15	Especificar cualquier evaluación del riesgo de sesgo que pueda afectar la evidencia acumulativa (por ej. sesgo de publicación o comunicación selectiva)	Pág. 32
Análisis adicionales	16	Describir los métodos adicionales de análisis (por ej. análisis de sensibilidad o de subgrupos metarregresión) en el caso de que se hiciera, indicar cuales fueron pre-especificados.	/
<b>RESULTADOS</b>			
Selección de estudios	17	Facilitar el número de estudios cribados, evaluados para su elegibilidad e incluidos en la RS, y detallar las razones para su exclusión en cada etapa, idealmente mediante un diagrama de flujos. El diagrama de flujo se convierte en un elemento esencial en las RS, en donde se valora el número de registros en cada etapa: identificación, cribado, elegibilidad e inclusión.	Pág. 33
Características de los estudios	18	Para cada estudio presentar las características para las que se extrajeron datos (por ej. tamaño, PICOS y duración del seguimiento) y proporcionar las citas bibliográficas.	Pág. 34-37 Tabla 1
Riesgo de sesgo en los estudios	19	Presentar datos sobre el riesgo de sesgo en cada estudio y si está disponible cualquier evaluación de sesgo en los resultados (ver ítem 12).	Pág. 38-39 Tabla 2
Resultados de los estudios individuales	20	Para cada resultado considerado en cada estudio (beneficios o daños) presentara a) el dato resumen para cada grupo de intervención, b) la estimación del efecto con su intervalo de confianza, idealmente en forma gráfica mediante un diagrama de bosque (forest plot).	39-44 tabla 3 y 4
Síntesis de resultados	21	Presentar los resultados de todos los MA realizados, incluyendo los intervalos de confianza y las medidas de consistencia.	44-49 Tabla 5



Riesgo de sesgo entre sujetos	22	Presentar los resultados de cualquier evaluación del riesgo de sesgo entre los estudios (ver Item 15).	/
Análisis adicionales	23	Facilitar los resultados de cualquier análisis adicional, en el caso de que haya sido realizado (por ej. análisis de sensibilidad o de subgrupos, metarregresión) [ver Item 16]).	/
<b>DISCUSIÓN</b>			
Resumen de la evidencia	24	Resumir los hallazgos principales, incluyendo la fortaleza de las evidencias para cada resultado principal; considerar su relevancia para grupos clave (por ej. proveedores cuidados, usuarios y decisores en salud).	Pág. 49-53
Limitaciones	25	Discutir las limitaciones de los estudios y de los resultados (p ej. Riesgo de sesgo) y de la revisión (por ej. obtención incompleta de los estudios identificados o comunicación selectiva).	Pag.55
Conclusiones	26	Proporcionar una interpretación general de los resultados en el contexto de otras evidencias, así como las implicaciones para la futura investigación. En las RS/MA es esencial los apartados finales de “implicaciones para la práctica clínica” e “implicaciones para la investigación”	Pag.56
<b>FINANCIACIÓN</b>			
Funding	27	Describir las fuentes de financiación de la RS y otro tipo de apoyos (por ej. aporte de los datos), así como el papel de los financiadores.	/

#### ANEXO 1: PRISMA Checklist





# **ESTRÉS OXIDATIVO COMO POSIBLE MARCADOR DEL CÁNCER ORAL. REVISIÓN SISTEMÁTICA.**

Claudia HOLTZ<sup>1</sup>, Antonio PELLIN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Estudiante en grado de odontología en Universidad Europea de Valencia, Facultad de ciencia & salud.

<sup>2</sup>Profesor titular, Facultad de ciencia & salud, departamento de odontología, Universidad Europea de Valencia.

*Correspondencia:*

*Universidad Europea de Valencia*

*Paseo alameda, 7*

*46010- Valencia, España*

*claudiaholtz@orange.fr*

## **ABSTRACT**

**BACKGROUND:** In recent years, there is a growing curiosity to study new search areas to improve cancer prognosis. A new concept has invaded the world of biological and medical sciences. It is the study of the role of free radicals and oxidative stress. Indeed, free radicals play a fundamental role in various physiological conditions, as well as their participation in a wide range of diseases. Thanks to advanced scientists, biomarkers of oxidative stress can be studied. These biomarkers, in addition to their easy measurement in human fluids, have a variability of advantages. One of the most important advantages in our field of study is that the identification of appropriate biomarkers can lead to early diagnosis of oral cancer. The main objective of the research is to know the promising oxidative stress biomarkers for the diagnosis of oral cancer and potentially malignant oral disorders.

**MATERIAL AND METHOD:** This systematic review is carried out following the 27 items of the systematic reviews and meta-analyses of the PRISMA statement. The bibliographic search is carried out mainly through 3 databases: PubMed, Lilacs and Scopus from November 2021 to February 2022.

**RESULTS:** 12 studies published in English are included in the study. Thanks to the checklist of the Joanna Briggs institute of cases and controls, the bias study of the twelve articles was carried out. Different tables compare the activity of biomarkers in healthy patients, patients with oral cancer and precancerous lesions.

**CONCLUSIONS:** The markers GSH, MDA, Ceruloplasmin, salivary, urinary and plasma 8-OHdG, GSSG, GSH/GSSG and PON1 have a strong influence on the reflection of the oral cancer development. GSH, Ceruloplasmin, GR, AOPP, GSH/GSSG, Albumin, Nitric Oxide, Vitamin C are significant diagnostic markers in patient diagnosed with precancerous lesions.

**KEYWORDS:** free radicals, oxidative stress, oral cancer, precancerous lesions, biomarkers, diagnosis.

## **INTRODUCCIÓN**

En los últimos años, existe una curiosidad cada vez mayor para estudiar nuevas áreas de búsqueda para mejorar el pronóstico del cáncer. Un nuevo concepto ha invadido el mundo de las ciencias biológicas y médicas: el estudio del papel de los radicales libres y del estrés oxidativo. En efecto los radicales libres tienen un papel fundamental en diversas condiciones fisiológicas, así como su participación en una amplia gama de

1 enfermedades como diabetes mellitus, trastornos neurodegenerativos,[...], enfermedades  
2 respiratorias y lo que más nos interesa el desarrollo de cánceres. Por lo tanto, al necesitar  
3 una cierta cantidad de especies reactivas de oxígeno para su buen funcionamiento, el  
4 cuerpo no busca destruirlas sino controlar su nivel para evitar el estrés oxidativo.

5 Actualmente, gracias a los avances científicos, los biomarcadores del estrés  
6 oxidativo se pueden estudiar y evaluar en diversos fluidos biológicos, como la sangre, la  
7 saliva o la orina. Lo que nos ayuda para comprender y diagnosticar diversas  
8 enfermedades orales y su asociación con el estrés oxidativo. El estudio del mecanismo de  
9 acción de los radicales libres se está convirtiendo en una meta fundamental y debe tender  
10 a la búsqueda de biomarcadores que permitan terapias personalizadas, con el fin de  
11 incrementar la tasa de supervivencia (1;2).

12 En efecto, los radicales libres están presentes en las células en dosis fisiológicas.  
13 Su concentración está regulada por su tasa de producción y su tasa de eliminación  
14 gracias a los sistemas antioxidantes, que mantienen el equilibrio. Sin embargo, la  
15 homeostasis puede romperse, ya sea por una producción excesiva de radicales libres o  
16 por una reducción de las capacidades antioxidantes. Esto se llama el estrés oxidativo.  
17 Este desequilibrio puede ser regulado por la respuesta antioxidante de la célula entonces  
18 solo será un desequilibrio transitorio. En desquite, en determinadas situaciones  
19 patológicas, la producción de radicales libres es mayor y prolongada, y la respuesta  
20 antioxidante es insuficiente. Entonces el desequilibrio persiste en el tiempo (2). Esta  
21 ruptura de la homeostasis puede tener diferentes orígenes como el estilo de vida, los  
factores ambientales y el mecanismo bioquímico (1;3).

### *Mecanismo de acción de las especies reactivas del oxígeno en cáncer.*

22 Antes que nada, el cáncer oral es un término amplio bajo el cual se clasifican  
23 muchas formas. El tipo más común de cáncer oral es el carcinoma oral de células  
24 escamosas (COCE) . Por otra parte es importante de entender que el COCE es la  
25 finalidad de la enfermedad pero antes de que un pacientes padece un cáncer, existen  
26 otros tipos de lesiones que son llamadas “trastornos orales potencialmente  
27 malignas” (TOPM) (4).

28 Como ya sabemos, los radicales libres provocan diferentes tipos de cambios  
29 químicos en el ADN, por lo que podrían ser mutagénicos e implicados en la etiología del  
30

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
cáncer. Las células cancerosas, en comparación con las células normales, tienen niveles más altos de ROS (especies reactivas del oxígeno) y son más susceptibles a la disfunción mitocondrial debido a su mayor tasa metabólica. Así, se han observado niveles elevados de estrés oxidativo y lesiones oxidadas del ADN en varios tumores, lo que implica fuertemente los radicales libres en la etiología del cáncer (1;5). Se puede explicar la carcinogénesis en tres etapas: iniciación, promoción y progresión y en cada de estas etapas las ROS están involucradas (6). (ANEXO1).

### Justificación.

8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
Para entender mejor uno de los problemas de salud oral más importante de esta década, es necesario conocer los biomarcadores pertinentes del estrés oxidativo que están involucrados en la patogénesis del cáncer oral. Así se va a aportar a la comunidad científica toda la información actualizada sobre este tema para mejorar la terapia del cáncer y desarrollar protocolos más precisos al día de diagnosticar un paciente con cáncer oral. En efecto, para prevenir un cáncer oral debemos reconocer de manera sencilla las lesiones precancerosas que son por la mayoría el inicio de una malignidad. Hoy en día existen otros métodos, pero podemos dar la oportunidad a los marcadores del estrés oxidativo que se están convirtiendo en una meta fundamental. Además de ser accesible con un simple estudio analítico, o urinario, pueden dar resultados muy precisos sobre la evolución de la enfermedad. Todo este enfoque tiene un único objetivo: incrementar la tasa de supervivencia de los pacientes con cáncer oral gracias a un diagnóstico precoz. La hipótesis del presente trabajo considera que el cáncer oral tiene una relación estrecha con algunos marcadores específicos del estrés oxidativo.

### Objetivos.

23  
24  
25  
*Principal:* Conocer los biomarcadores del estrés oxidativo prometedores para el diagnóstico del cáncer oral y trastornos orales potencialmente malignos.

#### *Específicos:*

- 26  
27  
28  
29  
30
- a. Identificar cuáles son los marcadores del estrés oxidativo relevantes en el diagnóstico del cáncer oral y trastornos orales potencialmente malignos.
  - c. Evaluar la capacidad productiva de los marcadores del estrés oxidativo conocidos en el diagnóstico del cáncer oral y trastornos orales potencialmente malignos.

## MATERIAL Y MÉTODO

---

Esta revisión sistemática se realiza siguiendo los 27 ítems de las revisiones sistemáticas y meta-análisis de la declaración PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-analyses) publicado en 2020 (15). Para la elaboración de la pregunta de investigación y los criterios de elegibilidad se usa el acrónimo P.I.C.O. Patología: cáncer oral y trastornos orales potencialmente malignos; Intervención: Marcadores del estrés oxidativo; Resultados: Capacidad de los marcadores para identificar correctamente las patologías. De esta pregunta P.I.C.O se saca la pregunta de investigación de la revisión sistemática: Cuáles son los marcadores del estrés oxidativo prometedores para el diagnóstico del cáncer oral y los trastornos orales potencialmente malignos?

Para la elegibilidad de los artículos se incluyen y excluyen criterios ya predefinidos antes de la búsqueda. (ANEXO2). Acerca de la selección de artículos, se desarrolla una estrategia específica y similar dentro de las 3 bases de datos mencionadas anteriormente: Pubmed, Lilacs y Scopus. En total, acumulando las bases de datos, tenemos 12 artículos, buscados desde noviembre 2021 hasta febrero 2022. Se puede ver el resumen en el ANEXO 3. La validez de los artículos sigue la checklist del Instituto Joanna Briggs (JBI). Es una organización internacional de investigación basada en la evidencia. Este programa de lectura crítica tiene 10 preguntas que pueden ser respondidas rápidamente a modo de checklist con 4 respuestas posibles : “sí” , “no” , “no claro” , “no se puede responder“. (16) En cuanto a los métodos utilizados para evaluar la confianza se mira el número de citación de cada artículo.

## RESULTADOS

---

Algunos artículos están descartados aunque tienen muchos criterios de inclusión. La mayoría es porque hacen investigaciones en animales, este criterio de inclusión es una decisión propia a los autores de la revisión sistemática, además de ser estudios con menor evidencia. A parte de este criterio de inclusión limitante, los otros criterios no restringen tanto la elección de los artículos. Se quitan también los estudios con investigación sobre el cáncer en general y que no nos dan datos por separado de la cavidad bucal para tener resultados más específicos en cuanto a los marcadores del estrés oxidativo. Además, haciendo los resultados, se descartan 4 artículos que tienen palabras claves, títulos, abstractos coherentes con la presente revisión pero con la lectura

1 atenta de la totalidad del estudio, se ve que son estudios sobre marcadores genéticos del  
 2 estrés oxidativo.

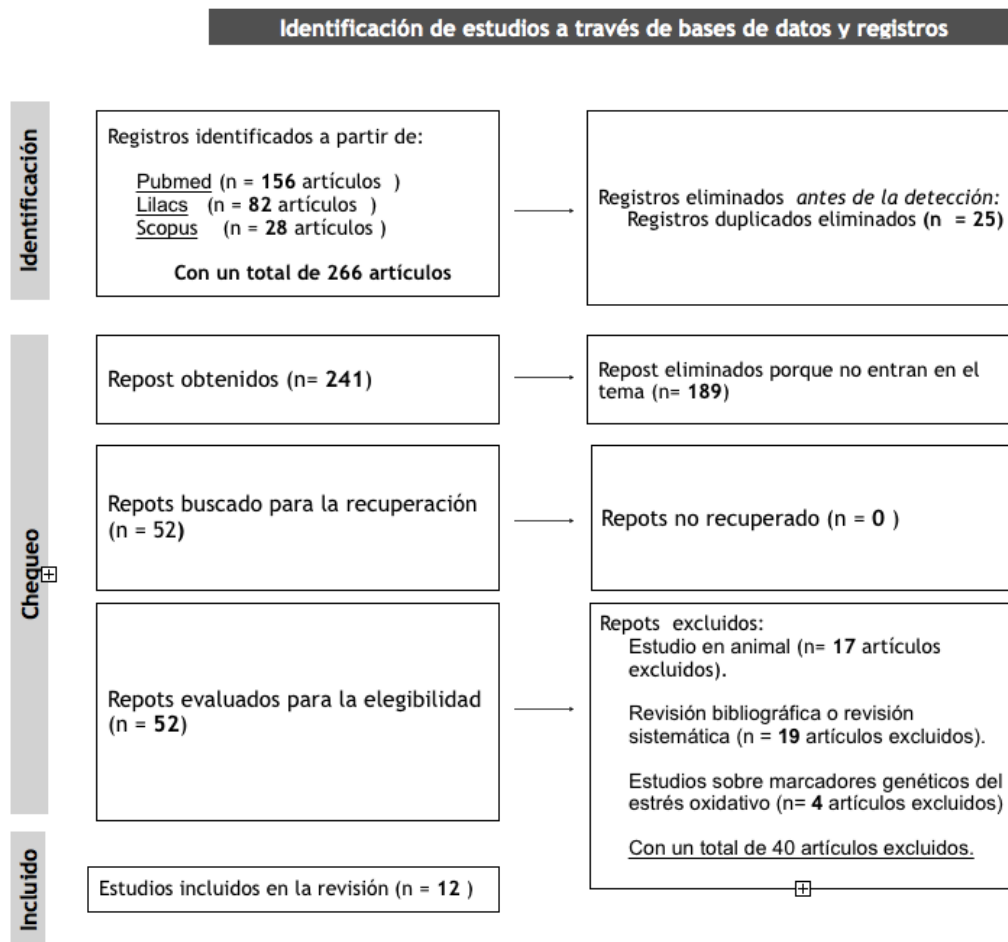


Figura 1 : Diagrama de flujo PRISMA 2020 para nuevas revisiones sistemáticas que incluyen búsquedas de sólo bases de datos y registros

3 Se incluyen 12 estudios publicados en inglés. Se puede identificar que la muestra  
 4 de los estudios se encuentra entre 40 y 300 pacientes. Para el análisis de los resultados  
 5 de los estudios se analizan los marcadores del estrés oxidativo encontrado en los  
 6 pacientes con TOPM y con cáncer oral. Se señala la metodología para estudiar estos  
 7 biomarcadores del estrés oxidativo. Para la elaboración de las características de los  
 8 estudios se elabora una tabla que incluye : Autores, año, características de los pacientes  
 9 y muestra, biomarcadores, lugar de recopilación de los marcadores, medición de los  
 10 biomarcadores, tipo de estudio, criterio de exclusión del estudio. La totalidad de los  
 11 artículos son casos clínicos.

12 Gracias a la checklist de la Joanna Briggs institute de casos y controles se realiza

el estudio de sesgo de los doce artículos. El resultado de los doce artículos es que nueve de ellos tienen el puntaje máximo de 10/10. (1;2;4;6;8;9;10;11;12). En cuanto a los otros estudios se obtiene un puntaje de 9/10. (3;5;7) En efecto, los estudios que no tienen la totalidad de la puntuación son los que no tienen criterios claros de inclusión (ANEXO 4).

Artículos	Marcadores del estrés oxidativo	Sanos	TOPM (leucoplasia)	COCE CCC
1. Babiuch y cols.(2019)	<b>GSH</b>	↑	↓	↓
8. Metgud y cols. (2014)			x	
7. Kumar y cols. (2012)				
10. Pakfetrat y cols.(2018)				
2. Murugaiyan y cols.(2015)	<b>MDA</b>	↓	x	↑
8. Metgud y cols. (2014)				
12. Malik y cols. (2014)				
1. Babiuch y cols.(2019)		.=	.=	.=
5. Shah y cols. (2017)	<b>Ceruloplasmina</b>	↓	↑	↑
6. Patil y cols. (2021)				
7. Kumar y cols. (2012)	<b>8-OHdG salival</b>	↓	x	↑
9. Nandakumar y cols.(2020)				
1. Babiuch y cols. (2019)	<b>GSH/GSSG</b>	↑	↓	↓
10. Pakfetrat y cols.(2018)			x	
1. Babiuch y cols.(2019)	<b>GSSG</b>	↑	↑	↓
10. Pakfetrat y cols.(2018)			x	
1. Babiuch y cols.(2019)	<b>8-OHdG plasmático</b>	↑	↑	↓
1. Babiuch y cols.(2019)	<b>tGSH</b>	↑	↑	↓
3. Mutlu y cols. (2018)	<b>PON1</b>	↑	x	↓
12. Malik y cols. (2014)				
4. Nayyar y cols. (2012)	<b>Albumina</b>	↑	↓	↓
11. JuneJa y cols.(2017)	<b>Vitamina C</b>	↑	↓	↓
12. Malik y cols. (2014)	<b>ARE</b>	↑	x	↓
1. Babiuch y cols.(2019)	<b>SOD</b>	↓	↓	↑
1. Babiuch y cols.(2019)	<b>GR</b>	↓	↑	↓

2. Murugaiyan y cols.(2015)	<b>8-OHdG urinario</b>	↓	x	↑
4. Nayyar y cols.(2012)	<b>AOPP</b>	↓	↑	↑
11. JuneJa y cols. (2017)	<b>Oxido nitrico</b>	↓	↑	↑
2. Murugaiyan y cols.(2015)	<b>Grupos "tiol"</b>	.=	x	.=
1. Babiuch y cols.(2019)	<b>Au</b>	.=	.=	.=
1. Babiuch y cols.(2019)	<b>Gpx</b>	.=	.=	.=
1. Babiuch y cols.(2019)	<b>TAC</b>	.=	.	.=
7. Kumar y cols.(2012)		.=		.=
2. Murugaiyan y cols. (2015)		↑	x	↓
3. Mutlu y cols. (2018)	<b>CA</b>	.	.	x
	<b>CAT</b>			
	<b>XO</b>			

Tabla 1: Resumen de los potenciales marcadores del estrés oxidativo prometedores en el diagnóstico de los trastornos orales potencialmente malignos y el cáncer oral. Leyenda (ANEXO 5)

## DISCUSIÓN

Como lo hemos visto a lo largo de la introducción, la carcinogénesis oral sigue un curso complejo de varios pasos en el que se producen una serie de cambios celulares, moleculares y bioquímicos en respuesta a diversos estímulos. Una de las vías importantes y la que más nos interesa en nuestro estudio implica la generación de radicales libres en el micro-ambiente tumoral. En comparación con un estado fisiológico, en condiciones patológicas, se forman cantidades mucho mayores de radicales libres de lo normal y forma el estrés oxidativo. Esto da como resultado la señalización celular que conduce a la generación de cánceres. Esta señalización celular va a permitir cuantificar el daño que se está produciendo, vamos a llamarlos los biomarcadores del estrés oxidativo. Estos biomarcadores, además de su fácil medición en los fluidos como la sangre o la orina, tienen una variabilidad de ventajas. No solo las personas que se someten a su detección tienen un mínimo de molestias sino también los ensayos de marcadores son relativamente baratos en comparación con los procedimientos radiológicos, histológicos y endoscópicos. Una de las ventajas más importante en nuestro campo de estudio es que la identificación de biomarcadores apropiados puede conducir a la detección temprana del cáncer oral. Para estar clasificados como buenos marcadores deben tener algunas características como precisión, reproducibilidad... Estas características conducirán a tener marcadores clínicamente útiles y guiar el manejo del diagnóstico del cáncer oral. Sin

1 embrago, tenemos un verdadero inconveniente a estos biomarcadores es la falta de  
2 estudios sobre ellos. A continuación vamos a entender cuales son los biomarcadores que  
3 muestran resultados prometedores en el diagnóstico, la detección temprana y el  
4 pronóstico del cáncer oral.

5 Uno de los marcadores más estudiados y con resultados concluyentes es el **GSH**.  
6 Se ha visto que juega un papel fundamental en la protección del organismo contra la  
7 toxicidad y las enfermedades al desintoxicar el peróxido de hidrógeno nocivo. Además  
8 tiene una capacidad reductora para varias reacciones, asimismo tiene la capacidad de  
9 prevenir la acumulación de ROS. En nuestro estudio hemos encontrado niveles más bajos  
10 de GSH en pacientes con COCE y TOPM con respecto a los pacientes controles sanos.  
11 Más específicamente en cuatro investigaciones. (1. Babiuch y cols. 2019, 7. Kumar y cols.  
12 2012, 8. Metgud y cols. 2014, 10. Pakfetrat y cols. 2018) para COCE y en dos estudios de  
13 *Babiuch y cols. (2019)* y *Metgud y cols. (2014)* para los TOPM. Estos resultados pueden  
14 atribuirse a una mayor utilización del GSH en la desintoxicación de carcinógenos,  
15 eliminación de radicales libres y para contrarrestar las condiciones oxidativas causadas  
16 por un aumento de ROS. Entonces este marcador merece el crédito de ser estudiado más  
17 en profundidad porque podría tener un papel importante en el diagnóstico de lesiones  
18 precancerosa y en pacientes diagnosticados con cánceres orales.

19 Seguimos con el segundo biomarcador más estudiado, el **MDA**. Es un biomarcador  
20 de la peroxidación de lípidos. Vemos su expresión excesiva en los sujetos con cáncer oral  
21 mientras que en pacientes sanos tiene una expresión baja. Estos resultados se  
22 comprueban en las investigaciones de *Murugaiyan y cols. (2015)*, *Metgud y cols. (2014)* y  
23 *Malik y cols. (2014)*. En desquite, en el estudio de *Babiuch y cols. (2019)* no se  
24 encuentran diferencias significativas entre pacientes sanos, pacientes con leucoplasia y  
25 pacientes diagnosticados con COCE. Estos resultados divergentes pueden ser el  
26 resultado de las diferentes técnicas de laboratorio utilizadas. En efecto, *Murugaiyan y*  
27 *cols. (2015)*, *Metgud y cols. (2014)* y *Malik y cols. (2014)* tienen una técnica similar de  
28 recopilación de datos mientras que Babiuch y cols. (2019) tienen una técnica distinta.

29 Los estudios de *Shah y cols. (2017)* y *Patil y cols. (2021)* tienen resultados  
30 convergentes sobre la **ceruloplasmina sérica**. La ceruloplasmina es una proteína



1 antioxidante eficaz, es uno de los reactivos de fase aguda, cuya concentración aumenta  
2 en el plasma después de la lesión tisular. Se observan en los dos estudios que, a medida  
3 que aumenta la gravedad de la enfermedad, los niveles séricos de ceruloplasmina  
4 también aumentan en consecuencia. Resulta que los niveles de ceruloplasmina sérica  
5 parece ser una herramienta de calidad para comprender la progresión de la enfermedad  
6 desde la mucosa normal hasta los cambios en la mucosa.

7 Un otro biomarcador estudiado para comprender la progresión de la enfermedad  
8 desde un individuo sano hasta condiciones de malignidad son los niveles de **8-OHdG**  
9 **salival**. Se encuentra que los niveles aumentan progresivamente desde pacientes sanos  
10 hasta pacientes con COCE. Este aumento de la actividad de 8-OHdG refleja el aumento  
11 del daño en el ADN y de estrés oxidativo en estas condiciones de malignidad. No hay  
12 datos sobre los TOPM.

13 En cuanto a los niveles de **GSSG**, se obtienen resultados diferentes. *Babiuch y*  
14 *cols. (2019)* encuentran resultados significativamente más bajo en la saliva de pacientes  
15 con COCE en comparación con individuos sanos. En cambio, *Pakfetrat y cols. (2018)* no  
16 observan diferencias significativas en los niveles de GSSG entre pacientes con COCE y  
17 en grupos sanos. Estas diferencias pueden ser por las diferentes técnicas utilizadas para  
18 la recopilación de los datos, además pueden ser por las diferencias de estilo de vida de  
19 los pacientes, tanto sanos como enfermos. En efecto el estilo de vida como el consumo  
20 de alcohol y tabaco tienen una alta influencia en la producción de radicales libres y  
21 tienden a modificar los marcadores del estrés oxidativo y empeorar los resultados. Acerca  
22 de los TOPM, *Babiuch y cols. (2019)*, no mencionan diferencias de actividad de GSSG  
23 entre pacientes sanos y con leucoplasia. Puede ser que la actividad de este marcador  
24 tiende a bajar una vez que el cancer oral ya esta bien establecida y no cambia su  
25 actividad en TOPM.

26 Acerca del **GSH/GSSG** obtenemos resultados similares con un alto nivel de este  
27 marcador en los pacientes sanos y una bajada de los niveles en pacientes con COCE y  
28 con leucoplasia . Así, nuestros resultados pueden sugerir que GSH/GSSG puede ser un  
29 indicador salival útil del estrés oxidativo tanto en pacientes con COCE (*Babiuch y cols.*  
30 *2019 y Pakfetrat y cols. 2018*) y en pacientes con TOPM según *Babiuch y cols. (2019)*

1           **PON1** es un otro biomarcador sensible al daño oxidativo. Tiene como papel de  
2 eliminar el exceso de radicales libres endógenas. En los artículos estudiados de *Mutlu y*  
3 *cols. (2018)* y *Malik y cols. (2014)* su actividad disminuye en paciente con COCE y CCC  
4 (Cáncer de cabeza y cuello) mientras que los niveles son más altos en pacientes sanos.  
5 Sería fundamental entender como contribuye a la eliminación de los radicales  
6 cancerígenos a fin de ayudar al diagnóstico precoz cuando se nota niveles alterados.

7           Los siguientes marcadores citados, parecen tener un papel importante en el cáncer  
8 oral, no obstante faltan estudios para tener una evidencia alta. A pesar de todo merecen  
9 de ser mencionados en los biomarcadores prometedores en el diagnóstico del cáncer  
10 oral: **SOD; 8-OHdG urinario; AOPP; oxido nítrico; tGSH; 8-OHdG plasmático;**  
11 **albúmina; Vitamina C; ARE.** Además los biomarcadores, **albúmina, oxido nítrico, La**  
12 **vitamina C, GR, AOPP** parecen representar un componente importante en el manejo del  
13 diagnóstico de las lesiones precancerosas pero faltan estudios para tener una evidencia  
14 alta.

15           Todos los otros biomarcadores no mencionados a lo largo de la discusión, no  
16 tienen resultados reveladores. No tienen diferencias significativas entre pacientes sanos,  
17 pacientes con TOPM y/o cáncer oral. No parecen ser prometedores al día de diagnosticar  
18 un paciente con trastornos orales.

19           La evidencia sobre los marcadores GSH, MDA, ceruloplasmina, 8-OHdG salival,  
20 urinario y plasmático, GSSG, GSH/GSSG, PON1, OD, AOPP, ácido nítrico, tGSH,  
21 albúmina, vitamina C, ARE, TAC indica que son prometedores para diagnosticar el cáncer  
22 oral. Además, la evidencia sobre los biomarcadores GSH, ceruloplasmina, GR, AOPP,  
23 GSH/GSSG, albúmina, oxido nítrico, vitamina C indica que son prometedores en el  
24 diagnóstico de los trastornos orales potencialmente malignos. GSH, MDA, ceruloplasmina,  
25 8-OHdG salival, urinario y plasmático, GSSG, GSH/GSSG y PON1 son los biomarcadores  
26 con mayor capacidad predictiva en el diagnóstico del cáncer oral en nuestro estudio. GSH  
27 y ceruloplasmina son los biomarcadores con mayor capacidad predictiva en el diagnóstico  
28 de los TOPM en nuestro estudio.

### Limitaciones del estudio

→ Faltan muchos estudios sobre los marcadores para tener resultados con evidencia alta.

→ No hay protocolos estrictos sobre la recopilación de los datos, esto puede distorsionar los resultados entre autores.

→ En las lesiones precancerosas, existen varias enfermedades. En nuestro estudio los resultados se comparan en un único grupo, podría ser más interesante estudiar la relación del estrés oxidativo en cada enfermedad individualmente.

## BIBLIOGRAFIA

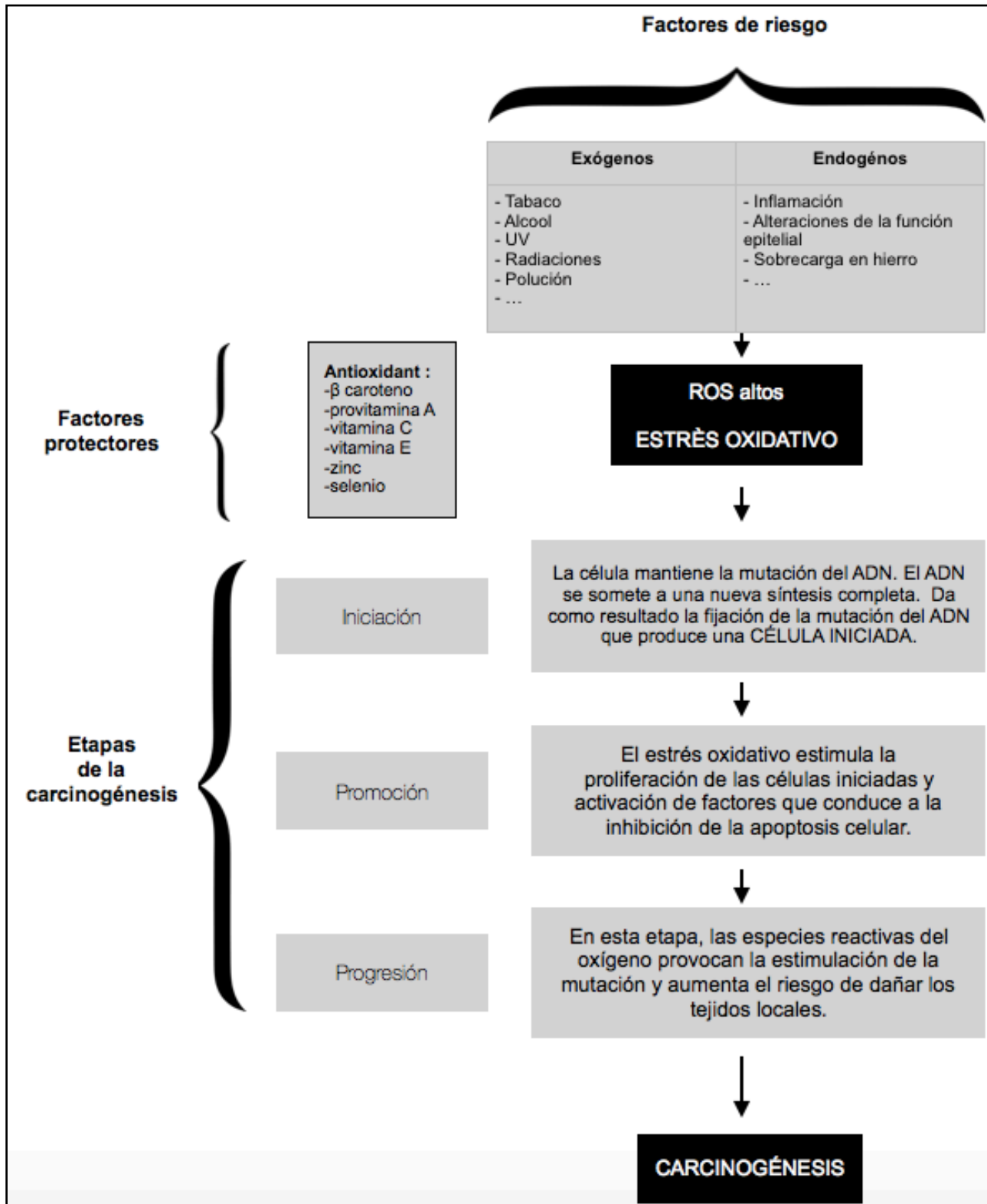
---

1. Alugoju Phaniendra, Dinesh Babu Jestadi, Latha Periyasamy. Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. 2014;
2. Camille Migdal, Mireille Serres. Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. 2011; Volumen 27: 405-412.
3. J.Haleng, J.Pincemail, J.O.Defraigne, C.Charlier, J.P. Chapelle. LE STRESS OXYDANT. 2007; Volumen 62: 628-638.
4. Aravind Kumar Subramanian, Vivek Narayan, and R. Navaneethan. Oxidative Stress and Oral Diseases. 2020; 3-12.
5. Marian Valko, Dieter Leibfritz, Jan Moncol, Mark T.D. Cronin, Milan Mazur, Joshua Telser. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. 2006; Volumen 39: 44-84.
6. Sheetal Korde Choudhari, Minal Chaudhary, Amol R. Gadail, Aparna Sharma, Satyajit Tekade. Oxidative and antioxidative mechanisms in oral cancer and precancer: A review. 2013; 1-9.
7. Alain Favier. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. 2003; 108-115.
8. Payal Katakwar, Rashmi Metgud, Smitha Naik, Rashu Mittal. Oxidative stress marker in oral cancer: A review. 2021; Volumen 12: 438-446.
9. Matthew J., Joanne E. McKenzie, Patrick M. Bossuyt, Isabelle Boutron, Tammy C. Hoffmann, Cynthia D. Mulrow, Larissa Shamseer et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. 2021; 2-11.
10. Moola S, Munn Z, Tufanaru C, Aromataris E, Sears K, Sfetcu R et al. The Joanna Briggs Institute Critical Appraisal tools for use in JBI Systematic Reviews. The Joanna Briggs institute. 2017;:1-7.
11. Karolina Babiuch, Anna Bednarczyk, Katarzyna Gawlik, Dorota Pawlica- Gosiewska, Barbara Kęsek, Dagmara Darczuk et al. Evaluation of enzymatic and non-enzymatic antioxidant status and biomarkers of oxidative stress in saliva of patients with oral squamous cell carcinoma and oral leukoplakia: a pilot study. 2019;: 1-12.

- 1 12. Sathish Babu Murugaiyan, Ramesh Ramasamy, M Nakkeeran, Vishwanath Rangdhol, AR Srinivasan, G Niranjan.  
2 Urinary 8-hydroxydeoxyguanosine as a marker of oxidative stress induced genetic toxicity in oral cancer patients.  
3 2015; Volumen 26: 226-230.
- 4 13. Murad Mutlua, M. Hakan Korkmazb, Ender Simsekc, Emine Terzic, Beyza Ecem Oz Bedirc, Tugba Kevser Uysal. Do  
5 CO<sub>2</sub> and oxidative stress induce cancer?: a brief study about the evaluation of PON 1, CAT, CA and XO enzyme  
6 levels on head and neck cancer patients. 2018; Volumen 34: 459-461.
- 7 14. Abhishek Singh Nayyar, Mubeen Khan. In search of malignant transformation: A pilot study. 2012; Volumen 8:  
8 277-281.
- 9 15. DR PALAK HASMUKHBHAI SHAH. Determination of role of ceruloplasmin in oral potentially malignant disorders and  
10 oral malignancy – A cross sectional study. 2017;;: 1-15.
- 11 16. Manisha B. Patil, T. Lavanya, C. Meena Kumari, Shishir Ram Shetty, Khalid Gufran, Vipin Viswanath et al. Serum  
12 ceruloplasmin as cancer marker in oral pre-cancers and cancers. 2021;;: 1-10.
- 13 17. Kumar A, Pant MC, Singh HS, Khandelwal S. Determinants of oxidative stress and DNA damage (8-OHdG) in  
14 squamous cell carcinoma of head and neck. 2012; Volumen 49: 309-315.
- 15 18. Rashmi Metgud, Saumya Bajaj. Evaluation of salivary and serum lipid peroxidation, and glutathione in oral  
16 leukoplakia and oral squamous cell carcinoma. 2014; Volumen 56: 135-142.
- 17 19. Arulmozhi Nandakumar, Priyadharsini Nataraj, Amritha James, Rajkumar Krishnan, Mahesh K M. Estimation of  
18 Salivary 8-Hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) as a Potential Biomarker in Assessing Progression towards  
19 Malignancy: A Case-Control Study. 2020; Volumen 21: 2325-2329.
- 20 20. Atessa Pakfetrat, Zohreh Dalirsani, Seyed Issac Hashemy, Ala Ghazi, Leyla Vazifeh Mostaan, Kazem Anvari et al.  
21 Evaluation of serum levels of oxidized and reduced glutathione and total antioxidant capacity in patients with head  
22 and neck squamous cell carcinoma. 2016; Volumen 14: 429-431.
- 23 21. Saurabh JuneJa, Ajit Singh Rathore, Kanika Sharma, Devicharan Shetty, Anshi Jain. Antioxidant-Oxidant Index as a  
24 Biomarker in Oral Potentially Malignant Disorders and Oral Squamous Cell Carcinoma: A Biochemical Study. 2017;  
25 Volumen 11: 5-8.
- 26 22. Uzma Urooj Malik, Imtiaz Ather Siddiqui, Zehra Hashim, Shamshad Zarina. Measurement of serum paraoxonase  
27 activity and MDA concentrations in patients suffering with oral squamous cell carcinoma. 2013; Volumen 430: 38-42.

Conflicto de intereses: Ninguna declarada.

Financiación: no hubo financiación externa para este estudio



ANEXO 1: Proceso de carcinogénesis por el mecanismo del estrés oxidativo.

Criterios de inclusiones	Criterios de exclusiones
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Estudios en inglés, francés y español</li> <li>2. Artículos publicados hace menos de 10 años.</li> <li>3. Pacientes adultos con cáncer oral.</li> <li>4. Pacientes adultos con tumor pre-malignas.</li> <li>5. Estudios con muestra de más de 5 pacientes.</li> <li>6. Pacientes con trastornos orales potencialmente malignas.</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Artículos publicados hace más de 10 años.</li> <li>2. Estudios en animales.</li> <li>3. Revisión bibliográfica.</li> <li>4. Revisión sistemática.</li> <li>5. Estudios que investigan ubicaciones distintas de la cavidad bucal y no dan datos por separado para la cavidad bucal.</li> <li>6. Estudio con muestra <math>\leq</math> 5 pacientes.</li> </ol>

ANEXO 2: Criterios de elegibilidad.

Base de datos	Busqueda	Numero de artículos	Fecha
Pubmed	((("Oxidative Stress"[Mesh]) AND "Mouth Neoplasms"[Mesh]) AND « Biomarkers »[Mesh]).	11	15/11/2021
Lilacs	“Estrés Oxidativo“ AND “Neoplasias de la Boca“ AND “Biomarcadores“	0	20/12/2021
Scopus	( TITLE-ABS-KEY ( oxidative-stress )) AND ( cancer oral )	1	18/02/2022

ANEXO 3: Resumen de las búsquedas.

PREGUNTA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Total
1. Babiuch y cols. (2019)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10/10

<b>2. Murugaiyan y cols. (2015)</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10/10
<b>3. Mutlu y cols. (2018)</b>	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	9/10
<b>4. Nayyar y cols. (2012)</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10/10
<b>5. Shah y cols. (2017)</b>	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	9/10
<b>6. Patil y cols. (2021)</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10/10
<b>7. Kumar y cols. (2012)</b>	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	9/10
<b>8. Metgud y cols. (2014)</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10/10
<b>9. Nandakumar y cols. (2020)</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10/10
<b>10. Pakfetrat y cols. (2018)</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10/10
<b>11. Juneja y cols. (2017)</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10/10
<b>12. Malik y cols. (2014)</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10/10

ANEXO 4: Evaluación del riesgo de sesgo según la checklist de la Joanna Briggs institute para casos y controles (<http://joannabriggs.org/research/critical-appraisal-tools.html>).

**X** : No data

= : No diferencia significativa entre sanos y enfermos.

↑ : Marcador con niveles altos con respecto a los niveles de pacientes sanos.

↓ : Marcador con niveles bajos con respecto a los niveles de pacientes sanos.

**Marcadores en negro:** Marcadores con resultados significativos.

**Marcadores en rojo:** Marcadores con resultados menos significativos.

ANEXO 5: Leyenda de la tabla resumen de resultados.