



TRABAJO DE FIN DE GRADO

Grado en odontología

Enzimas proteolíticas y cáncer oral

Madrid, curso 2022/2023

Numero identificativo [1]

RESUMEN

Introducción: el cáncer oral es una de las causas principales de muerte en el mundo, la supervivencia a los 5 años de esta enfermedad puede llegar a ser solo del 37%. Es por el deseo de tratar esta enfermedad exitosamente y mejorar la calidad de vida de los pacientes que nace el interés hacia las enzimas proteolíticas. Estas enzimas aparentan ser un área de investigación prometedora para encontrar nuevos métodos diagnóstico (Dx) no invasivos que pueden superar el actual estándar de oro de la biopsia complementada por examen histológico. **Objetivo:** con este trabajo queremos evaluar como objetivo principal si estas enzimas pueden ser utilizadas como un biomarcador valido de diagnóstico y pronóstico del cáncer oral. **Materiales y métodos:** se realizó una búsqueda on-line en Pubmed (Medline), Reserch gate y Scopus con (metalloproteases [MeSH Terms]) AND (mouth neoplasms [MeSH Terms]) como principal ecuación de búsqueda. **Resultados y Discusión:** se compararon entre sí un total de 42 fuentes cuya mayoría reflejaron la importancia de las enzimas proteolíticas como un biomarcador valido de diagnóstico precoz y pronóstico para el cáncer oral. También emerge su importancia para cribado, el seguimiento, evaluación del grado tumoral, progresión del cáncer, recurrencia y tratamiento. No hubo asociación con los factores de riesgos relacionados con el cáncer oral. **Conclusiones:** Con nuestro trabajo podemos afirmar que las enzimas proteolíticas pueden contribuir a alcanzar una mejor esperanza de vida. Lo ideal es valorar el nivel de las proteasas junto al nivel de su inhibidor o combinar varios tipos para realizar un diagnóstico y pronostico más preciso. Sin embargo, se necesitan más estudios *in vivo* para utilizar el potencial terapéutico y diagnóstico de las enzimas proteolíticas en la práctica clínica.

Palabras claves: odontología, metaloproteasas, neoplasias bucales y lesiones premalignas orales

ABSTRACT

Introduction: oral cancer is one of the main causes of death in the world, the 5-year survival of this disease can only be 37%. It is from the desire to successfully treat this disease and improve the quality of life of patients that interest in proteolytic enzymes arose. These enzymes appear to be a promising research area to find new non-invasive diagnostic methods that can surpass the current gold standard of biopsy supplemented by histological examination. **Objective:** with this work we mainly want to evaluate if these enzymes can be used as a valid biomarker for diagnosis and prognosis of oral cancer. This main objective is accompanied by four other secondary objectives. **Materials and methods:** An online search was performed in Pubmed (Medline), Research gate and Scopus with (metalloproteases [MeSH Terms]) AND (mouth neoplasms [MeSH Terms]) as the main search equation. **Results and Discussion:** a total of 42 sources were compared among themselves, most of which reflected the importance of proteolytic enzymes as a valid biomarker for early diagnosis and prognosis for oral cancer. Its importance also emerges for screening, follow-up, evaluation of tumour grade, cancer progression, recurrence and treatment. There was no association with risk factors related to oral cancer. **Conclusions:** With our work we can affirm that proteolytic enzymes are the right way to reach a better life expectancy. Ideally, find a combination of proteases or assess the level of the proteases together with the level of its inhibitor allow a more accurate diagnosis and prognosis. However, this technique is still under investigation, it needs more *in vivo* studies to be able to apply it in clinical practice.

Keywords: dentistry, metalloproteases, mouth neoplasms y oral premalignant lesions

INDICE

1. INTRODUCCIÓN -----	1 a 10
• Justificación -----	10
2. OBJETIVOS -----	11
• Objetivo primario -----	11
• Objetivo secundario -----	11
3. MATERIALES Y MÉTODOS -----	12 a 15
• Guía prisma-----	12
• Criterios de exclusión e inclusión-----	13
• Ecuaciones de búsqueda-----	13 a 15
4. RESULTADOS -----	15 a 25
• Flujo del trabajo-----	15 a 16
• Extracción de datos-----	16 a 25
5. DISCUSIÓN -----	27 a 39
6. CONCLUSIONES -----	40 a 42
7. BIBLIOGRAFÍA -----	43 a 49

INTRODUCCIÓN

El cáncer en 2020 es considerado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) la causa principal de muerte en el mundo ya que se le atribuye casi 10 millones de decesos al año. El de cabeza y cuello que incluye el cáncer oral se considera el sexto tipo más frecuente en el mundo. Según las estadísticas hay 500.000 nuevos casos cada año y se espera que el número de nuevos casos de cáncer en el futuro aumente con el aumento del envejecimiento de la población ya que el riesgo de desarrollar cáncer aumenta a lo largo de la vida. (1, 2, 3)

El cáncer suele aparecer con más frecuencia en los hombres que en las mujeres y dos tercios de los casos tienen lugar en países desarrollados (3,4)

El 90% del cáncer oral está representado por el carcinoma oral de células escamosas (OSCC, fig. 1) y dentro de esta categoría el más maligno se considera el cáncer oral de células escamosas de la lengua. (4)



Fig1. Imagen clínica de OSCC de la lengua (OTSCC), considerado el más común y maligno diagnosticado en la boca y regiones maxilofaciales. Otras localizaciones frecuentes y con rápido progresión del cáncer oral son la mucosa del suelo de la boca y la parte inferior del labio (4, 5)

Los tumores malignos se diferencian de los benignos por una alta tasa de invasión con destrucción tisular local y una alta tasa de metástasis linfática y circulatoria. (6)

Los pacientes presentan un pronóstico de supervivencia al cáncer oral desfavorable porque, aunque la cavidad oral es un área accesible para la exploración visual, el diagnóstico de cáncer se hace con retraso, cuando ya hay extensa invasión local o regional y diseminación a los ganglios linfáticos (2, 7).

El cáncer oral puede cursar con múltiples lesiones con distintos potenciales de transformación maligna. Esto, junto con el hecho de que el cáncer oral en sus primeras etapas tenga un carácter asintomático hacen que su diagnóstico precoz sea un reto (8, 9).

La tasa de supervivencia a cinco años de los pacientes con un tumor maligno depende de la etapa del cáncer en la que se encuentren. Si se trata de la etapa I habrá un 96% de supervivencia, en la etapa II un 77%, la etapa III cuenta con un 73% y en la etapa IV la supervivencia a 5 años es de solo un 37% (10).

Hasta la fecha, todavía faltan métodos diagnósticos no invasivos para valorar en etapas tempranas la probabilidad de malignización de lesiones precancerosas o la agresividad de los cánceres orales. Actualmente, el estándar de oro consiste en hacer una biopsia complementada por examen histológico, sin embargo, es difícil elegir un sitio preciso para la biopsia debido a la apariencia irregular de las lesiones cancerígenas y potencialmente malignas. (11, 9)

Es principalmente por la necesidad de tratar esta enfermedad exitosamente y mejorar la calidad de vida de los pacientes por lo que nace el interés hacia la identificación de cáncer en etapas tempranas y la predicción de su curso (12).

A veces los tejidos pueden aparecer clínicamente normales, sin embargo, cambios moleculares y bioquímicos pueden revelar informaciones vitales sobre el comportamiento, la recurrencia y el potencial metastático de los tumores. Las

enzimas proteolíticas juegan un papel importante durante el desarrollo tumoral, también en los primeros estadios, y su expresión puede variar según el grado, tipo o severidad del tumor. Las enzimas proteolíticas son liberadas por las células del estroma y sus inhibidores pueden alterar la matriz extracelular y así jugar un papel clave en el cáncer oral (3)

Esta es la razón por la que el número de los estudios sobre las enzimas proteolíticas ha venido incrementándose en los últimos años (7).

En odontología los estudios sobre estas enzimas han llevado al desarrollo e implementación de marcadores diagnósticos altamente específicos y sensibles para el diagnóstico de procesos neoplásicos de la mucosa oral (12).

Se han propuesto más de 100 biomarcadores potenciales del OSCC en la literatura moderna analizados en suero, saliva o muestras de tejidos. Entre estos biomarcadores de las enzimas proteolíticas hay las proteasas humanas que se pueden dividir en grupos de treonina, serina, cisteína, aspártico y metaloproteasas según su mecanismo de proteólisis. (4,7)

La familia de enzimas proteolíticas llamada metaloproteinasas de matriz (MMP) está siendo la más investigada como biomarcador. Así, el desarrollo de nuevos métodos diagnósticos basados en el estudio del nivel de expresión de las MMP en la patología de la mucosa oral es un área de investigación prometedora (7).

Las macromoléculas de la matriz extracelular (MEC) crean el entorno propicio para la función tisular normal regulando su formación y degradación. La MEC actúa como soporte estructural de los tejidos, como un medio por el que las distintas moléculas señalizadoras pueden transitar o acumularse y como barrera para la migración celular (6, 13)

La desintegración de la MEC es una característica clave para la progresión del cáncer que promueve la invasión de células tumorales en el tejido adyacente. Las metaloproteinasas son endopeptidasas que pueden remodelar los tejidos y

destruir la MEC, por eso, adquieren un aspecto importante en la progresión y detección de cáncer, como se muestra en la fig.2 (más adelante página 5) (14).

La remodelación de la MEC por parte de las MMP se da mediante la degradación de los diferentes elementos de la membrana basal y extracelular, principalmente colágeno y elastina. Así, estas enzimas proteolíticas regulan el comportamiento celular y potencian el proceso de desarrollo de cáncer, modulando así el microambiente tumoral. (14, 3)

Las MMP son una familia poligénica de endopeptidasas, es decir enzimas proteolíticas que escinden la proteína justo en su mitad, no en los extremos. Son estructuralmente similares y dependen de zinc y calcio. Son generadas por muchas células como fibroblastos, macrófagos, neutrófilos y algunas células epiteliales durante procesos patológicos y en condiciones fisiológicas de crecimiento normal y de cicatrización de heridas. Su secreción es inducida por varios estímulos, sobre todo por factores de crecimiento, citocinas y estrés físico. La mayoría se sintetizan como péptidos que necesitan escisión proteolítica para activarse. (3)

Las MMP se pueden clasificar en 5 familias principales que se han esquematizado en la tabla 1. (15)

TABLA 1. Clasificación de las MMP humanas (fuente propia, 15)

COLAGENASAS	MMP1, MMP8, MMP13
GELATINASAS	MMP2 y MMP9
METALLISINAS	MMP7 y MMP26
ESTROMELISINAS	MMP3, MMP10, MMP11, MMP19
MMP DE UNIÓN A MEMBRANA	MMP14, MMP15, MMP16, MMP17, MMP24, MMP25

Se han identificado 28 MMP humanas que se han clasificado dependiendo de la especificidad del sustrato y de sus propiedades (degradar un elemento más que otro). Sin embargo, son las colagenasas y gelatinasas las metaloproteinasas que más interesan en el cáncer oral. (fig.2, 15)

Estas MMP en concreto hidrolizan principalmente el componente estructural de la membrana basal, es decir el colágeno tipo IV (ColIV). Debido a la sobreexposición de estos dos tipos de MMP las células cancerosas escinden selectivamente el colágeno tipo IV para cruzar la membrana basal lo que permite que ingresen al torrente sanguíneo durante las primeras etapas de la metástasis. (3)

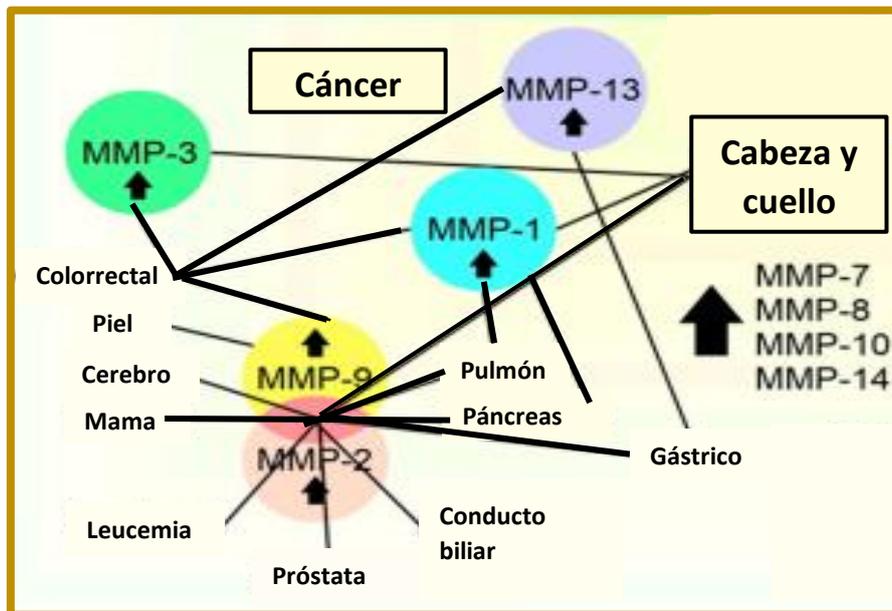


Fig2. Las MMP que participan con más frecuencia en la progresión del cáncer oral son MMP1, MMP2 y MMP3. (16)

Todas las metaloproteinasas, incluidas las gelatinasas y colagenasas, presenta una estructura dividida en tres dominios básicos principales más una región rica en prolina que conecta el dominio catalítico con el de la hemopexina, pero cuyo funcionamiento específico aún no se conoce. (6)

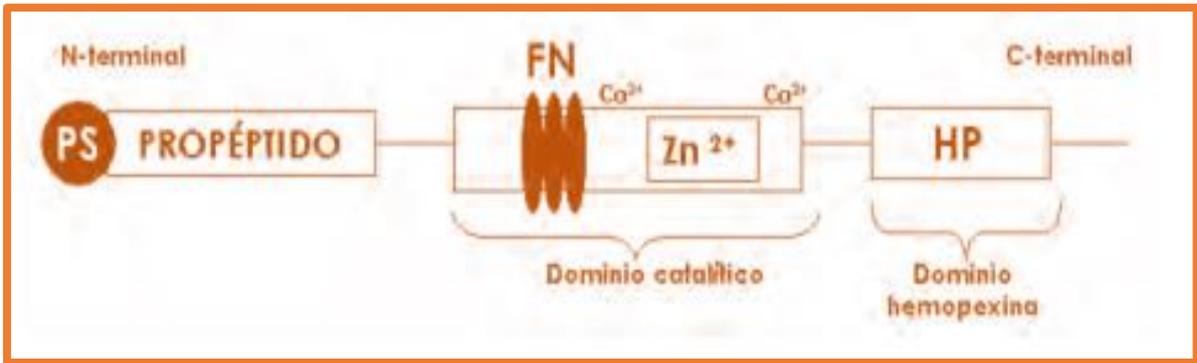


Fig3. Los tres dominios básicos que caracterizan las MMP (17)

Los dominios básicos principales de las MMP como muestra la figura 3 son:

1. **Dominio propéptico N-terminal** con un péptido señal de 80 aminoácidos
2. **Dominio catalítico** formado por molécula de cinc, una metionina e iones Ca^{2+} que determinan la estructura dimensional de la molécula y más de 100 aminoácidos responsables de la actividad enzimática y proteolítica sobre los sustratos diana.
3. **Dominio hemopexina C-terminal** de 210 aminoácidos (excluida MMP7) que permite activar otras proteasas y confiere especificidad de sustrato para diferentes tipos de colágeno (17)

A esta estructura básica cada familia añade sitios de uniones a fibronectina y otros dominios, un ejemplo es el dominio transmembrana presente solo en MMP de unión a membrana. (6)

Además de presentar una interesante estructura estas enzimas presentan diferentes funciones. Sus funciones no se asocian solo con la oncología, sino también con otras ramas de la odontología, por ejemplo en la odontología restauradora afecta el desarrollo del esmalte pudiendo favorecer el establecimiento de las caries, en la endodoncia acompañan el desbalance oxidante típico de las necrosis pulpar contribuyendo a la formación de la periodontitis apical (PA) y en la periodoncia las MMP fragmentan la fibronectina induciendo supresión de la diferenciación osteoblástica creando un fenotipo

destrutivo del proceso. Sin embargo, las MMP realizan también funciones consideradas positivas como son el desarrollo embrionario del órgano dentario (odontogénesis), la remodelación tisular y la angiogénesis del tejido sano. (18)

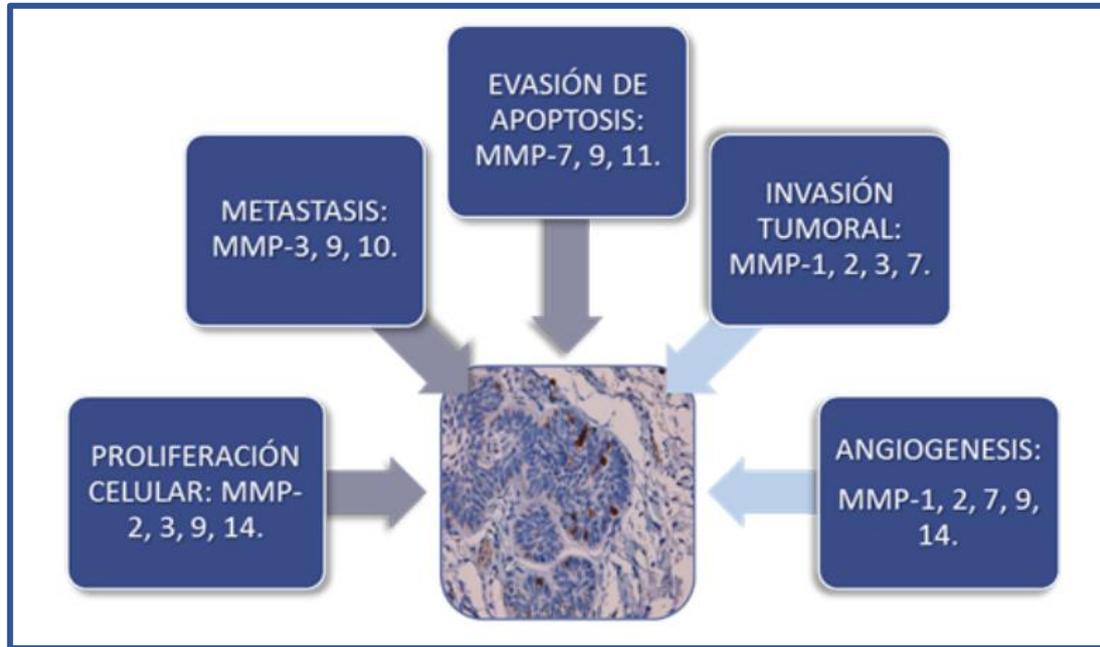


Fig4. Esquema resumido de las funciones específicas de las metaloproteinasas en el proceso tumoral de los varios tipos de cáncer oral (18)

Por lo que concierne las **funciones** específicas de las MMP en el cáncer oral (fig4) intervienen en la invasión tumoral, angiogénesis del tejido enfermo, proliferación de células enfermas, muerte celular programada, metástasis y promoción de malignidad por su adhesión célula-célula y célula-matriz extracelular. (18)

Están también implicadas en las lesiones que preceden el cáncer, es decir en las lesiones premalignas (OPMD) como, por ejemplo, leucoplasia, eritroplasia, liquen plano oral y fibrosis submucosa. (19)

Al principio todos los cánceres están precedidos por una lesión potencialmente maligna cuyos cambios celulares a nivel tisular constituyen el grado de displasia. Esta expresión diferencial en lesiones premalignas hace que las MMP tengan un gran potencial como biomarcadores del periodo en el que las lesiones premalignas pueden progresar hacia el cáncer (11, 7)

Otras enzimas de relevancia por el cáncer oral como las MMP son los Inhibidores de las metaloproteinasas de matriz extracelular (TIMP). Los TIMP son reguladores de proteínas endógenas formadas por 184-194 aminoácidos, todos presentes en la MEC en forma soluble excepto TIMP3 que está unido directamente a la MEC. Están formados por un dominio amino-terminal y por el dominio C. Es la interacción en el dominio N terminal llamado dominio inhibidor que se une al sitio activo de las MMP que otorga a los TIMP la capacidad de para inhibir las MMP, mientras que el dominio C permite a los TIMP interactuar con el dominio hemopexina de algunas MMP (15).

Su función principal es la de regular e inhibir las metaloproteinasas. TIMP y MMP están siempre en equilibrio para compensarse. Así, niveles de TIMP más bajos y MMP más altos puede provocar invasión y metástasis (fig5.), lo que permite inferir un futuro papel de los TIMPS, así como de las MMP como biomarcadores de pronóstico de cáncer, siendo objetivos de estudios para nuevas terapias del cáncer oral. (20)

Hoy en día se piensa que biomarcadores de metástasis en OSCC como MMP ayudarían en gran medida a la toma de decisiones para un tratamiento (Tto) más adecuado. Actualmente hay varias modalidades de terapias del cáncer oral. Como primer paso se intenta prevenir el cáncer evitando los factores de riesgo: no fumar, no beber alcohol e intentar mantener un peso por debajo del umbral. Una vez que el cáncer se haya instaurado pasamos a tratamientos de resección quirúrgica, terapia radiactiva, quimioterapia, terapia molecular o una combinación de estos. Sin embargo, a pesar de las múltiples posibilidades terapéuticas, las tasas de supervivencia siguen bajas debido al potencial metastásico de estos tumores (21)

Por eso, se hacen hincapié en la investigación *in vivo* e *in vitro* para encontrar nuevas posibles esperanzas terapéuticas. La principal estrategia que se está investigando es tratar el cáncer a nivel molecular para prevenir la metástasis.

Como las enzimas proteolíticas promueven la metástasis están considerados como objetivos para la terapia del cáncer. Las investigaciones en progreso se basan principalmente en los inhibidores de metaloproteinasas y otras sustancias que podemos incorporar a través la dieta como en el caso de la Sesamina a través del aceite de sésamo (22)

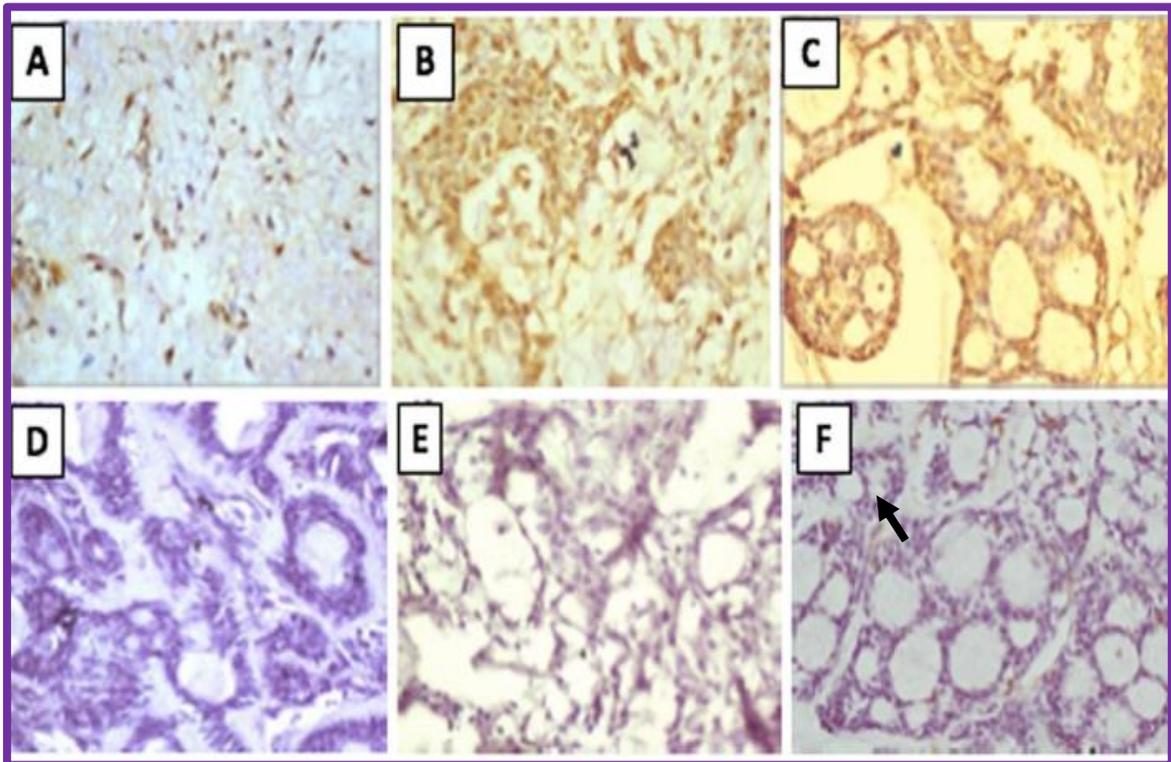


Fig5. Fotomicrografía del tejido de las glándulas salivales (x400), inmunohistoquímica (IHQ) para las MMP contrastado con hematoxilina y eosina (H&E), que aporta el color morado, incluidos en parafina y fijados con formalina. La fila superior muestra en A. estroma condromixioide de adenoma pleomorfo, B. células epidermoides de carcinoma mucoepidermoide y C. células albumínicas del carcinoma adenoide quístico. En todas las muestras hay expresiones de MMP2 y TIMP-2 y como se trata de canceres los niveles de MMP 2 son significativamente mayores que los TIMP. En la fila inferior, al contrario, no hay de MMP2 y TIMP-2 en las células ductales (indicadas por una flecha) que demuestran un conducto y estroma de las glándulas en estado fisiológico. (23)

JUSTIFICACIÓN

El presente trabajo de revisión pretende analizar nuevos enfoques diagnósticos y terapéuticos del cáncer oral. Es necesario un trabajo de revisión que permita integrar investigaciones sobre las enzimas proteolíticas asociadas a cáncer oral a nivel mundial. Planteada la hipótesis que los niveles de las MMP pueden elevarse como consecuencia de cualquier tipo de cáncer oral, creemos que es importante estudiar estas enzimas proteolíticas para establecer su utilidad y comprobar su eficacia pronóstica y de diagnóstico temprano. Encontrar un marcador fiable para predecir el cáncer oral en etapas tempranas permitiría tratar esta enfermedad de manera exitosa, se podría considerar todo un éxito para el progreso y la humanidad. Por eso, la pregunta en la que se basa el presente trabajo es: ¿El diagnóstico temprano de cáncer oral y de sus formas premalignas a través de las enzimas proteolítica puede ser claves para mejorar la tasa de supervivencia de cáncer oral y prevenir el riesgo de conversión de lesiones potencialmente malignas en cáncer oral?



Fig.6 Ejemplos de algunos cancers orales se podrían diagnosticar a través las MMP (4)

OBJETIVOS

- **Objetivo primario:**

1. Hacer una revisión de los conocimientos actuales sobre las enzimas proteolíticas y el cáncer oral para entender si según las últimas evidencias en investigación estas enzimas, principalmente las metaloproteinasas que son las más comunes en el entorno oral, pueden ser utilizadas como un biomarcador válido de diagnóstico y pronóstico del cáncer oral

- **Objetivos secundarios:**

2. Saber si hay asociación entre los factores de riesgo del cáncer oral y las enzimas proteolítica
3. Dar una visión general del panorama actual de las investigaciones sobre las enzimas proteolíticas en el medio oral
4. Conocer el papel de otras patologías de desarrollo en cáncer oral relacionadas con metaloproteinasas: las lesiones precancerosas
5. Constatar si a través del estudio de las metaloproteinasas podemos encontrar nuevas técnicas de tratamientos al cáncer oral basadas en inhibidores de metaloproteinasas (TIMP) u otras sustancias.

MATERIALES Y METODOS

Para realizar esta revisión sistemática se ha seguido la guía PRISMA 2020 (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and MetaAnalyses) para identificar, seleccionar y evaluar los artículos elegidos para la bibliografía.

Lo primero ha sido realizar un borrador de los componentes claves del trabajo a través la técnica PICOS (del inglés Patient, Intervention, Comparison, Outcomes and Study, Fig7) para poder formular la pregunta de investigación: “¿El diagnóstico temprano de cáncer oral y de sus formas premaligna a través de las enzimas proteolítica puede ser la clave para mejorar la tasa de supervivencia de cáncer oral y prevenir el riesgo de conversión de lesiones potencialmente malignas en cáncer oral?”

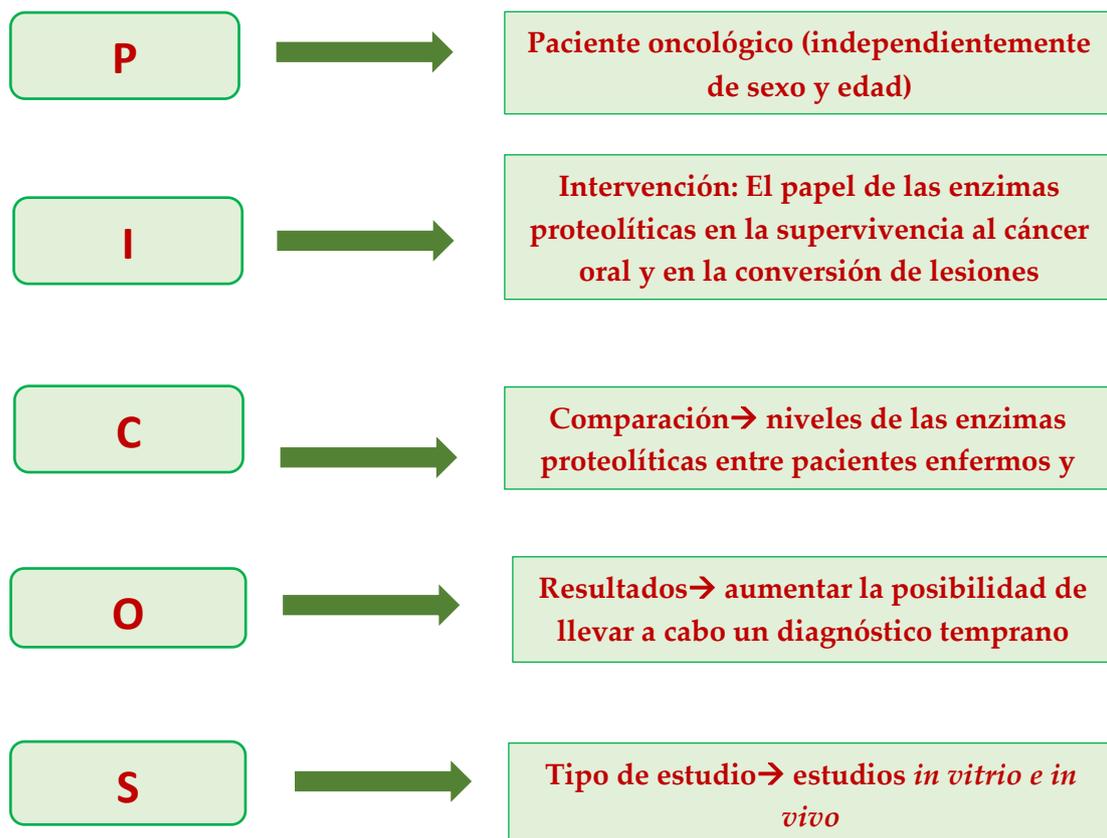


Fig7. Esquema que representa la estructura en formato PICOS (fuente propia)

Sucesivamente, se analizaron los criterios de elegibilidad:

- **Criterios de inclusión:**

- Artículos escritos en inglés, ruso y español
- Artículos publicados en los últimos 10 años, según el intervalo de fecha 2012-2022 para que la información sea lo más actual posible
- Artículos que incluyen todos tipos de paciente con cáncer oral sin diferencia de edad y sexo
- Estudios *in vitro* y *in vivo*

- **Criterios de exclusión:**

- Se excluyeron los artículos que no fueran de investigación originales o de texto no accesibles online
- Se excluyeron los artículos no relacionados con los objetivos fijados
- Excluidas informaciones del papel de las metaloproteinasas sobre los otros cánceres que no sean el cáncer oral
- Excluidos los artículos publicados antes del 2012. Solo se hizo una excepción por la figura 3 que ha sido tomada del artículo de Vilalta, Anna & Sahuquillo, Juan & Pastor-Nieto, Maria del 2010 porque muy representativas para entender la estructura de las metaloproteinasas en general.
- Se analizaron varias investigaciones y revisiones *in vitro* e *in vivo* sobre pacientes sanos y con cáncer oral excluyendo los artículos que trataban de investigaciones únicamente sobre animales.

Se efectuó una búsqueda sistematizada a principio de octubre 2022 en las bases de datos especializadas en literatura científica de Pubmed (Medline), Reserch gate y Scopus.

Para encontrar los artículos más adecuados para el trabajo se ha diseñado la ecuación de búsqueda a través una lista de términos relevantes. Una vez elegidos

los términos más apropiados de nuestra lista, antes de buscarlos en la base de datos científica, se hizo un análisis avanzado en Pubmed para encontrar términos Mesh asociados para sustituirlos. Los Mesh son descriptores, es decir vocabularios controlados de un término que describe con precisión cada uno de los artículos de la base de datos. Aquellos términos que no se encontraron en los Mesh, se usaron como vocablos libres. Obtenidos todos los términos de búsquedas definidos se van a unir con operadores booleanos que son “and”, “or” y “not”. La ecuación principal de búsqueda del trabajo finalizada ha sido **(metalloproteases [MeSH Terms]) AND (mouth neoplasms [MeSH Terms])**. Sucesivamente se hizo otra ecuación **(Metalloproteases [MeSH Terms]) AND (oral premalignant lesions)**

Hemos utilizado solo el operador “and” con el que se han buscado artículos que incluyan ambos términos. No se ha utilizado ni el operador “or” que abarca artículos con término u otro ni el operador “Not” usado para la exclusión de palabras. Se buscaron antes los términos por separados y luego se buscaron juntos añadiendo el “and”.

Vienen definidas así partes de las palabras claves. En un primer momento se estudiaron las palabras claves en español para delimitar el tema y luego a través del proceso de la búsqueda sistematizada. Las palabras claves que han sido obtenidas de la ecuación están escritas todas en inglés y son metalloproteases, mouth neoplasms y oral premalignant lesions. También se estudiaron las abreviaturas y siglas correspondientes.

Desde esta búsqueda se han obtenido:

- Artículos de conceptos generales sobre el cáncer, el cáncer oral y las enzimas proteolíticas
- Investigaciones de los niveles de metaloproteinasas entre sujetos sanos y enfermos

- Revisiones de investigaciones hechas (*in vitro* e *in vivo* sobre humanos)

De los artículos elegidos se consiguieron diferentes datos: primer apellido del autor, año de publicación, tamaño de la muestra, país de origen, intervenciones, criterios de inclusión

Primero se recopilaron todos los artículos, se filtró la fecha y disponibilidad de texto completo a través del sistema. Se quitaron los artículos duplicados y manualmente se examinaron títulos y resúmenes para descartar artículos que no estaban relacionados o se alejaban de nuestros objetivos. Se incluyeron los estudios que cumplían los criterios de elegibilidad a través la valoración del texto completo. Se hizo una lectura crítica de los artículos al final obtenidos para explorar los diferentes contenidos, extraer los objetivos fijados y para poder utilizar los datos más adelante.

RESULTADOS

Se recuperaron un total de 722 artículos en Pubmed. Después de la primera exclusión a través el intervalo de fecha 2012-2022 solo quedaban 380 artículos y luego hemos buscado por artículos completos online obteniendo 167 artículos disponibles. A continuación de la primera exclusión se analizaron cuidadosamente los resúmenes y los títulos de los 167 artículos hasta llegar a una bibliografía de 38 artículos.

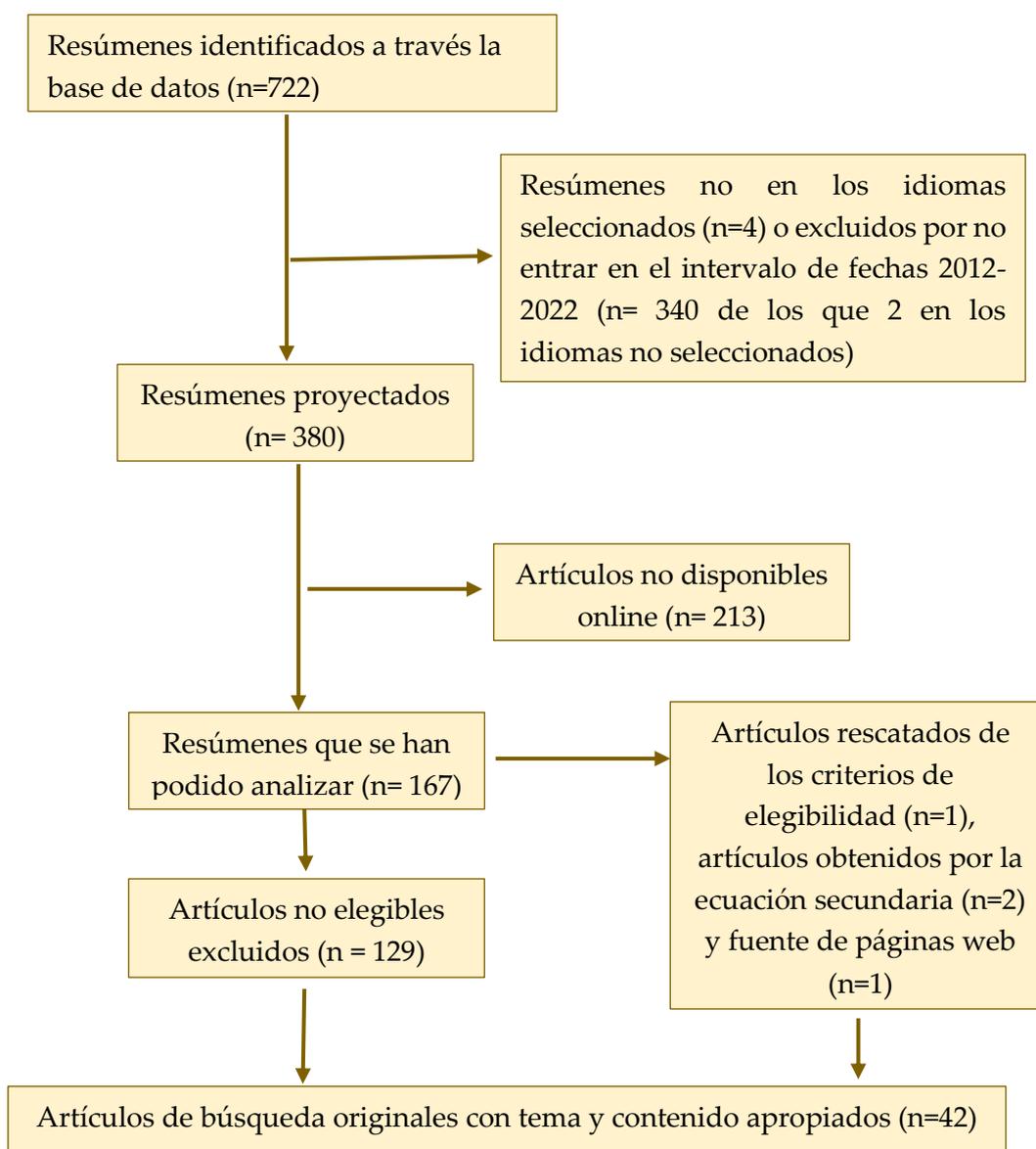


Fig8. Esquema que representa el flujo del trabajo en Pubmed de los estudios identificados, excluidos e incluidos basado en el diagrama de flujo PRISMA 2000. (fuente propia)

A los 38 artículos hemos añadidos la página oficial de la OMS para obtener cifras exactas y actualizadas, un artículo rescatado de los criterios de exclusión y 2 artículos más por otra ecuación de búsqueda realizada.

La segunda ecuación ha sido (Metalloproteases [MeSH Terms]) AND (oral premalignant lesions). Así, un total de 42 fuentes fueron incluidos en esta revisión sistemática y en la bibliografía en Vancouver. Estas fuentes se van a analizar para llevar a cabo una extracción de información homogénea y ordenada. El proceso de extracción de datos se muestra en la tabla 2 donde destacamos con verde oscuro los artículos con imagen de relevancia.

TABLA 2. Proceso de extracción de datos de los artículos de investigación in vitro (fuente propia).

País/ Autor	Intervención	Sistema de medida	Resultado
2020, India Kher de P <i>et al.</i>	Valorar MMP2 como marcador pronostico y herramienta de detección temprana	Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) y estudio histopatológico	MMP2 aumentado indica pronóstico desfavorable y se puede usar para Dx temprano
2021, Pakistan Shafiq, Fiza & Saleem Khan <i>et al.</i>	Evaluar intensidad tinción y porcentaje de células positivas de MMP9	IHQ ELISA	MMP9 presenta niveles mayores en pacientes con OSCC. No se asocia con localización tumoral
2016, China Huang <i>et al.</i>	Evaluar papel de MMP13 en células OC3	Cultivo, ensayo MTT Inmunofluorescencia (IF)	MMP13 puede ser diana terapéutica y promueve invasión y metástasis

2012, China Fan HX <i>et al.</i>	Examinar la correlación entre las expresiones de MMP- 2 y MMP-9 y el pronóstico de OTSCC	IHQ	Aumento de MMP2 y MMP9 relacionado con degradación de ColIV y útiles para el pronóstico en pacientes con OTSCC
---	--	-----	--

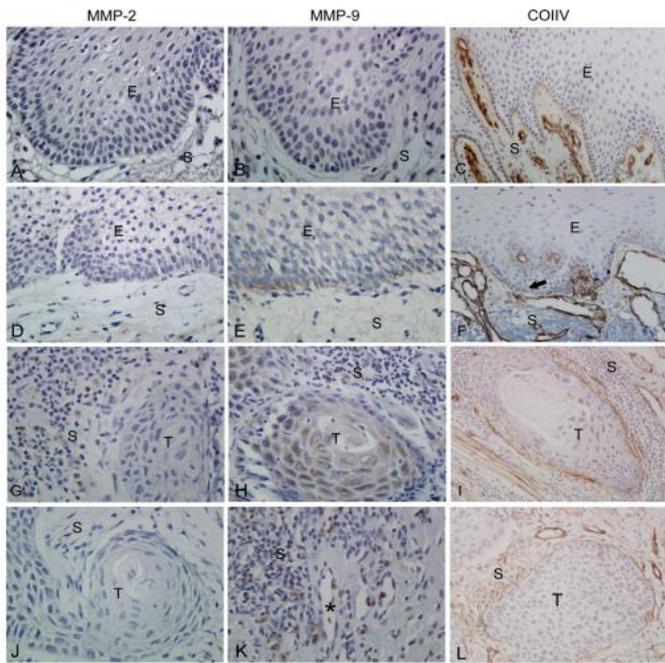


Fig.9 IHQ, para MMP-2 y MMP-9 (400x) y ColIV (200x) cromógeno de diaminobencidina y contraste H&E en grupo normal, grupo de mucosa oral displásica y OTSCC. El marcaje positivo se indica como T (tumor) y S (estroma) La expresión de la proteína MMP-9 aumentó significativamente en las células de cáncer de lengua con fuerte capacidad proliferativa, aunque tal correlación fue menos significativa para MMP2. Su

aumento produce degradación de ColIV y menor supervivencia general. Los cambios producidos en la morfología de ColIV fueron correlacionado con la progresión y diferenciación de OTSCC y con el pronóstico de los pacientes ya que en carcinomas bien diferenciados observamos ColIV grueso y en los pobremente diferenciados ColIV destruido con más posibilidades de ser invasivo y potencialmente maligno. (4)

2017, Alemania Peisker A <i>et al.</i>	Analizar la MMP9 salivar en 30 pacientes con OSCC y 30 pacientes sanos	Biopsia y ensayo de inmuno- reactividad	MMP9 puede ser útil como herramienta para detectar OSCC, pero más estudios para validación científica y clínica
---	---	--	---

2020, Brasil Nascimento GJFD <i>et al.</i>	Investigar polimorfismos del promotor del gen MMP7 y MMP9 en 71 OSCC lengua y 60 pacientes sanos	Reacción en cadena de polimerasa (PCR-RFLP)	Variantes polimórficas de MMP9 y MMP7 se asociaron con metástasis solo cuando se observaron en combinación
2019, Colombia Matias <i>et al.</i>	Evaluar 1,2,3,4,6 penta O galoil β d glucosa (PGG) como posible diana terapéutica	Cultivo, electroforesis en gel, ensayo migración celular, transcripción inversa y RT2 qPCR	PGG disminuye niveles de MMP9, MMP13, MMP2 a través Stat3
2020, China Chen JM <i>et al.</i>	Identificar fármacos y Tto siempre más efectivos por OSCC	Cultivo, Inmunoblot, Ensayo migración celular, ensayo cicatrización de heridas y MTT	Motilidad celular de FaDu, HSC-3, Ca9-22 disminuyó tras un Tto de 6 h con sesamina 40 μ M en comparación con el grupo de control
2014, Nigeria Kolude B <i>et al.</i>	Evaluar nivel expresión de MMP2/TIMP2 juntos o solos en SGT	IHQ	MMP2/ TIMP2 juntos permite mayor valor pronostico y posibilidades de terapia dirigida.
2019, Rumania Ciucă FI <i>et al.</i>	Implicaciones pronosticas de MMP2 y MMP9 en 54 casos de OTSCC	Estudio histopatológico, IHQ	MMP2 y MMP9 pueden ser utilizados como marcadores pronósticos

2019, China Feng Y <i>et al.</i>	Encontrar biomarcador potencial óptimo para OSCC	ELISA, Inmunoblot, IHQ	La combinación de ADAM9/catepsina V/caliceína 5, se considera el biomarcador potencial óptimo para OSCC
---	---	------------------------------	--

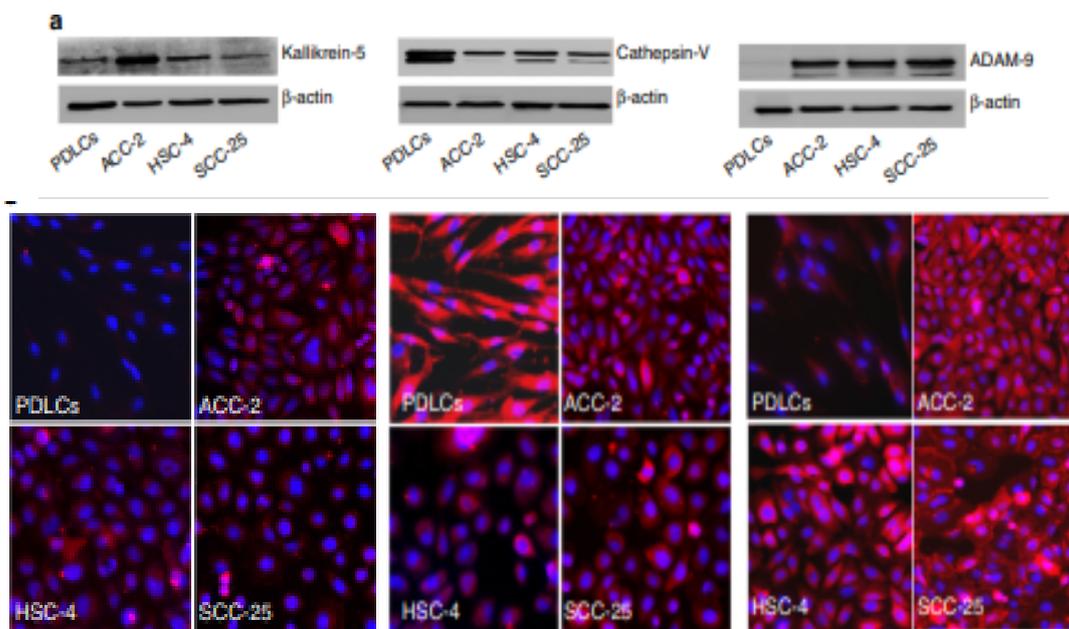


Fig10. La imagen muestra alta expresión de ADAM9, catepsina V y caliceína 5 en líneas celulares de cáncer oral (A9CvK5)

- Análisis de la transferencia inmunoblot de la expresión de caliceína 5, catepsina V o proteína ADAM9 en líneas celulares de cáncer. Se usó β -actina como control de carga
- Análisis por inmunofluorescencia de la expresión de proteínas intracelulares, caliceína 5, catepsina V o ADAM9 en rojo y tinción azul (nuclear) DAPI. Las imágenes representan tres experimentos independientes: HSC-4 y líneas celulares de OSCC-25, línea celular de adenocarcinoma oral ACC-2, línea celular no cancerosa de PDLC. (24)

2014, China Hsin CH <i>et al.</i>	Estudiar nivel de MP11 en plasma	ELISA, cultivo celular, Inmunoblot, ensayo de migración celular, TaqMan y aislamiento ARN	MP11 en plasma es útil para evaluar la progresión OSSC especialmente en metástasis ganglios linfáticos
--	---	---	--

2018, Finlandia Nawaz A <i>et al.</i>	Evaluar progresión cáncer oral y riesgo actividad proteolítica en levaduras	MDPF zimografía de gelatina, fluorimetría y ensayo degradación de CLDN	Estas enzimas aplicándose a factores de riesgo afectan el cáncer oral
2017, China Hsin CH <i>et al.</i>	Analizar papel pronóstico de MMP11	IHQ	MMP11 se asociado a supervivencia deficiente y agresividad enfermedad
2019, Rusia Kochurova EV	Diferenciar adenoma pleomórfico (AP) del carcinoma adenoide quístico (ACC)	ELISA, biopsia	MMP8, TIMP1 y TIMP2 puede ser útiles para el Dx diferencial
2012, Brasil Henriques AC <i>et al.</i>	Evaluar implicaciones pronosticas de MMP9 en OSCC con metástasis	IHQ	Expresión de MMP9 tendió a ser alta en OTSCC metastásica pero no diferencia significativa
2022, China Cai M <i>et al.</i>	Encontrar marcadores nuevos de Dx, pronóstico y dianas terapéuticas para OSCC	RT-qPCR, IHQ, matriz de chips de proteínas	MMP son posibles biomarcadores no invasivos de Dx, pronósticos y Tto en saliva de pacientes con OSCC
2014, China Jia LF <i>et al.</i>	Analizar efectos de miR-34a	qRT-PCR, cultivo, ensayo proliferación celular y de cicatrización de heridas, ensayo de Transwell	miR-34a se asocia con mal pronóstico y metástasis en ganglios linfáticos en OTSCC. Seleccionar MMP9 y MMP14 podría inhibir migración e invasión en OTSCC

2013, China, Yang CC <i>et al.</i>	Investigar la influencia de MT1-MMP en células de cáncer oral	Cultivo celular, RT-qPCR, WB, IF, ensayo MTT y de formación de colonias, Citometría de flujo, Ensayos adhesión y de invasión heridas	el aumento de la expresión de MT1- MMP era capaz de inducir una EMT en células cancerosas orales
---	---	---	---

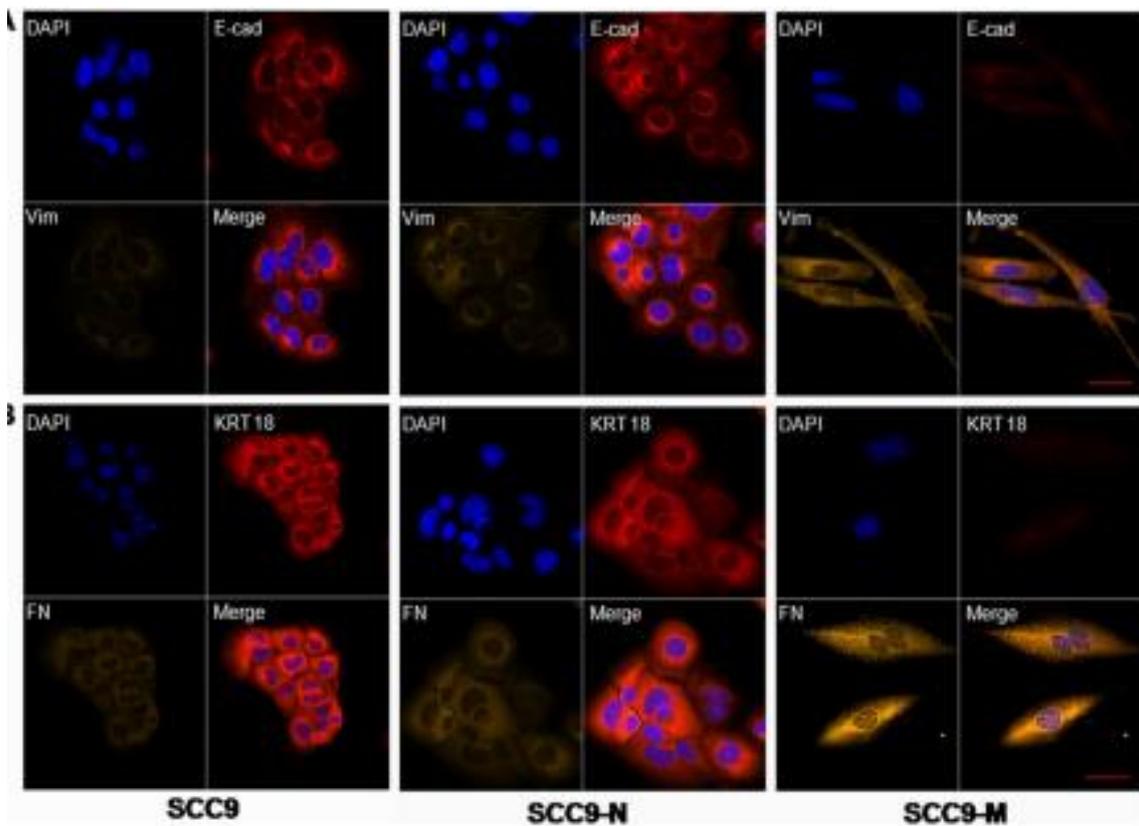


Fig.11 Inmunofluorescencia confocal (400x). barra, 100 μ m. Se muestran células SCC9, células SCC9-N estables (no contienen el gen) y MT1-MMP (SCC9-M). Los núcleos de ambos conjuntos de imágenes se tiñeron con DAPI (azul). las células SCC9-M presentaban una apariencia similar a la de un fibroblasto, con una disminución de la expresión de la proteína E-cadherina en rojo como la citoqueratina 18 y en naranja un aumento de la vimentina y fibronectina. Por el contrario, las células SCC9-N conservaron una morfología de tipo epitelial con expresión normal de E-cadherina y citoqueratina 18 y expresión débil de vimentina y fibronectina, similar a las células SCC9 parentales (39)

TABLA 3. Proceso de extracción de datos de los artículos de investigación con sistema de medida ELISA incluidos en el trabajo (fuente propia)

AUTOR	PAÍS	INTERVENCIÓN	RESULTADO
2021, Radulescu R <i>et al.</i>	Romania	Evaluar TIMP1 como marcador protección contra la degradación extracelular en OSCC	TIMP1 puede ser considerada una herramienta diagnóstica y pronóstica
2013, Кочурова E.B <i>et al.</i>	Rusia	Estudiar MMP8, MMP9, TIMP1 Y TIMP 2 en cáncer de glándulas salivales	MMP9 y TIMP1 son útiles para el Dx adicional, diferencial temprano y seguimiento y como MMP8 y TIMP2.
2020, Smriti K <i>et al.</i>	Afganistán	Evaluar papel de MMP9 en incidencia y progresión OSCC y OPMD	MMP9 salival es útil como coadyuvante en seguimiento, Dx, Tto OSCC y OPMD
2020, Chang, Ya Ting <i>et al.</i>	China	Evaluar MMP1 ELISA como herramienta complementaria	MMP1 buen biomarcador salival para detección y monitoreo
2021 Enăşescu, D.A <i>et al.</i>	Romania	Se analizan los efectos de la luteína en MMP9 y células humanas de OSCC	Disminución significativa de los niveles de MMP9 en células tratadas con Lut Nps
2019, Baburathinam S <i>et al.</i>	India	determinar la expresión de MMP-1 y MMP-9 en suero y saliva de pacientes con OSCC	Para Dx de la agresividad de la lesión podemos usar MMP9, pero no MMP1 como biomarcador salivar o en suero

2017, Ghallab NA, Shaker OG	Egipto	investigar niveles séricos y salivales de MMP-9 como biomarcadores de diagnóstico temprano para OSCC y OPMD	MMP-9 se considera como biomarcadores de diagnóstico salival para OPMD, detección temprana de OSCC y cancerización temprana de OPMD
2017, Kochurova EV <i>et al.</i>	Rusia	Niveles MMP-2, 8, 9 y TIMP-1 y 2 en la saliva	La expresión de biomarcadores en saliva es un nuevo método para el diagnóstico precoz de tumores
2021, Saleem Z <i>et al.</i>	Pakistán	Investigar papel MMP12 en pacientes sanos, con OSF u OSCC	MMP-12 salival sirve como herramienta Dx temprano no invasiva para diagnosticar OSCC y lesiones precancerosas
2021, Shin Y- J <i>et al.</i>	Korea	Evaluar la habilidad de diagnóstico y pronóstico de MMP9 salival	La detección temprana de OSCC con MMP9 salival puede considerarse primordial para disminuir morbilidad y mortalidad
2021, Wróbel- Roztropiński A <i>et al.</i>	Polonia	Analizar la expresión de MMP y TIMP en los niveles de mRNA y proteínas en OSCC	Expresión de MMP2, MMP7, MMP9 y TIMP2 en ARNm es mayor en tejidos de OSCC que en los sanos

TABLA 4. Proceso de extracción de datos de los artículos de revisión incluidos en el trabajo (fuente propia)

AUTOR	PAÍS	INTERVENCIÓN	RESULTADO
2018, D'Cruz AK <i>et al.</i>	India	Conocer el panorama actual del cáncer oral y de su terapia	Cáncer es una enfermedad mundial de difícil diagnóstico. Cirugía base del Tto, coadyuvado por quimio y radioterapia
2016, Villanueva Sánchez F.G <i>et al.</i>	México	Obtener información sobre el carcinoma oral a través el estudio de 4 casos	Incidencia de cáncer oral aumentan en jóvenes. Etiología y características clínicas e histopatológica según el tipo no muy claras
2020, Дмитриевна БЮ <i>et al.</i>	Rusia	Evaluar expresión de MMP en biopsia del epitelio alterado	MMP pueden usarse potencialmente como marcadores tumorales de Dx
2019, Анатольевна КЛ <i>et al.</i>	Rusia	Evaluar expresión MMP en biopsia del epitelio alterado	MMP son aptas para determinar riesgo malignidad y metástasis de tumores
2020 Cabral- Pacheco GA <i>et al.</i>	México	Conocer el papel de los TIMP en la terapéutica	No hay una terapia precisa basada en la inhibición de MMP necesitamos nuevas estrategias

2010, Vilalta Anna <i>et al.</i>	Barcelona	Conocer estructura y función como diana terapéutica de MMP	Inhibir estas proteasas podría ser en futuro una nueva técnica terapéutica para OSSC
2016, Pereira Prado Vanesa <i>et al.</i>	Uruguay	Búsqueda de artículos para conocer la importancia de MMP en odontología	MMP actualmente se consideran biomarcadores importantes para investigar en diferentes áreas de odontología
2022, Li H <i>et al.</i>	China	Como mejorar las terapias para OSCC	Un Sistema liberador de fármacos parece un enfoque ideal en el Tto de OSCC
2019, Hema Shree K <i>et al.</i>	India	Evaluar marcadores biológicos salivares para diagnosticar OSCC	La saliva puede herramienta útil para la detección temprana de OSCC
2013, Vilen St <i>et al.</i>	Finlandia	Buscar informaciones sobre el papel MMP9 en OSCC	MMP9 puede ser protector o promotor de OSCC según características individuales del paciente
2019, Juurikka K <i>et al.</i>	Finlandia	Revisión para estudiar MMP8 en cáncer oral como factor pronostico o diana terapéutica	MMP8 importante regulador de moléculas bioactivas solo en OTSCC donde puede ser factor pronostico solo o con otros factores

DISCUSIÓN

Las pruebas de laboratorio son herramientas importantes y precisas para el diagnóstico y pronóstico de enfermedades humanas como el cáncer oral. Es posible detectar enzimas proteolíticas como biomarcadores de relevancia en los fluidos tisulares. Kherde P *et al.* en su investigación explican que la sobreexpresión de MMP puede permitir a las células cancerosas escindir el colágeno tipo IV de forma selectiva y cruzar la membrana basal, lo que permite la entrada de las células cancerosas en los vasos sanguíneos durante las primeras etapas de la metástasis y así detectar en suero las enzimas proteolíticas. (3)

Sin embargo, como afirma el estudio de Feng Y *et al.* y el de Hema Shree K *et al.*, a diferencia de otros cánceres, en el oral, las moléculas que se liberan por las células cancerosas entran directamente en la saliva. Esto significa que puede ser más fácil detectar varios biomarcadores sensibles y positivos para el cáncer oral en saliva en lugar del suero. (24, 25)

Shin Y-J *et al.* y Ghallab *et al.* a través el estudio de MMP9 en OMPD y OSCC observaron una diferencia significativa al comparar sus niveles séricos y los niveles en saliva. Los más altos para MMP9 se detectaron en las muestras de suero, pero sus resultados tuvieron la menor precisión diagnóstica, determinando así que para el diagnóstico precoz de OPML y de OSCC lo mejor es analizar las MMP a través saliva (26, 27)

Existen muchas ventajas al utilizar saliva como fluido diagnóstico en las pruebas de laboratorio en comparación con muestra de suero y tejido, de hecho, contiene amplio espectro de biomarcadores, su colección es no invasiva y sin dolor, su transporte y almacenamiento son fáciles. Así, el cribado salival del espectro de proteasa es la forma más efectiva de identificar varios biomarcadores sensibles y específicos de esta enfermedad y puede considerarse la mejor herramienta auxiliar en el diagnóstico. (28)

Igualmente, como los marcadores pueden ser analizados por métodos rutinarios en el laboratorio, las enzimas proteolíticas adquieren gran importancia en el diagnóstico diferencial como en el seguimiento de los pacientes con cáncer oral. En el caso del seguimiento se aconsejan valorar los niveles séricos de MMP postoperatorios que son un predictor de supervivencia libre de enfermedad y supervivencia general. (29)

Siempre según el estudio de Feng Y *et al.* en la saliva de pacientes con OSCC hay varios tipos de enzimas proteolíticas, 35 tipos de proteasas distintas. Entre estas hay las desintegrinas juntas con las metaloproteinasas (ADAM8 y ADAM9) y las MMP con motivos de trombospondina (ADAMTS1 y ADAMTS13) que fueron detectadas en la saliva de pacientes con OSCC y no en saliva de pacientes sanos. También se encontraron solo en la saliva de pacientes con OSCC cathepsina E, MMP1, MMP2, MMP3, MMP10, MMP12 y MMP13. Además, cathepsina V, calicreína 5, activador de plasminógeno de uroquinasa (uPA)/uroquinasa y calicreína 7 aumentaron significativamente en la saliva de pacientes con OSCC en comparación con la de pacientes sanos o con masas benignas. (24)

Hay también enzimas proteolíticas que solo se manifestaron en pacientes sanos como la convertasa 9, MMP8 y la proteinasa 3, mientras otras como MMP3 y cathepsina E no mostraron diferencia en sus niveles de expresión entre pacientes con cáncer oral y sanos. Sin embargo, el biomarcador potencial óptimo para diagnosticar OSCC se debe no a una enzima proteolítica única, sino a la combinación de 3 proteasas que son ADAM9/ cathepsina V/calicreína 5 o A9CvK5 (fig.10). (30, 24)

Del estudio de Li H *et al.* sobresalen otras proteasas que se sobre expresan en OSCC y que también juegan un papel importante como la cathepsina B, desintegrina A y Neprilisina/CD10. (31)

Kochurova EV afirma que todos estos marcadores presentes en fluidos biológicos pueden diagnosticar el cáncer oral 6 meses antes de la aparición de síntomas clínicos como ha podido comprobar también Saleem Z *et al.* en su investigación. (28, 32)

Las enzimas proteolíticas pueden diagnosticar lesiones precancerosas que en última instancia dará como resultado un diagnóstico temprano de la lesión y evitará que avance a OSCC si se trata de inmediato. Este estudio permitió observar que la expresión de MMP12 aumentaba a medida que un trastorno oral potencialmente maligno se desplazaba hacia la malignidad (OSCC). Es decir, que el nivel de MMP12 en paciente sanos o con masas orales benignas era menor respecto a la expresión en pacientes con OSF y aún menor si el paciente presentaba OSCC. (28)

Claramente no todas las enzimas proteolíticas pueden asociarse a la agresividad de OPMD o OSCC, efectivamente Baburathinam S *et al.* observaron que MMP1 no presentaba diferencia significativa entre OMPD u OSCC más o menos maligno a diferencia de MMP9 que como determina la indagación de Smriti K *et al* mostró niveles más altos en la condición más preocupante del liquen plano oral atrófico que en el no atrófico. (11, 9, 27)

Saleem Z *et al.* notaron que el nivel de algunas MMP como MMP12 cambiaba según el grado de diferenciación del tumor, es decir, a peor grado de diferenciación mayor expresión de MMP12. (28)

De hecho, Kherde P *et al.* compararon los niveles de MMP2 en suero en sujetos con OSCC según clasificación histopatológica demostrando que aumentaban del OSCC bien diferenciado al pobremente diferenciado con diferencia estadísticamente significativa. Así, podemos afirmar que los niveles séricos más altos se correlacionan con el aumento del grado del tumor. (3)

Podemos apreciar la diferencia del bien al pobremente diferenciado también histopatológicamente a través la fig.9. del estudio de Fan HX *et al.* En el epitelio de la mucosa de la lengua normal la expresión de MMP2 y MMP9 fue negativa o débilmente positiva y CollV se observó como una estructura lineal continua. Por el contrario, en la capade células basales aumentó la inmunorreactividad de MMP9 más fuerte que la expresión de MMP2. CollV se manifestó fragmentado colapsado o incluso inexistente en la mayoría de los casos. MMP9 mostró expresión difusa en células tumorales y estromales y células positivas para MMP9 se acumularon alrededor de los vasos sanguíneos. (4)

A través estas investigaciones averiguamos que las MMP pueden ser utilizada para diversas enfermedades orales, tanto cáncer como lesiones premalignas. Además, estudiando cada biomarcador según cada tipo de cáncer se pueden encontrar las enzimas proteolíticas que diferencian un cáncer benigno de uno maligno. (6)

De hecho, según Hochurova EV en su investigación de neoplasia benignas y malignas en la glándula parótida entre AP benigna y ACC maligno existen diferentes marcadores de diagnóstico diferencial. Los encontrados en su estudio fueron MM8, TIMP1 y TIMP2. La sola presencia de estos tres biomarcadores indicó el diagnóstico definitivo de AP y no de ACC. (32)

Si hay un nivel de expresión de las enzimas proteolíticas muy intenso se piensa que se trata de un cáncer avanzado con mucha posibilidad de presentar formas metastásicas de los ganglios linfáticos como explica Ciucă FI *et al.* en su estudio. (33, 34)

La reactividad tumoral de MMP se registró en el parénquima y en el estroma tumoral como en la mucosa normal y displásica. Sin embargo, las formas metastásicas de los ganglios linfáticos tienen reactividad más alta, lo que sugiere la participación de los marcadores investigados, MMP9 y MMP2, en la

diseminación de OSCC a ganglios linfáticos loco-regionales. La reactividad fue mayor también en el frente de invasión tumoral, lo que sugiere asimismo su participación en la invasividad. (33)

Por lo tanto, deducimos que las MMP pueden ser utilizadas como marcadores pronósticos seleccionando los casos con el pronóstico más grave y etapas más avanzadas de la enfermedad. (34)

Para obtener un valor pronostico más alto Kolude B *et al.*, analizando MMP2 y TIMP2 en diferentes tipos de tumores de glándulas salivales, consideraron que sea mejor valorar la expresión de las MMP con su inhibidor y no individualmente. Es decir, es necesaria una diferencia significativa entre los niveles de MMP2 respecto a los de TIMP2 para determinar que se trata de un mal pronóstico. (23)

Si hay un cáncer maligno los niveles de MMP2 pueden aumentar, sin embargo, si no hay una diferencia significativa entre la relación MMP2/TIMP2 aún hay posibilidad de tener un buen pronóstico. Además, en el estudio se observó que TIMP2 no mostró diferencia en intensidad y proporción entre tumores benignos y malignos, según agresividad del tumor, mientras que MMP2 podía presentar nivel de expresión mayores o menores. Se puede afirmar, entonces, que la expresión MMP2/TIMP2 puede diferenciar cánceres benignos de los malignos sin determinar tipo de estroma, grados histológicos para malignidad o el origen de la malignidad. (23)

No obstante, la importancia pronostica sigue presentando resultados contradictorios apoyando la idea por la que las enzimas proteolíticas no son el único factor implicado en la invasión tumoral. (33)

Se reconoce que la invasión carcinomatosa tiene lugar no solo por cambios genéticos intrínsecos en las células cancerosas de la carcinogénesis (iniciadores)

sino también por células estromal (promotores). Hay que evaluar todos los factores que influyen en el proceso tumoral. (4)

El cáncer oral se desarrolla como el resultado de múltiples factores de riesgos. Surge debido a múltiples eventos moleculares que se desarrollan, desde efectos combinados de la predisposición genética individual hasta la exposición a carcinógenos ambientales como tabaco, alcohol, químicos, radiación ultravioleta o ionizantes y microorganismos. Actualmente no está completamente claro el papel que estas enzimas juegan cuando aparecen factores de riesgo por el cáncer oral. (2, 35)

Según las investigaciones de Saleem Z *et al.* si se trata de pacientes con hábitos orales como nuez de betel aumenta la expresión de MMP respecto a paciente sin hábitos orales. Sin embargo, si el hábito de nuez de betel se acompaña al tabaco hay una disminución de los niveles de MMP o en otros casos la diferencia no es significativa. (28)

Mientras que en el estudio de Кочурова E.B *et al.* en comparación con los controles sanos los sujetos con habito de tabaquismo mostraron niveles más altos de MMP9. El tabaco si se consume en sus diversas formas provoca cambios superficiales y queratinización de las mucosas que conduce a la alteración de la secreción de MMP9. (10)

En caso de que el factor de riesgo sea una enfermedad como la periodontitis crónica o infecciones por *Candida* según Nawaz A *et al.*, el nivel de MMP afectado por la presencia de tumor se elevan notablemente en comparación con pacientes sin factor de riesgo asociado. (36)

Considerando que los factores de riesgo pueden impulsar metástasis y desarrollo del cáncer podemos volver a confirmar que las enzimas proteolíticas actúan no solo de manera directa sino también de manera indirecta en el cáncer oral. Sin embargo, no hay correlación con todos los factores de riesgo, de hecho, en el

estudio de Ciucă FI *et al.* se aprecia que no hay correlaciones con los parámetros clínicos morfológicos como exposición al tabaquismo, clasificación nuclear, diferenciación tumoral, género y estadios tumorales. (33)

Además, otra falta de asociación de relevancia la exponen la investigación de Kherde P *et al.* donde los niveles séricos de MMP2 mostraron asociación positiva con los grados histopatológicos, pero no con la localización y el tamaño del tumor primario. (3)

Baburathinam S *et al.* y Nascimento *et al.* además explicaron que la variación del nivel de expresión de MMP no está del todo clara por lo que concierne edad y el sexo como depende de los aleolos. (11, 13)

Nascimento en su experimento demostró que los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) de MMP7 no se asoció ni a la edad ni al sexo mientras que el aleolo T de MMP9 SNP se asoció con paciente de 40 años o más y vinculados fuertemente con el sexo masculino y con tumores pobremente diferenciados. (13).

El hecho que las enzimas proteolíticas actúan de manera indirecta en el proceso canceroso lo podemos apreciar también en la investigación de Henriques AC *et al.* Aquí los tumores metastáticos expresaron niveles más altos de MMP9 que los no metastáticos pero la diferencia no fue significativa, no confirmando la asociación directa entre la sobreexpresión de MMP9 con metástasis. Sin embargo, en esta indagación MMP9 parece actuar indirectamente sobre el reclutamiento de células endoteliales aumentando la liberación de VEGF en el medio intersticial, sugiriendo en la angiogénesis la acción combinada entre VEGF y MMP9. (37)

Una elevada expresión de MMP se encontró no sólo en las células tumorales sino también en el estroma de células tales como macrófagos y células endoteliales vasculares. Por ello, se cree que las enzimas estromales potencian la acción de las

MMP producidas por el parénquima y esta interacción estratégica permite que las células neoplásicas induzcan a las células del estroma a producir enzimas proteolíticas que actúan en sinergia con las enzimas tumorales facilitando procesos de invasión, migración y metástasis. (3)

Así, las células del estroma en la progresión del tumor presentan la misma importancia que las células tumorales. Según el tipo, las MMP son capaces tanto de estimular la angiogénesis como inhibirla para contribuir a malignidad. (29)

El estudio de Дмитриевна БЮ *et al.* determina que MMP2, MMP7, MMP9 y MMP12 pueden inhibir el mecanismo de la angiogénesis degradando plasminógeno con liberación de angiostatina y escindiendo el colágeno tipo XVIII con la formación de endostatina. Las MMP ayudan en la descomposición del plasminógeno para liberar angiostatina que puede potenciar la apoptosis de las células tumorales. En todos los casos, inhibiendo o estimulando las MMP promueven la progresión tumoral y que sea de manera directa o indirecta regulan la angiogénesis para seguir siendo así un factor pronóstico. (7)

Nascimento GJFD *et al.* proponen otro factor pronóstico de cáncer oral relacionado a las enzimas proteolíticas, los SNP que son parte de la genética interindividual y representan la variante genómica en la posición de una base en el ADN en la región promotora de MMP7 y MMP9. (13)

Dichos polimorfismos parecen estar asociados con un mayor riesgo de desarrollar OTSCC y con mayor propensión a formar tumores metastáticos determinando que la genética aumenta la susceptibilidad o la prevención de una determinada enfermedad. (38)

Los casos OTSCC poco diferenciados se relacionaron con el genotipo CT y el alelo T de MMP9, mientras que los casos bien diferenciados mostraron asociación significativa con el genotipo AG y el alelo G de MMP7. La variante MMP9 con el alelo de tipo salvaje se asocia a casos de OTSCC metastáticos. Esto sugiere que

los portadores del alelo C de tipo salvaje tienen más probabilidades de desarrollar metástasis que aquellos que portan la variante polimórfica funcional T. Variantes polimórficas se asociaron con el OTSCC por separados como combinados, pero con metástasis solo cuando sus frecuencias se observaron en combinación. (13)

Las MMP pueden contribuir a la metástasis también determinando la activación proteolítica del factor de crecimiento transformante beta (tfg- β) que a su vez promueve el proceso de transición epitelio-mesénquima (EMT). (39)

Дмитриевна БЮ *et al.* explica en su revisión que durante el EMT se produce la ruptura de ECM, de los enlaces intracelulares y de las características adhesivas de la matriz celular. Esto lleva a las células epiteliales a perder su polaridad, se pierden las uniones estrechas entre células y uniones adhesivas, esto provoca infiltración y mayor capacidad de estas células para migrar. Así la EMT permite que células malignas se vuelven móviles e invasivas, requisito previo fundamental para la metástasis de cáncer. (7) Para comprobar que la superficie celular de la metaloproteinasa de matriz tipo 1 de membrana (MT1-MMP) puede ser reconocida como un inductor de la EMT en líneas celulares del cáncer oral Yang CC. *et al.* llevó a cabo una investigación sobre células cancerosas poco agresivas. En su experimento se detectó que MT1-MMP cambió las propiedades biológicas de las células que cambiaron de una forma epitelial cuboidea a una apariencia fibroblástica. Además, incrementó la capacidad invasiva de las células, debido a su actividad de amplio espectro para degradar los componentes de la MEC. De unas células normales (SSC9) se pasa a unas células modificadas (SSC9-M) que ya no tienen capacidad de cerrar las heridas, presentan una capacidad de crecimiento baja y son más resistentes a la apoptosis (fig.11). (39)

MT1-MMP contribuyó también a la resistencia a los fármacos de las células permitiendo a SSC9-M presentar una alta tasa de supervivencia al tratarlas con diferentes concentraciones de fármaco. Esta investigación fue importante sobre

todo para comprender la progresión del tumoral y sugerir objetivos eficientes para el futuro desarrollo terapéutico, insistiendo sobre todo sobre la resistencia a los fármacos. (39)

Un biomarcador para un tipo de tumor específico proporciona información vital para la detección temprana del cáncer, de hecho, su identificación puede servir también de diana terapéutica. Independientemente del grado histológico e histogénesis la alta expresión de MMP y de su inhibidor ofrece posibilidades de terapia dirigida. (25, 40)

Según Kolude B *et al.*, la regulación de TIMP2 es de gran importancia para la terapia dirigida a MMP2 en tumores orales malignos, mientras que para Cabral-Pacheco GA *et al.* hay varias evidencias para demostrar que TIMP 1, TIMP3 o TIMP 4 inhiben el proceso invasivo mientras que TIMP 2 por si sola aumenta este proceso. (34)

En teoría, los TIMP podrían formar la base para nuevas clases de terapias anticancerígena porque como explica Radulescu R *et al.*, los TIMP bloquean la acción de las MMP convirtiéndose en un factor protector contra la degradación de la MEC e inhibiendo la metástasis. Sin embargo, rara vez se han considerado porque dependiendo del tipo de inhibidor hay una función pro o antitumoral. (6)

Actualmente las investigaciones donde se considera si TIMP puede utilizarse en las estrategias terapéuticas para la regulación de las MMP en diferentes enfermedades no han logrado ningún éxito o progreso, lo que posiblemente se deba a que algunas enfermedades comparten vías o mecanismos de acción similares en los que las MMP y los TIMP intervienen y no juegan exactamente el mismo papel. (16, 41)

Estudiar la asociación de estos marcadores con la patogenia de las lesiones puede ayudar a mejorar el tratamiento y la eficacia clínica. Determinar las funciones de

los MMP y la progresión del cáncer a través de la proteólisis ha generado el desarrollo de fármacos inhibidores de estas enzimas. (3)

Cabral-Pacheco GA *et al.* en su investigación explica que la base de estos fármacos es el concepto de inhibir la transcripción de las MMP hasta bloquear la vía que dirige la transducción de señales mediante la vía MAPK y la vía de ERK. A partir de este concepto se han desarrollado en estudio *in vitro* e *in vivo* terapias que actúan contra las MMP como inhibidores a base de hidroxamato, tanto de vieja como de nueva generación con un espectro más específico para disminuir los efectos adversos, inhibidores de MMP no hidroxamato utilizando el grupo alternativo de unión a zinc hidantoína, basadas en anticuerpos antitumorales e inhibidores endógenos de la función de MMP como la α 2-macroglobulina o que se dirigen a sitios de unión alternativos. (16)

También es posible identificar gracias a las enzimas proteolíticas otras dianas terapéuticas como 1,2,3,4,6 penta O galoil β d glucosa (PGG) según Matias, Catalina & Bordieri *et al.* y la Sesamina por Chen JM *et al.* (21, 22)

PGG es una molécula con el potencial para reducir expresión de las metaloproteinasas y limitar invasividad de la línea de las células escamosas del carcinoma, cal 27, de forma dosis dependiente a través el mecanismo complejo de señalización que incluye a Stat y la comunicación cruzada entre otras moléculas significativas. Los hallazgos sugieren que es un agente anticancerígeno prometedor, pero se necesitan más estudios para determinar los efectos de esto sobre muerte celular y la autofagia en una gama más amplia de líneas celulares OSCC, así como para encontrar otras moléculas que pueden desempeñar un papel en la iniciación de la señalización molecular. (22)

También hay que establecer su farmacocinética y la viabilidad de la administración oral favorecida por su unión a moléculas transportadoras como

albúmina o lecitina podría ayudar a prevenir la eliminación rápida de la molécula y permitir dosificación oral adecuada. (22)

Por lo que concierne la Sesamina se trata de una lignina en el aceite de sésamo que presenta potencial anticancerígeno y ejerce efecto antiinflamatorio en varios tumores. La sesamina suprime migración e invasión de las células cancerosas orales mediante regulación de MMP2 y por lo tanto se considera agente antimetastático potencial para tratar el cáncer de cabeza y cuello sin efecto citotóxico. (21)

Entre sus efectos bioactivos incluye el antioxidante y apoptótico. Combinar la sesamina con la regulación negativa potencial de P p38 y p JNK1/2 en la vía de la señalización de MAPK (inhibiéndola) permite inhibir mucho más la migración de las células cancerosa orales en comparación con el tratamiento solo con sesamina. Así, la sesamina no solo es un suplemento energético potencial sino también sirve como un potencial fármaco quimioterapéutico para tratar cáncer oral metastático. (21)

Jia LF propone también miR 34a como inhibidor de migración e invasión de OSCC por regular la expresión de MMP9 y de MMP14 con mecanismo regulador directo y mecanismo transregulador indirecto. (42)

Otra forma para inducir apoptosis en el cáncer viene descrita por Enăşescu, D *et al.* Se trata de los carotenoides cargados en nanopartículas (NPs). El tratamiento con luteína (Lut), un carotenoide que no tiene toxicidades, presenta un efecto positivo al disminuir los niveles de MMP9. Si la cargamos en Nps (Lut Nps) podría considerarse como un factor protector frente a la invasividad local producida por las MMP. (20)

Las propiedades anticancerígenas de los carotenoides puede ser el resultado de combinar las propiedades antioxidantes con sus complejas interacciones con la expresión de genes específicos y las cascadas de señalización celular. Los déficits

reales en las terapias anticancerígenas incluyen la orientación inadecuada y la eliminación rápida del fármaco. Sin embargo, los estudios de los carotenoides en combinación con la nanotecnología en el contexto de la OSCC siguen siendo difícil de alcanzar. La luteína y Lut Nps no desencadena estrés oxidativos sino que se comporta como un promotor de protección antioxidante al regular la baja de los niveles de MMP contra invasividad local. (6, 20)

En fin, según el estudio de Li H *et al.*, para superar los límites del tratamiento convencional para el cáncer oral como es la toxicidad sistémica, efectos secundarios y resistencia a los medicamentos, se busca un sistema que apunte específicamente a los tumores, que pueda escapar al reconocimiento del sistema inmunitario y entrar de manera efectiva en las células cancerosas. Para este fin propone de liberación de nanofármacos (DDS) que responden a MMP. (16, 31)

DDS exhiben una liberación sostenida de doxorubicina (DOX), un antibiótico antitumoral y citotoxicidad contra OSCC. Algunos ejemplos de DDS son:

- complejo de nanoferritina, que puede atrapar y entregar la DOX de manera eficiente a las células cancerosas. El transportador contiene una secuencia de motivo corta y responde a las MMP, lo que desencadena la administración del fármaco
 - NP de poliglutamato (PGA) que contienen Indocianina verde (ICG), un colorante para diagnóstico. Los DDS demostraron una citotoxicidad mejorada y un efecto antitumoral in vitro
 - Hidrogeles de tamaño sintético, incorporado con DOX. DOX e ICG se liberaron de manera efectiva en presencia de MMP, lo que mejoró en gran medida la retención de nanomateriales en el sitio del tumor, matando así las células cancerosas orales con irradiación de infrarrojo cercano de 808 nm.
- (31)

CONCLUSIONES

A través nuestros resultados y discusión podemos dar respuestas a los objetivos planteados concluyendo que:

1. Las enzimas proteolíticas pueden ser utilizadas como un biomarcador valido de diagnóstico precoz y pronóstico del cáncer oral. Su papel en el pronóstico es tan importante que actúan no solo directamente en primera persona sino también indirectamente relacionados con otros factores pronostico del cáncer como polimorfismos de un solo nucleótido o SNP y con el proceso EMT. Sin embargo, el papel de estas enzimas no se limita solo a esto sino las proteasas parecen ser útiles también para el cribado, seguimiento, evaluación del grado y progresión tumoral, su recurrencia y tratamiento. El uso de proteasas individuales como biomarcadores del cáncer oral no es aconsejable. Lo ideal es encontrar una combinación de proteasas como A9CvK5 considerado el biomarcador potencial optimo o valorar el nivel de la proteasa junto al nivel de su inhibidor para un diagnóstico más preciso. Niveles séricos y salivales elevados de las enzimas proteolíticas se pueden usar como herramienta de detección temprana en los casos de lesiones premalignas y cáncer oral. Se aconseja buscar marcadores en suero solo en caso del seguimiento postoperatorio. Los marcadores en saliva presentan más ventajas. En efecto, la detección de enzimas proteolítica salivales se considera como la mejor herramienta diagnóstico precoz.
2. No parece haber asociación entre enzimas proteolíticas y factores de riesgo excepto por enfermedades previas como infección por cándida o periodontitis crónica. Esto podría ser debido a que en la mayoría de los casos falta asociación con los parámetros clínicos morfológicos, localización y tamaño del tumor primario y otros como tabaco, nuez de betel, edad y sexo la

información es confusa. Sin embargo, la aportación de más estudios podría cambiar esta consideración ya que la información es pobre.

3. La morbilidad del cáncer oral es muy elevada por lo que son necesarias más investigaciones para tener un conocimiento bien amplio de las enzimas proteolíticas que se expresan en pacientes sanos y/o en pacientes con cáncer oral con el fin de obtener una comparación exhaustiva entre tejido enfermo y tejido sano y permitir un diagnóstico lo más certero posible. las enzimas proteolíticas dan la posibilidad de detectar el cáncer oral 6 meses antes de la aparición de síntomas clínicos, así, a través un diagnóstico certero inmediato el cáncer oral podría ser tratado en los primeros estadios permitiendo la sanación completa del paciente. Este trabajo, sostiene la esperanza de que el análisis del espectro de proteasas en los fluidos tisulares confinada hasta ahora al laboratorio debido a la sensibilidad y especificidad, requisitos técnicos y al costo de estos biomarcadores potenciales pueda convertirse en un método que pueda ser utilizado diariamente a nivel practico e *in vivo* en pacientes.
4. Según las investigaciones analizadas podemos concluir que algunas enzimas proteolíticas pueden ser encontrada en las lesiones precancerosas, pero no todas. La presencia de elevados niveles de determinadas proteasas en vez que otras puede permitir realizar un diagnóstico diferencial fácil y rápido entre los diferentes tipos de lesiones precancerosas o entre cáncer oral y lesión precancerosas. De hecho, a medida que un trastorno oral potencialmente maligno se desplaza hacia la malignidad aumenta la presencia de diferentes tipos de MMP y de su nivel de expresión.
5. A través el estudio de las metaloproteinasas podemos encontrar nuevas técnicas de tratamientos al cáncer oral. Actualmente, los expertos en el campo

todavía están trabajando para desarrollar fármacos anti-MMP útiles. La terapia dirigida en forma de inhibidores de MMP2 se puede usar contra MMP en el futuro, de hecho, actualmente se está estudiando en ensayos clínicos, pero se necesita más estudios como la literatura de apoyo hasta esta fecha es escasa. También es necesario realizar más estudios *in vivo* para demostrar la actividad funcional de las MMP y TIMP porque aún no es posible dilucidar cómo se regulan/desregulan y determinar qué sustratos interfieren en los diferentes procesos. Se están explorando además otras sustancias para futuras estrategias del tratamiento de cáncer oral como la luteína y buscando nuevas dianas terapéuticas a través las enzimas proteolíticas como PGG y la Sesamina.

BIBLIOGRAFÍA

1. Organización mundial de la salud, 2022, "Cáncer" [Internet]. Who.int. [citado el 28 de febrero de 2023]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
2. D'Cruz AK, Vaish R, Dhar H. Oral cancers: Current status. *Oral Oncol.* 2018 Dec; 87:64-69. doi: 10.1016/j.oraloncology.2018.10.013. Epub 2018 Oct 24. PMID: 30527245.
3. Kherde P, Gosavi S. Serum levels of matrix metalloproteinase-2 in patients with oral submucous fibrosis and oral squamous cell carcinoma. *Int J Res Med Sci* 2020; 8:636-43
4. Fan HX, Li HX, Chen D, Gao ZX, Zheng JH. Changes in the expression of MMP2, MMP9, and ColIV in stromal cells in oral squamous tongue cell carcinoma: relationships and prognostic implications. *J Exp Clin Cancer Res.* 2012 Oct 29;31(1):90. doi: 10.1186/1756-9966-31-90. PMID: 23107277; PMCID: PMC3490717.
5. Villanueva-Sánchez F.G, Leyva-Huerta E.R, Gaitán-Cepeda L.A. Cáncer en pacientes jóvenes (Parte 2) Carcinomas de cavidad bucal en sujetos de bajo riesgo: Presentación de 4 casos y revisión de la literatura. *Odontoestomatología* [Internet]. 2016 Nov [citado 2022 Nov 17]; 18(28): 67-75. Disponible en: http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1688-93392016000200009&lng=es.
6. Radulescu R, Totan AR, Imre MM, Miricescu D, Didilescu A, Greabu M. Mediators of extracellular matrix degradation and inflammation: A new team of possible biomarkers for oral squamous cell carcinoma stage. *Exp Ther Med* [Internet]. 2021;22(2):877. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3892/etm.2021.10309>
7. Дмитриевна БЮ, Анатольевна КЛ. МАТРИКСНЫЕ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ

- ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ МАРКЕР ПРИ ОНКОПАТОЛОГИИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА. ЧАСТЬ 1. Современная стоматология [Internet]. 2020 [citado el 16 de octubre de 2022];(4 (81)):6–9. Disponible en: <https://cyberleninka.ru/article/n/matriksnye-metalloproteinazykak-potentsialnyy-diagnosticheskiy-marker-pri-onkopatologii-slizistoy-obolochki-polosti-rta-chast-1>
8. Huang, Shun Hong, Ching Hsuan Law, Ping Hsueh Kuo, Ren Yu Hu, Ching Chieh Yang, Ting Wen Chung, Ji Min Li, et al. 2016. “MMP-13 Is Involved in Oral Cancer Cell Metastasis.” *Oncotarget*. Impact Journals LLC. doi:10.18632/oncotarget.7942
 9. Smriti K, Ray M, Chatterjee T, Shenoy RP, Gadicherla S, Pentapati KC, Rustaqi N. Salivary MMP-9 as a Biomarker for the Diagnosis of Oral Potentially Malignant Disorders and Oral Squamous Cell Carcinoma. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2020 Jan 1;21(1):233-238. doi: 10.31557/APJCP.2020.21.1.233. PMID: 31983189; PMCID: PMC7294014.
 10. Кочурова Е.В., Козлов С.В., Николенко В.Н., Гуйтер О.С. ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ БИОМАРКЕРОВ РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ НОВООБРАЗОВАНИЯХ ОКОЛОУШНОЙ СЛЮННОЙ ЖЕЛЕЗЫ // Российский онкологический журнал. - 2013. - Т. 18. - №5. - С. 30-32. doi: [10.17816/onco40016](https://doi.org/10.17816/onco40016)
 11. Baburathinam, S., Shyamsundar, V., Aravindh Babu, N., Nagarajan, K., Ramshankar, V., & Masthan K.M., K. (2019). EXPRESSION OF SERUM AND SALIVARY MMP-1 AND MMP-9 IN ORAL CANCER, ORAL POTENTIALLY MALIGNANT DISORDERS AND NORMALS. *Journal of Biomedical and Pharmaceutical Research*.
 12. Анатольевна Кл, Дмитриевна БЮ. Матриксные металлопротеиназы как потенциальный диагностический маркер воспалительных и неопластических процессов в полости рта. Современная

- стоматология [Internet]. 2019 [citado el 16 de octubre de 2022];(2 (75)):17–20. Disponible en: <https://cyberleninka.ru/article/n/matriksnye-metalloproteinazy-kak-potentsialnyy-diagnosticheskiy-marker-vospalitelnyh-i-neoplasticheskikh-protsessov-v-polosti-rta>
13. Nascimento GJFD, Silva LPD, Matos FR, Silva TAD, Medeiros SRB, Souza LB, Freitas RA. Polymorphisms of matrix metalloproteinase-7 and -9 are associated with oral tongue squamous cell carcinoma. *Braz Oral Res.* 2020 Nov 23;35:e019. doi: 10.1590/1807-3107bor-2021.vol35.0019. PMID: 33237244.
 14. Shafiq, Fiza & Saleem Khan, Abbas & Ahmad, Sajjad & Khan, Malik & Javed, Bajwa & Hussain, Talib. (2021). Immunoexpression of Matrix Metalloproteinase-9 in Histopathological tissue samples of oral Squamous Cell Carcinoma. *Pakistan Journal of Medical and Health Sciences.* 15. 2666-2669. 10.53350/pjmhs2115102666.
 15. Chang, Ya Ting, Lichieh Julie Chu, Yen Chun Liu, Chih Jou Chen, Shu Fang Wu, Chien Hua Chen, Ian Yi Feng Chang, et al. 2020. "Verification of Saliva Matrix Metalloproteinase-1 as a Strong Diagnostic Marker of Oral Cavity Cancer." *Cancers* 12 (8). MDPI AG: 1–18. doi:10.3390/cancers12082273.
 16. Cabral-Pacheco GA, Garza-Veloz I, Castruita-De la Rosa C, Ramirez-Acuña JM, Perez-Romero BA, Guerrero-Rodriguez JF, Martinez-Avila N, Martinez-Fierro ML. The Roles of Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors in Human Diseases. *Int J Mol Sci.* 2020 Dec 20;21(24):9739. doi: 10.3390/ijms21249739. PMID: 33419373; PMCID: PMC7767220.
 17. Vilalta Anna & Sahuquillo, Juan & Pastor-Nieto, Maria. (2010). Metaloproteinasas de matriz en las lesiones neurológicas: ¿una nueva diana terapéutica?. *Revista de Neurología.* 51. 95. 10.33588/rn.5102.2009643.

18. Pereira Prado Vanesa, Asquino Natalia, Apellaniz Delmira, Bueno Rossy Luis, Tapia Gabriel, Bologna Molina Ronell. Metaloproteinasas de la matriz extracelular (mmps) en Odontología. *Odontoestomatología* [Internet]. 2016 Nov [citado 2022 Nov 02]; 18(28): 20-29. Disponible en: http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1688-93392016000200004&lng=es.
19. Kochurova EV, Nikolenko VN. Estimation of Expression of Oral Fluid Biomarkers in the Diagnosis of Pretumor Diseases of Oral Mucosa. *Bull Exp Biol Med*. 2017 May;163(1):87-91. doi: 10.1007/s10517-017-3744-8. Epub 2017 Jun 3. PMID: 28580490.
20. Enăşescu, D.A.; Moisescu, M.G.; Imre, M.; Greabu, M.; Ripszky Totan, A.; Stanescu-Spinu, I.; Burcea, M.; Albu, C.; Miricescu, D. Lutein Treatment Effects on the Redox Status and Metalloproteinase-9 (MMP-9) in Oral Cancer Squamous Cells—Are There Therapeutical Hopes? *Materials* 2021, 14, 2968. <https://doi.org/10.3390/ma14112968>
21. Chen JM, Chen PY, Lin CC, Hsieh MC, Lin JT. Antimetastatic Effects of Sesamin on Human Head and Neck Squamous Cell Carcinoma through Regulation of Matrix Metalloproteinase-2. *Molecules*. 2020 May 10;25(9):2248. doi: 10.3390/molecules25092248. PMID: 32397656; PMCID: PMC7249112.
22. Matias, Catalina & Bordieri, Thomas & Roberts, Dallin & Cheever, Val & Munk, Lyle & Lipsky, Martin & Fahmy, Mina & Gross, Andrew. (2019). Small Molecule Inhibition of Matrix Metalloproteinases as a Potential Therapeutic for Metastatic Activity in Squamous Cell Carcinoma. *Oral Cancer*. 3. 10.1007/s41548-019-00017-7
23. Kolude B, Adisa AO Lawal AO, Adeyemi BF, Akinyamoju AO. Stoichiometric expression of MMP-2/TIMP-2 in benign and malignant tumours of the salivary gland. *Tumour Biol*. 2015 Apr;36(4):2351-7. doi: 10.1007/s13277-014-2842-8. Epub 2014 Nov 21. PMID: 25412957

24. Feng Y, Li Q, Chen J, Yi P, Xu X, Fan Y, Cui B, Yu Y, Li X, Du Y, Chen Q, Zhang L, Jiang J, Zhou X, Zhang P. Salivary protease spectrum biomarkers of oral cancer. *Int J Oral Sci.* 2019 Jan 3;11(1):7. doi: 10.1038/s41368-018-0032-z. PMID: 30602733; PMCID: PMC6315043.
25. Hema Shree K, Ramani P, Sherlin H, Sukumaran G, Jeyaraj G, Don KR, Santhanam A, Ramasubramanian A, Sundar R. Saliva as a Diagnostic Tool in Oral Squamous Cell Carcinoma - a Systematic Review with Meta Analysis. *Pathol Oncol Res.* 2019 Apr;25(2):447-453. doi: 10.1007/s12253-019-00588-2. Epub 2019 Feb 2. PMID: 30712193.
26. Shin Y-J, Vu H, Lee J-H, Kim H-D (2021) Diagnostic and prognostic ability of salivary MMP9 for oral squamous cell carcinoma: A pre-/postsurgery case and matched control study. *PLoS ONE* 16(3): e0248167. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0248167>
27. Ghallab NA, Shaker OG. Serum and salivary levels of chemerin and MMP-9 in oral squamous cell carcinoma and oral premalignant lesions. *Clin Oral Investig.* 2017 Apr;21(3):937-947. doi: 10.1007/s00784-016-1846-8. Epub 2016 May 10. PMID: 27161218. (27)
28. Saleem Z, Shaikh AH, Zaman U, Ahmed S, Majeed MM, Kazmi A, Farooqui WA. Estimation of salivary matrix metalloproteinases- 12 (MMP- 12) levels among patients presenting with oral submucous fibrosis and oral squamous cell carcinoma. *BMC Oral Health.* 2021 Apr 23;21(1):205. doi: 10.1186/s12903-021-01571-7. PMID: 33892690; PMCID: PMC8066978.
29. Peisker A, Raschke GF, Fahmy MD, Guentsch A, Roshanghias K, Hennings J, Schultze-Mosgau S. Salivary MMP-9 in the detection of oral squamous cell carcinoma. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2017 May 1;22(3):e270-275. doi: 10.4317/medoral.21626. PMID: 28160595; PMCID: PMC5432074.

30. Juurikka K, Butler GS, Salo T, Nyberg P, Åström P. The Role of MMP8 in Cancer: A Systematic Review. *Int J Mol Sci.* 2019 Sep 11;20(18):4506. doi: 10.3390/ijms20184506. PMID: 31514474; PMCID: PMC6770849.
31. Li H, Zhang Y, Xu M, Yang D. Current trends of targeted therapy for oral squamous cell carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2022 Sep;148(9):2169-2186. doi: 10.1007/s00432-022-04028-8. Epub 2022 May 2. PMID: 35501496.
32. Kochurova EV. Comparative Role of Matrixins in Diagnostics of Parotid Gland Tumors. *Bull Exp Biol Med.* 2019 Jan;166(3):383-385. doi: 10.1007/s10517-019-04355-w. Epub 2019 Jan 8. PMID: 30617705.
33. Ciucă FI, Mărășescu PC, Matei M, Florescu AM, Mărgăritescu C, Demetrian AD, Drăgan I, Dumitrescu CI. The prognostic value of CXCR4, MMP-2 and MMP-9 in tongue squamous carcinoma. *Rom J Morphol Embryol.* 2019;60(1):59-68. PMID: 31263828.
34. Hsin CH, Chen MK, Tang CH, Lin HP, Chou MY, Lin CW, Yang SF. High level of plasma matrix metalloproteinase-11 is associated with clinicopathological characteristics in patients with oral squamous cell carcinoma. *PLoS One.* 2014 Nov 25;9(11):e113129. doi: 10.1371/journal.pone.0113129. PMID: 25423087; PMCID: PMC4244114.
35. Hsin CH, Chou YE, Yang SF, Su SC, Chuang YT, Lin SH, Lin CW. MMP-11 promoted the oral cancer migration and Fak/Src activation. *Oncotarget.* 2017 May 16;8(20):32783-32793. doi: 10.18632/oncotarget.15824. PMID: 28427180; PMCID: PMC5464827.
36. Nawaz A, Mäkinen A, Pärnänen P, Meurman JH. Proteolytic activity of non-albicans *Candida* and *Candida albicans* in oral cancer patients. *New Microbiol.* 2018 Oct;41(4):296-301. Epub 2018 Oct 12. PMID: 30311625.
37. Henriques AC, de Matos FR, Galvão HC, Freitas Rde A. Immunohistochemical expression of MMP-9 and VEGF in squamous cell carcinoma of the tongue. *J Oral Sci.* 2012 Mar;54(1):105-11. doi: 10.2334/josnusd.54.105. PMID: 22466894.

38. Vilen ST, Salo T, Sorsa T, Nyberg P. Fluctuating roles of matrix metalloproteinase-9 in oral squamous cell carcinoma. *ScientificWorldJournal*. 2013; 2013:920595. doi: 10.1155/2013/920595. Epub 2013 Jan 8. PMID: 23365550; PMCID: PMC3556887.
39. Yang CC, Zhu LF, Xu XH, Ning TY, Ye JH, Liu LK. Membrane Type 1 Matrix Metalloproteinase induces an epithelial to mesenchymal transition and cancer stem cell-like properties in SCC9 cells. *BMC Cancer*. 2013 Apr 1; 13:171. doi: 10.1186/1471-2407-13-171. PMID: 23548172; PMCID: PMC3637131.
40. Cai M, Zheng Z, Bai Z, Ouyang K, Wu Q, Xu S, Huang L, Jiang Y, Wang L, Gao J, Pathak JL, Wu L. Overexpression of angiogenic factors and matrix metalloproteinases in the saliva of oral squamous cell carcinoma patients: potential non-invasive diagnostic and therapeutic biomarkers. *BMC Cancer*. 2022 May 11;22(1):530. doi: 10.1186/s12885-022-09630-0. PMID: 35545767; PMCID: PMC9092712
41. Wróbel-Roztropiński A, Zielińska-Kaźmierska B, Roztropiński H, Lucas-Grzelczyk W, Szemraj J, Józefowicz-Korczyńska M. 2021. Expression of matrix metalloproteinases (MMPs) and their inhibitor (TIMP) genes on mRNA and protein levels in oral squamous cell carcinoma. Disponible en: https://journals.viamedica.pl/nowotwory_journal_of_oncology/article/view/NJO.2021.0003
42. Jia LF, Wei SB, Mitchelson K, Gao Y, Zheng YF, Meng Z, Gan YH, Yu GY. miR-34a inhibits migration and invasion of tongue squamous cell carcinoma via targeting MMP9 and MMP14. *PLoS One*. 2014 Sep 30;9(9):e108435. doi: 10.1371/journal.pone.0108435. PMID: 25268950; PMCID: PMC4182478.

ANEXOS

*Lista de términos abreviados:

- Dx: diagnóstico
- OMS: Organización mundial de salud
- OSCC: carcinoma oral de células escamosas
- OTSCC: carcinoma oral de células escamosas de la lengua
- MMP: metaloproteinasas de matriz
- MEC: matriz extracelular
- ColIV: colágeno tipo IV
- OPMD: lesiones premalignas
- TIMP: Inhibidores de las metaloproteinasas de matriz extracelular
- Tto: tratamiento
- IHQ: inmunohistoquímica
- H&E: hematoxilina y eosina
- ELISA: ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas
- IF: inmunofluorescencia
- PCR-RFLP: reacción en cadena de polimerasa
- AP: adenoma pleomórfico
- ACC: carcinoma adenoide quístico
- SNP: polimorfismos de un solo nucleótido
- tfg- β : factor de crecimiento transformante beta
- EMT: proceso de transición epitelio-mesénquima
- MT1-MMP: metaloproteinasa de matriz tipo 1 de membrana
- MAPK: proteínas quinasas activadas por mitógenos
- ERK: Quinasa regulada por señal extracelular
- PGG: penta O galoil β d glucosa
- NPs: carotenoides cargados en nanopartículas
- Lut: luteína

- DDS: nanofármacos
- DOX: doxorubicina
- ICG: Indocianina verde