

UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA
FACULTADE DE MEDICINA E ODONTOLOXÍA
TRABAJO FIN DE GRADO DE ODONTOLOGÍA

Título del TFG: “Precisión diagnóstica de la combinación de biomarcadores salivales para la detección de periodontitis: una revisión sistemática”.

Autor: Castañal Pérez, Miguel

Tutora: Tomás Carmona, Inmaculada

Cotutora: Blanco Pintos, Triana

Departamento: Cirugía y especialidades médico-quirúrgicas

Curso académico: 2019-2020

Convocatoria: Julio

RESUMEN

Objetivo: Analizar, mediante un enfoque meta-analítico, la capacidad diagnóstica de los biomarcadores múltiples en saliva para la detección de la periodontitis en sujetos sistémicamente sanos.

Material y métodos: La búsqueda de artículos se realizó en varias bases de datos electrónicas. Los artículos elegibles fueron aquellos que presentaban una tabla de contingencia binaria o valores de especificidad y sensibilidad en individuos con un diagnóstico clínico de periodontitis. La calidad metodológica se evaluó mediante la herramienta "Quality Assessment of Diagnostic Studies" (QUADAS-2).

Resultados: La combinación de dos biomarcadores salivales formada por IL1beta e IL6, e IL6 y MMP8 se asociaron a porcentajes de sensibilidad del 94%-77% y especificidad del 98-72%. La combinación IL1beta y MMP8 presentó una sensibilidad del 88-76% y una especificidad del 97-72%. La combinación de tres biomarcadores salivales formada por IL1beta, IL6 y MMP8, presentó un porcentaje de sensibilidad del 94-76% y especificidad del 97-74%. La combinación de cuatro biomarcadores salivales formada por IL1beta, IL6, MIP1alpha y MMP8 presentó porcentajes de sensibilidad y especificidad que oscilaron entre 80-72.5% y 80-72.5%.

Conclusiones: IL1beta e IL6, IL6 y MMP8, e IL1beta y MMP8 son las combinaciones de biomarcadores salivales más investigadas en el diagnóstico de periodontitis. El uso combinado de estos biomarcadores presenta una capacidad excelente o buena para detectar la periodontitis, y excelente o aceptable para detectar la condición de no periodontitis; esta capacidad diagnóstica no se incrementa al incorporar otros biomarcadores. Se constata que el uso en conjunto de estas combinaciones de dos biomarcadores salivales parece incrementar su rendimiento en el diagnóstico de periodontitis en comparación con el uso de estos mismos biomarcadores de forma individual, aunque debido a la heterogeneidad de los resultados encontrados se precisa mayor evidencia que corrobore estas observaciones.

Palabras clave: multibiomarcadores, periodontitis, precisión diagnóstica, valores predictivos, prevalencia, sensibilidad, especificidad, revisión sistemática, saliva.

RESUMO

Obxectivo: analizar, mediante un enfoque meta-analítico, a capacidade diagnóstica dos biomarcadores múltiples en saliva para a detección da periodontite en suxeitos sistémicamente sanos.

Material e métodos: a búsqueda de artigos realizouse en varias bases de datos electrónicas. Os artigos elixibles foron aqueles que presentaban unha táboa de continxencia binaria ou valores de especificidade e sensibilidade en individuos cun diagnóstico clínico de periodontite. A calidade metodolóxica evaluouse mediante a ferramenta "Quality Assessment of Diagnostic Studies" (QUADAS-2).

Resultados: A combinación de dous biomarcadores salivais formada por IL1beta e IL6, e IL6 e MMP8 asociáronse a porcentaxes de sensibilidade do 94%-77% e especificidade do 98-72%. A combinación IL1beta e MMP8 presentou unha sensibilidade do 88-76% e unha especificidade do 97-72%. A combinación de tres biomarcadores salivais formada por IL1beta, IL6 e MMP8, presentou unha porcentaxe de sensibilidade do 94-76% e especificidade do 97-74%. A combinación de catro biomarcadores salivais formada por IL1beta, IL6, MIP1alpha e MMP8 presentou porcentaxes de sensibilidade e especificidade que oscilaron entre 80-72.5% e 80-72.5%.

Conclusións: IL1beta e IL6, IL6 e MMP8, e IL1beta e MMP8 son as combinacións de biomarcadores salivais máis investigadas no diagnóstico da periodontite. O uso combinado destes biomarcadores presenta unha capacidade excelente ou boa para detectar a periodontite, e excelente ou aceptábel para detectar a condición de non periodontite; esta capacidade diagnóstica non se incrementa ao incorporar outros biomarcadores. Constátase que o uso en conxunto destas combinacións de dous biomarcadores salivais parece incrementar o seu rendemento no diagnóstico da periodontite en comparación co uso destes mesmos biomarcadores de forma individual, aínda que debido á heteroxenidade dos resultados encontrados precísase dunha maior evidencia que corrobore estas observacións.

Palabras chave: multibiomarcadores, periodontite, precisión diagnóstica, valores predictivos, prevalencia, sensibilidade, especificidade, revisión sistemática, saliva.

SUMMARY

Objective: to analyze, through a meta-analytic approach, the diagnostic capability of multibiomarkers in saliva for the detection of periodontitis in systemically healthy subjects.

Material and methods: the search for articles was performed in several electronic databases. The articles chosen were those that presented a binary contingency table or specificity and sensitivity values in individuals with a clinical diagnosis of periodontitis. The methodological quality was evaluated using the tool "Quality Assessment of Diagnostic Studies" (QUADAS-2).

Results: The combination of two salivary biomarkers formed by IL1beta and IL6, and IL6 and MMP8 were associated with percentages of sensitivity of 94%-77% and specificity of 98-72%. The combination IL1beta and MMP8 presented a sensitivity of 88-76% and a specificity of 97-72%. The combination of three salivary biomarkers formed by IL1beta, IL6 and MMP8, presented a percentage of sensitivity of 94-76% and specificity of 97-74%. The combination of four salivary biomarkers formed by IL1beta, IL6, MIP1alpha and MMP8 presented percentages of sensitivity and specificity ranging from 80-72.5% to 80-72.5%.

Conclusions: IL1beta and IL6, IL6 and MMP8, and IL1beta and MMP8 are the most researched combinations of salivary biomarkers in the diagnosis of periodontitis. The combined use of these biomarkers presents an excellent or good capacity to detect periodontitis, and excellent or acceptable capacity to detect the condition of non-periodontitis; this diagnostic capacity is not increased by incorporating other biomarkers. It is noted that the combined use of these two salivary biomarkers appears to increase performance in the diagnosis of periodontitis compared to the use of these same biomarkers individually, although due to the heterogeneity of the results found, more evidence is needed to corroborate these observations.

Keywords: multibiomarkers, periodontitis, diagnostic accuracy, predictive values, prevalence, sensitivity, specificity, systematic review, saliva.

AGRADECIMIENTOS

“Quisiera expresar todo el máximo agradecimiento a mi tutora Inmaculada Tomás, por la ayuda que me ha prestado en la realización de este trabajo fin de grado, por haber confiado en mí para llevarlo a cabo y por dedicarme su tiempo y su conocimiento. Sin todo ello la realización de este trabajo hubiese sido muy difícil.”

“Agradecer también a mi cotutora, Triana Blanco, por estar a mi lado todos estos meses, resolviendo mis dudas y apoyándome en todo momento. Agradecer también su paciencia a la hora de confeccionar las múltiples tablas de Excel así como la interpretación de los resultados del trabajo.”

“Me gustaría también agradecer a mi familia por todo su apoyo durante la realización de este trabajo y durante estos cinco años de carrera; sin ellos, todo esto tampoco habría sido posible”

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	7
1. Periodontitis: epidemiología, clasificación, impacto y tratamiento.....	7
2. Diagnóstico de periodontitis en base a parámetros clínicos.....	7
3. Prueba(s) de diagnóstico basadas en biomarcadores salivales.....	8
OBJETIVOS.....	9
MÉTODOS.....	9
1. Criterios para la inclusión de estudios en esta revisión.....	9
2. Métodos de búsqueda para la identificación de los estudios.....	11
2.1. Búsquedas electrónicas. Estrategia de búsqueda.....	11
RECOPIACIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS.....	13
1. Selección de los estudios de precisión diagnóstica en la saliva.....	13
2. Extracción y manejo de datos.....	13
3. Evaluación de la calidad metodológica.....	14
4. Análisis estadístico y síntesis de datos.....	16
RESULTADOS.....	17
1. Selección de los estudios de precisión diagnóstica en la saliva.....	17
2. Características de los estudios de precisión diagnóstica en la saliva.....	17
3. Evaluación de la calidad de los estudios de precisión diagnóstica en saliva.....	21
4. Síntesis de los análisis cualitativos de las combinaciones de biomarcadores salivales.....	22
DISCUSIÓN.....	28
1. Observación de la heterogeneidad y de la calidad de los estudios de precisión diagnóstica en saliva.....	28
2. Precisión de los biomarcadores en la saliva para el diagnóstico de la periodontitis.....	29
3. Implicaciones para la práctica y perspectiva futura.....	31
REFERENCIAS.....	33

INTRODUCCIÓN

1. Periodontitis: epidemiología, clasificación, impacto y tratamiento

La periodontitis está reconocida como una de las enfermedades crónicas más prevalentes de todo el mundo (Dentino et al, 2013), afectando a más del 50% de la población adulta y con una prevalencia del 11% en sus grados más severos (Tonetti et al, 2015). En 2010, se estimó que la periodontitis severa era la sexta enfermedad más prevalente en el mundo, afectando a 743 millones de personas (Kassebaum et al, 2014).

La periodontitis es una inflamación de los tejidos de soporte del diente con una pérdida progresiva del nivel de inserción y destrucción de hueso, lo que da lugar a la pérdida de los dientes (Cekici et al, 2014, Dentino et al, 2013). La gravedad de la periodontitis depende de diversos factores de riesgo, tanto ambientales como del huésped, que pueden ser modificables (por ejemplo, el hábito de fumar) o no modificables (por ejemplo, la susceptibilidad genética). Recientemente se ha publicado una nueva clasificación de las enfermedades y condiciones periodontales y periimplantarias (Caton et al, 2018), diferenciándose tres formas de periodontitis: la periodontitis (que incluye las reconocidas anteriormente como "crónicas" o "agresivas"; ahora agrupadas en una sola categoría), la periodontitis necrotizante y la periodontitis como manifestación de una enfermedad sistémica. Esta clasificación de la periodontitis se caracteriza por un sistema multidimensional de grados y estadios (Caton et al, 2018).

Las enfermedades periodontales no sólo afectan a la salud bucal de los pacientes, sino que también comprometen su estética y su calidad de vida (Al-Harhi et al, 2013). Además, en los últimos años, la periodontitis se ha vinculado de forma bidireccional a la patogénesis de diferentes enfermedades sistémicas, como la diabetes (Chapple & Genco, 2013) o las enfermedades cardiovasculares (Tonetti, 2009).

El tratamiento de la periodontitis incluye el raspado y alisado radicular u otros procedimientos de cirugía periodontal, la eliminación o reducción de los factores de riesgo y un mantenimiento periodontal adecuado. Entre las nuevas modalidades de tratamiento que se están explorando destacan la terapia antimicrobiana, la terapia de modulación del huésped, la terapia con láser y la ingeniería tisular para la reparación y regeneración de tejidos (Sanz & Teughels, 2008).

2. Diagnóstico de periodontitis en base a parámetros clínicos

El concepto de diagnóstico se define como "la identificación de la naturaleza de una enfermedad u otro problema mediante el análisis de los síntomas". En Periodoncia, el primer reto para el tratamiento de la periodontitis es un diagnóstico precoz y preciso, ya que la pérdida de hueso y de tejido blando es progresiva e irreversible (Kinane et al, 2017).

Los parámetros clínicos tradicionales nos proporcionan información para evaluar la severidad de la periodontitis y la respuesta al tratamiento, y, entre ellos, figuran: la presencia de placa o el nivel de higiene bucal; la inflamación gingival y el índice de sangrado al sondaje (ISS); la profundidad de sondaje periodontal (PSP) y la supuración; la pérdida de inserción

clínica (PIC); y, la pérdida ósea (PO) observada radiográficamente (Chatzistavrianou & Blair, 2017, Kinane et al, 2017).

Actualmente, estos parámetros clínicos y radiográficos tradicionales son las mejores medidas disponibles para diagnosticar y controlar tanto el curso de la enfermedad como la eficacia del tratamiento (Tonetti et al, 2018). No obstante, estos parámetros sólo pueden evaluar signos tardíos de la periodontitis, su extensión actual y su gravedad; pero no nos permiten obtener información fiable sobre la actividad biológica actual de la enfermedad ni sobre su evolución futura. Además, la progresión de la periodontitis es intermitente (“a brotes”) y esto hace que sea complicado evaluar de manera precisa el estado actual de la enfermedad. Además, el diagnóstico clínico es un procedimiento tedioso que debe repetirse regularmente y requiere de múltiples registros manuales así como de profesionales expertos en el diagnóstico de la enfermedad (Alassiri et al, 2018). Por ello, la práctica del diagnóstico clínico de periodontitis requiere mucho tiempo, está sujeto a posibles errores en la medición de los parámetros y, frecuentemente, es mal tolerado por los pacientes (Miller et al, 2010).

En este sentido, la comunidad científica está promoviendo cada vez más el descubrimiento de biomarcadores que sean cuantificables de forma objetiva en los fluidos orales para el diagnóstico precoz y el seguimiento de la periodontitis, los cuales reflejen de manera fiable el estado fisiopatológico del surco gingival (Ghallab, 2018).

3. Prueba(s) de diagnóstico basadas en biomarcadores salivales

El término "biomarcador" se refiere a una característica que se mide objetivamente, representando un indicador de un proceso fisiológico, un proceso patológico o de respuesta a una intervención terapéutica (Biomarkers Definitions Working Group, 2001). Debido a que la recolección de saliva es un proceso no invasivo y sencillo, ya que se realiza sin necesidad de un equipo especial, este fluido se considera útil para posibles pruebas de detección de la periodontitis no tratada y tratada (Barros et al, 2016).

Actualmente se sabe que, aunque el factor desencadenante de la periodontitis es una disbiosis polimicrobiana (Camelo-Castillo et al, 2015), su patogénesis se debe al desarrollo de una respuesta inmunológica e inflamatoria crónica del huésped (Ebersole et al, 2013, Jaedicke et al, 2016). Numerosos artículos han demostrado la presencia de diversos mediadores moleculares en la saliva, confirmando de esta forma la existencia de un perfil diferente asociado a la periodontitis y como este perfil se ve alterado tras la realización de un tratamiento periodontal (AlMoharib et al, 2014, Korte & Kinney, 2016). Algunas de estas investigaciones se centraron en estudios de precisión diagnóstica (Johnson et al, 2016, Wu et al, 2018).

Centrándonos en revisiones sistemáticas sobre estudios de precisión diagnóstica de biomarcadores salivales, sólo tenemos conocimiento de la existencia de dos revisiones a este respecto. La primera de ellas fue realizada por de Lima et al. (2016), y estos autores llegaron a la conclusión de que actualmente no existe una evidencia que confirme la capacidad de los biomarcadores salivales para diagnosticar la periodontitis. La segunda revisión sistemática fue recientemente publicada por nuestro grupo de investigación, siendo el primer meta-análisis sobre este tema (Arias-Bujanda et al, 2020). Los resultados de nuestro trabajo pusieron de manifiesto que las metaloproteinasas de matriz 8 y 9, las interleuquinas 1beta y 6, y la hemoglobina eran biomarcadores salivales con buena capacidad para detectar la periodontitis

en sujetos sistémicamente sanos; la metaloproteinasa matriz 9 y la interleuquina 1beta también mostraron una buena capacidad para detectar la condición de no-periodontitis.

Sin embargo, hasta el momento, no hay ninguna revisión sistemática sobre la precisión de múltiples biomarcadores moleculares en saliva para el diagnóstico de la periodontitis. Por consiguiente, el presente trabajo es esencial para demostrar la hipótesis de que la capacidad de diagnosticar la periodontitis puede aumentar cuando se combinan al menos dos biomarcadores moleculares salivales. Nuestra pretensión final es guiar el desarrollo de estudios bien diseñados de precisión diagnóstica de biomarcadores moleculares, que pueden representar herramientas prometedoras para el diagnóstico de la periodontitis.

OBJETIVOS

El principal objetivo de esta revisión sistemática es estudiar la bibliografía existente con el fin de determinar la precisión de múltiples biomarcadores moleculares, derivados del huésped y de la microbiota detectada en la saliva, para el diagnóstico de la periodontitis.

La pregunta PICO formulada (paciente, prueba biomarcador, comparación, resultado) fue la siguiente: "En sujetos sistémicamente sanos, ¿la expresión de una combinación de biomarcadores moleculares en la saliva muestra capacidad de diagnosticar la periodontitis en comparación con los parámetros clínicos?".

MÉTODOS

Esta revisión sistemática se ha realizado de acuerdo con los parámetros establecidos para una revisión sistemática de estudios de precisión de pruebas diagnósticas (Declaración PRISMA-DTA) (McInnes et al, 2018) y el manual Cochrane para revisiones sistemáticas sobre los test de precisión diagnóstica, versión 1.0.0 (Deeks & Bossuyt, 2013). El número de registro en PROSPERO es CRD42020175021.

1. Criterios para la inclusión de estudios en esta revisión

- Tipos de estudios de precisión

Se consideraron todos aquellos estudios que evaluaban de forma combinada más de un biomarcador molecular en la saliva, aportando resultados de precisión diagnóstica de individuos que presentaban una periodontitis diagnosticada clínicamente. En los estudios de precisión diagnóstica, los resultados derivados de la prueba de diagnóstico permiten clasificar a los pacientes según tengan o no la condición objetivo (por ejemplo, periodontitis frente a

salud periodontal). Por consiguiente, se incluyeron todos aquellos estudios de precisión diagnóstica observacionales y transversales, así como los longitudinales y de intervención.

Se excluyeron aquellos estudios que no proporcionaban una tabla de clasificación binaria (número de verdaderos positivos, número de verdaderos negativos, número de falsos positivos y número de falsos negativos) y no mostraban los tamaños muestrales de los grupos y los porcentajes de sensibilidad y especificidad, a partir de los cuales se pudiera calcular la tabla de clasificación.

- Participantes

Los participantes incluidos en esta revisión fueron pacientes sin un diagnóstico explícito de patología sistémica y con un diagnóstico periodontal clínico. Se excluyeron los estudios sobre pacientes con síndromes genéticos o enfermedades o afecciones sistémicas, así como los estudios sobre modelos experimentales *in vitro*.

- Condiciones objetivo y control

Siguiendo la clasificación de las enfermedades periodontales y las diferentes condiciones adquiridas establecidas por Armitage (1999), en esta revisión se evaluaron los siguientes tipos de periodontitis:

- Periodontitis crónica
- Periodontitis agresiva

Se consideró cualquier grado de periodontitis (leve, moderada o grave) como “condición objetivo”. Se excluyeron los estudios cuyas condiciones objetivo fueron la gingivitis, la periimplantitis u otras condiciones periodontales que no fuesen la periodontitis. En relación a la condición control se incluyeron pacientes con diagnóstico de salud periodontal y/o gingivitis.

- Estándar de referencia

El estándar de referencia para el diagnóstico de la periodontitis se basó únicamente en parámetros clínicos (PSP y PIC) o en parámetros clínicos y radiográficos (pérdida ósea -PO-), independientemente de los criterios diagnósticos aplicados. Por tanto, debido a la ausencia de criterios homogéneos en la literatura, se consideraron las definiciones basadas en los criterios comunicados por el autor.

En estos estudios de precisión diagnóstica, tanto la condición control como la condición objetivo implicaron un diagnóstico clínico del paciente de salud periodontal y/o gingivitis o periodontitis respectivamente.

Los estudios que no especificaron ningún estándar de referencia para el diagnóstico de la condición periodontal se excluyeron de la presente revisión. Tampoco, se consideraron aquellos estudios en los que no se evaluó el estado periodontal utilizando al menos uno de los parámetros clínicos (PSP o PIC).

- Prueba(s) de diagnóstico

Se consideró cualquier estudio que analizó, desde el punto de vista de la precisión, la combinación de al menos dos biomarcadores moleculares detectados en la saliva, siendo al menos uno de ellos un biomarcador molecular; a cada combinación de biomarcadores se le definió como una prueba de diagnóstico. Se excluyeron los estudios de precisión sobre un único biomarcador, aquellos que combinaron biomarcadores moleculares con parámetros clínicos periodontales o con preguntas sobre el estado periodontal contestadas por los propios pacientes, o aquellos detectados en otros fluidos, como la sangre.

- Otros criterios de exclusión

Se excluyeron los siguientes tipos de estudios: tesis, disertaciones, revisiones, cartas, opiniones personales, capítulos de libros, comunicaciones cortas, resúmenes de conferencias y patentes.

- Otras consideraciones

No se aplicaron restricciones en la fecha de publicación de los estudios, en el tipo de entorno donde se desarrollaba la investigación o en el estado de la publicación. Solo se incluyeron artículos escritos en inglés.

2. Métodos de búsqueda para la identificación de los estudios

2.1. Búsquedas electrónicas. Estrategia de búsqueda

La búsqueda se realizó a través de las bases de datos electrónicas PUBMED (MEDLINE), EMBASE, Cochrane Central Register of Controlled Trials and trial protocols LILACS, SCOPUS y Web of Science.

Las estrategias de búsqueda se desarrollaron siguiendo las recomendaciones establecidas por el Grupo Cochrane para las Revisiones Sistemáticas de las Pruebas de Precisión Diagnóstica (Cochrane Group for Systematic Reviews of Diagnostic Test Accuracy) (Deeks & Bossuyt, 2013). Por lo tanto, la estrategia de búsqueda para identificar estudios de precisión estuvo formada por tres conjuntos de términos: (i) términos definitorios de la condición objetivo (periodontitis); (ii) términos definitorios de las pruebas de diagnóstico (biomarcadores moleculares); (iii) términos definitorios del tipo de muestra oral analizada (saliva). Para reducir al mínimo la pérdida de cualquier estudio relevante, se evitó el uso de cualquier "filtro de búsqueda" basado en los términos metodológicos. También se verificaron las referencias de todos los estudios incluidos así como de otras revisiones relevantes sobre el tema

La estrategia de búsqueda, que se aplicó en las diferentes bases de datos electrónicas, se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Estrategia de búsqueda, que se utilizó en las diferentes bases de datos.

<ul style="list-style-type: none"> • Términos para la condición objetivo 		
<ol style="list-style-type: none"> 1. Periodontitis 2. Periodontal 3. 1 or 2 AND 		
<ul style="list-style-type: none"> • Términos para el tipo de muestra oral a analizar 		
<ol style="list-style-type: none"> 4. Saliva 		
<ul style="list-style-type: none"> • Términos para las pruebas de diagnóstico 		
<ol style="list-style-type: none"> 5. Amino acid 6. Antibody 7. Enzyme 8. Immunoglobulin 9. Marker 10. Mediator 11. Metabolite 12. Peptide 13. Protein 14. Substance 	<ol style="list-style-type: none"> 15. Activating factor 16. Adipocytokine 17. Adiponectin 18. Albumin 19. Aminopeptidase 20. Aminotransferase 21. Amylase 22. Antitrypsin 23. Arginase 24. Arylsulfatase 25. Ascorbate 26. Calcium 27. Calgranulin 28. Calprotectin 29. Cathepsin 30. CD14 31. Chemokine 32. Chitinase 33. Chondroitin 34. Collagenase 35. Complement C 36. Cortisol 37. Creatine 38. Creatinine 39. Cystatin 40. Cytokine 41. Dehydrogenase 42. Dipeptidyl peptidase 43. Elastase 44. Esterase 45. Fibronectin 46. Gingipain 47. Glucuronidase 48. Glycosaminoglycan 49. Glycosidase 50. Growth factor 51. Hexosaminidase 52. Hyaluronic 53. Hydroxydeoxyguanosine 	<ol style="list-style-type: none"> 54. Hydroxyproline 55. Interferon 56. Interleukin 57. Keratin 58. Lactoferrin 59. Laminin 60. Leptin 61. Leukotriene 62. Lysozyme 63. Macroglobulin 64. Melatonin 65. Metalloproteinase 66. Microglobulin 67. Myeloperoxidase 68. Neopterin 69. Neurokinin 70. Nitrate 71. Nitric oxide 72. Nitrite 73. Osteocalcin 74. Osteonectin 75. Osteopontin 76. Osteoprotegerin 77. Peptidase 78. Peroxidase 79. Phosphatase 80. Plasminogen 81. Prostaglandin 82. Protease 83. Proteinase 84. Pyridinoline 85. RANKL 86. RANTES 87. Resistin 88. Stromelysin 89. TIMP 90. Transferrin 91. Urate 92. Visfatin
<ol style="list-style-type: none"> 93. 5 or 6 or 7 or 8 or 9 or 10 or 11 or 12 or 13 or 14 or 15 or 16 or 17 or 18 or 19 or 20 or 21 or 22 or 23 or 24 or 25 or 26 or 27 or 28 or 29 or 30 or 31 or 32 or 33 or 34 or 35 or 36 or 37 or 38 or 39 or 40 or 41 or 42 or 43 or 44 or 45 or 46 or 47 or 48 or 49 or 50 or 51 or 52 or 53 or 54 or 55 or 56 or 57 or 58 or 59 or 60 or 61 or 62 or 63 or 64 or 65 or 66 or 67 or 68 or 69 or 70 or 71 or 72 or 73 or 74 or 75 or 76 or 77 or 78 or 79 or 80 or 81 or 82 or 83 or 84 or 85 or 86 or 87 or 88 or 89 or 90 or 91 or 92 		
<ol style="list-style-type: none"> 94. 3 AND 4 AND 93 		

RECOPIACIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS

1. Selección de estudios de precisión diagnóstica en saliva

La selección de los estudios se llevó a cabo por dos revisores (MCP y TBP), aplicando los siguientes pasos:

1. Selección inicial de los títulos y resúmenes potencialmente adecuados en función de la lista de palabras positivas y negativas (Tabla 2) con la finalidad de identificar los estudios que puedan ser relevantes.

Tabla 2. Lista de palabras positivas y negativas usadas para la selección de los artículos.

Positive words	Accuracy, sensitivity, specificity, threshold, area under curve, receiver operating, operating characteristic, positive predictive value, negative predictive value, true positive, true negative, false positive, false negative, point of care, chairside test, diagnostic test, prognostic test, logistic regression, canonic correlation, odd ratio, neuronal network, support vector machine, performance measure, predictive model, accurate, prediction, regression, discriminant, cluster, clustering, variance
Negative words	Dog, cat, animal, mouse, rat, vitro, monkey, pig, rabbit

En esta selección inicial, se aplicaron procesos automatizados de “data mining”, así como procedimientos manuales.

2. Selección de los estudios completos identificados como posiblemente relevantes en el análisis inicial. El análisis de los estudios completos se efectuó de forma manual.

Después del paso 2, en caso de desacuerdo entre los revisores (MCP y TBP), la decisión sobre la elección de los estudios se adoptó llegando a un consenso entre ellos. En aquellos casos en los que permaneció el desacuerdo, un tercer revisor (ITC) decidió la inclusión del estudio. Se registraron las diferentes razones por las cuales un estudio se excluyó.

2. Extracción y manejo de datos

Dos investigadores extrajeron los datos de forma independiente utilizando un formulario de recopilación de datos estandarizado.

Concretamente, se registraron los siguientes datos de cada estudio:

- Tipo de estudio (transversal, longitudinal o de intervención).
- Condiciones objetivo y control (número y tipo de pacientes periodontales y de controles).
- Estándar de referencia (parámetros clínicos registrados, parámetros radiográficos registrados, calibración).
- Criterios diagnósticos según el estándar de referencia aplicado.

- Características de los grupos de pacientes (edad, tabaquismo).
- Características de la muestra salival (saliva estimulada o no estimulada, o mediante un enjuague bucal; condiciones de almacenaje de la muestra).
- Pruebas de diagnóstico (características de la combinación de biomarcadores analizada, tipo de técnica para la detección de biomarcadores).
- Resultados de los estudios (verdaderos positivos, verdaderos negativos, falsos positivos, falsos negativos, cualquier resultado (s) equívoco (s), retirada, valores de sensibilidad y especificidad, umbral de clasificación de los biomarcadores).

3. Evaluación de la calidad metodológica

Dos revisores (MCP y TBP) evaluaron de forma independiente la calidad metodológica de los estudios de precisión diagnóstica incluidos utilizando la “checklist” Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies (QUADAS-2) (Whiting et al, 2011). La presencia de algún tipo de desacuerdo, se resolvió mediante la discusión o consultando a un tercer revisor (ITC). Esta “checklist” evalúa la calidad metodológica de los estudios de precisión diagnóstica en cuatro dominios clave: selección de pacientes, prueba de diagnóstico, estándar de referencia y flujo y tiempo de los participantes a través del estudio.

Esta herramienta establece un "riesgo de sesgo" ("alto", "bajo" o "incierto") para cada dominio. Si las respuestas a todas las preguntas clave dentro de un dominio son "sí" (lo que indica un bajo riesgo de sesgo para cada pregunta), entonces se considera que el dominio tiene un bajo riesgo de sesgo. Si en alguna pregunta clave se responde "no", lo que indica un alto riesgo de sesgo, el dominio se califica como de alto riesgo de sesgo. A continuación se valoró la aplicabilidad de los dominios “selección de pacientes”, “pruebas de diagnóstico” y “estándar de referencia” a la cuestión planteada en la presente revisión. Tras el análisis de las características metodológicas de un pequeño número de estudios incluidos, se modificó la “checklist QUADAS-2”, eliminándose la primera pregunta del dominio “pruebas de diagnóstico”.

Tabla 3. Riesgo de sesgo y evaluación de la aplicabilidad a la presente cuestión de revisión (checklist QUADAS-2).

DOMINIO	SELECCIÓN DE PACIENTES	PRUEBAS DE DIAGNÓSTICO	REFERENCIA ESTÁNDAR	FLUJO Y TIEMPO
Descripción	Describe los métodos de selección de los pacientes Describe los pacientes incluidos (pruebas previas, presentación, intención de uso de la prueba de diagnóstico, y el ajuste)	Describe los biomarcadores estudiados y cómo fue llevada a cabo e interpretada	Describe el estándar de referencia y cómo fue llevada a cabo e interpretada	Describe a los pacientes que no recibieron las pruebas de diagnóstico o el estándar de referencia o que fueron excluidos de la tabla 2X2 (consultar el diagrama de flujo) Describe el intervalo y cualquier intervención entre las pruebas de diagnóstico y el estándar de referencia
Preguntas clave (sí, no, o incierto)	Los pacientes reclutados, ¿fueron elegidos de forma aleatoria o consecutiva? ¿Se evitó el diseño de un estudio de casos- controles? ¿Evitó el estudio exclusiones inapropiadas?	Si se utilizó un umbral, ¿se especificó previamente?	¿Es fiable el estándar de referencia para clasificar correctamente la condición objetivo? ¿Se interpretaron los resultados del estándar de referencia sin conocimiento de los resultados de la prueba de diagnóstico?	¿Hubo un intervalo apropiado entre la prueba de diagnóstico y el estándar de referencia? ¿Todos los pacientes fueron diagnosticados mediante el estándar de referencia? ¿Todos los pacientes recibieron el mismo estándar de referencia? ¿Se incluyeron todos los pacientes en el análisis?
Riesgo de sesgo (alto, bajo o incierto)	¿Podría haber introducido sesgos la selección de pacientes?	¿Podrían haber introducido sesgos la interpretación de la prueba de diagnóstico?	¿Podrían haber introducido sesgos la interpretación del estándar de referencia?	¿Podría haber introducido sesgos el flujo de pacientes?
Problemas de aplicabilidad (alto, bajo o incierto)	¿Existe la preocupación de que los pacientes seleccionados no se correspondan con la pregunta clave de la revisión?	¿Existe la preocupación de que la prueba de diagnóstico (biomarcadores), su comportamiento o su interpretación difieran de la pregunta de la revisión?	¿Existe la preocupación de que la condición objetivo definida por el estándar de referencia no se corresponda con la pregunta de la revisión?	

4. Análisis estadístico y síntesis de datos

La unidad de análisis fue cada prueba de clasificación binaria de una combinación de biomarcadores salivales. La evaluación de una determinada prueba de clasificación binaria se realizó por paciente. La precisión diagnóstica de una combinación de biomarcadores salivales se evaluó midiendo su capacidad para detectar la presencia o la ausencia de la condición objetivo (en este caso, presencia o ausencia de periodontitis).

Se consideró la posibilidad de que un mismo estudio pudiera proporcionar diferentes pruebas de clasificación binaria. Se elaboró una tabla de Excel con los datos referentes a los valores de verdaderos positivos, verdaderos negativos, falsos positivos y falsos negativos para cada combinación de biomarcadores de cada estudio. Si en un estudio no se detallaban los datos de la tabla de clasificación diagnóstica, se efectuó el cálculo de esta tabla teniendo en cuenta los valores de sensibilidad y especificidad, y el tamaño de la muestra de los grupos control y periodontal. En aquel caso en el que los valores de las tablas de contingencia calculadas mostraban valores decimales, éstos fueron redondeados, procediéndose a continuación al recálculo de los valores de sensibilidad y especificidad.

Las estimaciones de la precisión se expresaron como sensibilidad y especificidad junto con intervalos de confianza del 95% para cada combinación de biomarcadores (prueba de diagnóstico) y se representaron gráficamente mediante “forest plots”. También se calcularon con los datos extraídos de cada artículo otros parámetros de precisión como el valor predictivo positivo (VPP), el valor predictivo negativo (VPN), la razón de verosimilitud positiva (LR+), la razón de verosimilitud negativa (LR-), la odds ratio diagnóstica (DOR) y el índice de Younden. La interpretación de los diferentes parámetros de precisión diagnóstica se efectuó aplicando las directrices establecidas por de Luca de Canto et al. (2015) las cuales son definidas en la Tabla 4.

Tabla 4. Parámetros de clasificación diagnóstica (de Luca Canto et al, 2015).

ÍNDICES DE LA PRUEBA	INTERPRETACIÓN DE LOS DATOS
Sensibilidad	>80 % excelente, 70-80 % bueno, 60-69 % aceptable, <60 % bajo
Especificidad	>90 % excelente, 80-90 % bueno, 70-79 % aceptable, <70 % bajo
LR (Razón de Verosimilitud)	LR+> 3 y un LR- <0,3→ aceptable precisión del test diagnóstico LR+> 10 y un LR- <0,1→ excelente precisión del test diagnóstico
DOR (Odds Ratio Diagnóstica)	El valor de un rango DOR oscila entre el 0 y el infinito, y los valores más altos indican un mayor rendimiento de la prueba. Un valor de 1 en el test significa que este no es capaz de diferenciar entre los pacientes que presentan la enfermedad y aquellos que no. Valores inferiores a 1 no permiten una adecuada interpretación de la prueba.
Índice de Younden (J Index)	Los valores cercanos a 1 indican una elevada precisión del test; un valor de 0 no nos aporta ninguna información e indica que el test tiene un valor diagnóstico nulo.

RESULTADOS

1. Selección de los estudios de precisión diagnóstica en la saliva

En total, tras la eliminación automatizada de los duplicados, se obtuvieron 4.846 artículos de las seis bases de datos electrónicas. Luego, el 91% de los resúmenes se evaluaron mediante técnicas de minería de datos y el 9% restante con un procedimiento manual; se evaluó la elegibilidad de un total de 173 artículos en texto completo. Además, se detectaron seis más tras analizar las referencias de una lista de reseñas y artículos de texto completo. En la fase de elegibilidad, se excluyeron 172 artículos por diversas razones, lo que significa que se evaluaron 7 publicaciones y 40 tablas de contingencia en un análisis cualitativo. Si consideramos los requisitos previamente establecidos para la realización de un meta-análisis, no hubo ninguna combinación de biomarcadores que pudiese ser meta-analizada. En la Figura 1 se muestra un diagrama de flujo detallado.

2. Características de los estudios de precisión diagnóstica en la saliva

De los 7 artículos seleccionados se ha extraído 40 combinaciones de biomarcadores salivales, de las cuales 18 son diferentes entre sí. La combinación formada por 2 biomarcadores fue la más frecuente (40.0%), seguida por la de 3 y 4 biomarcadores (30.0% cada una).

La condición de control más común fue el estado de gingivitis (47.5%), seguido del estado de salud periodontal (40.0%); el restante 12.5% pertenecía al grupo de pacientes “no periodontales”. La condición objetivo más común fue la periodontitis (82.5%), seguida de la periodontitis crónica (12.5%) y, por último, con un 2.5 % cada una, un grupo que engloba la periodontitis crónica y la agresiva y una condición que reúne periodontitis leve, moderada y severa. En cuanto al hábito tabáquico en uno de los siete artículos no se nos aportan datos sobre el mismo. De los 6 restantes, la mayoría de los pacientes control eran no fumadores (66.0%) mientras que en el caso de los pacientes periodontales la mayor parte eran fumadores y no fumadores (83.0%). En cuanto al tipo de muestra salival analizada, hubo un predominio de saliva no estimulada ya que en 5 de los 7 artículos incluidos se utilizó este método (72%); en uno de ellos, la muestra fue de saliva estimulada (14%); y del otro, no había datos relativos al tipo de saliva utilizada para la toma muestral (14%). En cuanto al almacenamiento de estas muestras la forma más habitual de hacerlo fue a -80°C (en el 42.8% de la serie). La técnica más utilizada para la identificación de biomarcadores salivares fue la citometría multiparamétrica (72.5%) seguida de una combinación de esta junto con ELISA (20%) (Tabla 5).

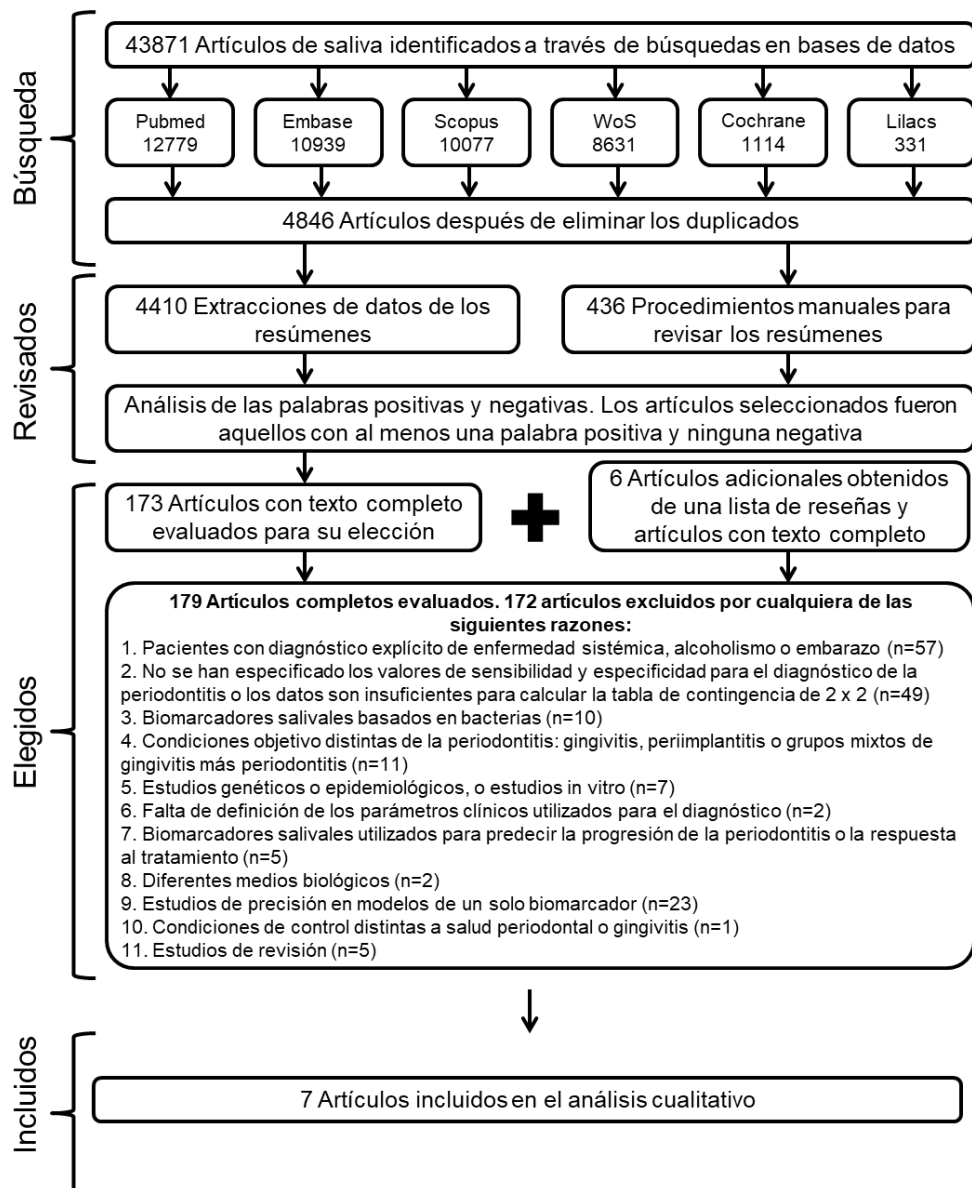


Figura 1. Diagrama de flujo detallado sobre la selección de los estudios de precisión diagnóstica en saliva.

Tabla 5. Biomarcadores múltiples analizados simultáneamente en saliva, características clínicas de los grupos control y con periodontitis y técnica aplicada para la detección de biomarcadores (N= 7 artículos).

Nº de combinación de biomarcadores	Combinación de biomarcadores		Número de tablas de contingencia /Artículos	Condición control		Condición objetivo		Técnica
	Nombre	Rango del número de muestras		Categorías	Rango del número de muestras	Categorías	Nombre	
1	IL1beta, IL6	≤30 (1/1) 31-70 (2/1)	3/2	SP (2/2) G (1/1)	31-70 (1/1) 71-120 (2/1)	PC (1/1) P (2/1)	Citometría multiparamétrica (3/2)	
2	IL1beta, MMP8	≤30 (1/1) 31-70 (2/1)	3/2	SP (2/2) G (1/1)	31-70 (1/1) 71-120 (2/1)	PC (1/1) P (2/1)	ELISA (1/1) Citometría multiparamétrica (3/2)	
3	IL6, MMP8	≤30 (1/1) 31-70 (2/1)	3/2	SP (2/2) G (1/1)	31-70 (1/1) 71-120 (2/1)	PC (1/1) P (2/1)	ELISA (1/1) Citometría multiparamétrica (3/2)	
4	IL1beta, MIP1alpha	31-70 (2/1)	2/1	SP (1/1) G (1/1)	71-120 (2/1)	P (2/1)	Citometría multiparamétrica (2/1)	
5	IL6, MIP1alpha	31-70 (2/1)	2/1	SP (1/1) G (1/1)	71-120 (2/1)	P (2/1)	Citometría multiparamétrica (2/1)	
6	MMP8, MIP1alpha	31-70 (2/1)	2/1	SP (1/1) G (1/1)	71-120 (2/1)	P (2/1)	Citometría multiparamétrica (2/1)	
7	RANKL, OPG (ratio)	71-120 (1/1)	1/1	G (1/1)	71-120 (1/1)	PC (1/1)	ELISA (1/1)	
8	IL1beta, IL6, MMP8	≤30 (1/1) 31-70 (2/1)	3/2	SP (2/2) G (1/1)	31-70 (1/1) 71-120 (2/1)	PC (1/1) P (2/1)	ELISA (1/1) Citometría multiparamétrica (3/2)	
9	IL1beta, IL6, MIP1alpha	31-70 (2/1)	2/1	SP (1/1) G (1/1)	71-120 (2/1)	P (2/1)	Citometría multiparamétrica (2/1)	

Abreviaturas relacionadas con las pruebas de diagnóstico (en orden alfabético): IL: interleuquina; Lactate, GABA, Butyrate: lactato, ácido gamma aminobutírico, butirato; 3-hidroxy fatty acids: ácidos grasos con grupo -OH en la posición 3; MIP: proteína inflamatoria de los macrófagos; MMP: metaloproteínasa de la matriz; OPG: osteoprotegerina; ra: antagonista de los receptores; RANKL: ligando de receptor activador para el factor nuclear κ B, TNF: factor de necrosis tumoral.

Tabla 5 (continuación). Biomarcadores múltiples analizados simultáneamente en saliva, características clínicas de los grupos control y con periodontitis y técnica aplicada para la detección de biomarcadores (N= 7 artículos).

10	IL6, MMP8, MIP1alpha	2/1	31-70 (2/1)	SP (1/1) G (1/1)	71-120 (2/1)	P (2/1)	Citometría multiparamétrica (2/1)
11	IL1beta, IL1ra, MMP9	1/1	≤30 (1/1)	No-P (1/1)	≤30 (1/1)	P (1/1)	Citometría multiparamétrica (1/1) ELISA (1/1)
12	IL1beta, IL1ra, TNFalpha	1/1	≤30 (1/1)	No-P (1/1)	≤30 (1/1)	P (1/1)	Citometría multiparamétrica (1/1) ELISA (1/1)
13	IL1beta, MMP9, TNFalpha	1/1	≤30 (1/1)	No-P (1/1)	≤30 (1/1)	P (1/1)	Citometría multiparamétrica (1/1) ELISA (1/1)
14	IL1ra, MMP-9, TNFalpha	1/1	≤30 (1/1)	No-P (1/1)	≤30 (1/1)	P (1/1)	Citometría multiparamétrica (1/1) ELISA (1/1)
15	Lactate, GABA, Butyrate	1/1	≤30 (1/1)	SP (1/1)	≤30 (1/1)	PC y PAg (1/1)	Espectroscopia H-NMR (1/1)
16	IL1beta, IL6, MIP1alpha, MMP8	10/2	31-70 (10/2)	SP (1/1) G (9/2)	31-70 (8/1) 71-120 (2/1)	P (10/2)	Citometría multiparamétrica (10/2)
17	IL1beta, IL1ra, MMP9, TNFalpha	1/1	≤30 (1/1)	No-P (1/1)	≤30 (1/1)	P (1/1)	Citometría multiparamétrica (1/1) ELISA (1/1)
18	3-hidroxy fatty acids (3-OH-C12:0, 3-OH-C14:0, 3-OH-C17:0, 3-OH-C17:0)	1/1	≤30 (1/1)	SP (1/1)	≤30 (1/1)	PC (1/1)	Cromatografía de gases-espectrometría de masas en tándem (1/1)

Abreviaturas relacionadas con las condiciones control y objetivo: PAg: periodontitis agresiva; SP: salud periodontal; G: gingivitis; P: periodontitis; PC: periodontitis crónica; No-P: no periodontitis. Abreviaturas relacionadas con el tipo de técnica aplicada (en orden alfabético): ELISA: ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas; NMR: resonancia magnética nuclear.

3. Evaluación de la calidad de los estudios de precisión diagnóstica en saliva

En el ámbito de la selección de pacientes, 6 de los 7 artículos (85.7%) presentaban un alto riesgo de sesgo ya que eran estudios casos-controles mientras que 1 de ellos presentaba un riesgo bajo de sesgo (14.3%) al ser un estudio de cohortes. En el dominio de las pruebas de diagnóstico, la pregunta referida a la aplicación de un umbral preestablecido tuvo como respuesta "no" en los 7 artículos (100.0%), lo que indica un alto riesgo de sesgo. La referencia estándar clasificó correctamente el estado periodontal sin conocimiento de los resultados de las pruebas diagnósticas en 6 de los 7 artículos (85.7%), por lo que en estos artículos, el dominio de referencia estándar se relacionó con un bajo riesgo de sesgo. Sin embargo, es importante tener en cuenta que sólo en tres estudios (42.8%) los autores confirmaron la presencia de profesionales calibrados para el registro del estado clínico. En 4 de los 7 artículos no se muestran datos para saber si ha existido un periodo de tiempo adecuado entre la toma de la muestras y el diagnóstico clínico, por lo que el riesgo de sesgo para ese dominio es incierto en un 57.1% de los artículos; en 2 de ellos ha habido un intervalo de tiempo apropiado por lo que el riesgo de sesgo es bajo (28.5%) mientras que el 14.2% restante, es decir, un artículo, presenta un riesgo de sesgo alto para el dominio flujo y tiempo.

Los problemas sobre la aplicabilidad de todos los dominios para todos los artículos incluidos recibieron una respuesta de "bajo", excepto un artículo para el dominio de la referencia estándar, ya que los autores aplicaron el sistema CPITN como referencia estándar para el diagnóstico (Figura 2). Considerando el tamaño de la muestra como un parámetro de calidad metodológica, las series entre 31 y 70 pacientes con la condición control prevalecieron en el 70.0 % de las tablas de contingencia; las series con ≤ 30 pacientes en el 27.5 % y las de más de 70 pacientes en el 2.5%.

En cuanto al número de sujetos con la condición objetivo, los grupos de estudio estuvieron compuestos por: ≤ 30 pacientes en el 17.5% de las tablas de contingencia; entre 31 y 70 en el 30.0%; y > 71 en el 52.5% (Tabla 5).

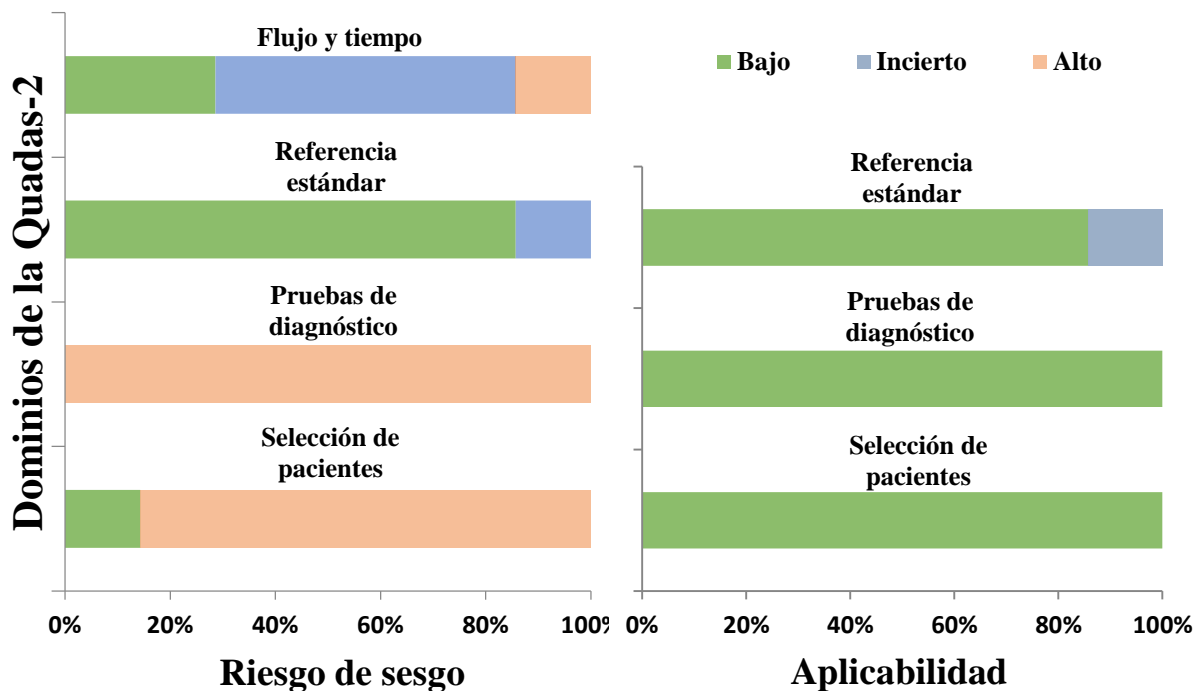


Figura 2. Evaluación de la calidad según la herramienta QUADAS-2: riesgo de sesgo y problemas de aplicabilidad.

4. Síntesis de los análisis cualitativos de las combinaciones de biomarcadores salivales

La combinación de dos biomarcadores salivales estuvo representada por 16 tablas de clasificación diagnóstica, siendo las combinaciones más frecuentes las formadas por dos interleuquinas inflamatorias o una interleuquina inflamatoria y una enzima: IL1beta e IL6, IL1beta y MMP8 e IL6 y MMP8.

En el estudio de Ebersole et al. (2013), dos de estas combinaciones, IL1beta e IL6 e IL6 y MMP8, fueron las que se asociaron a porcentajes de sensibilidad del 94% y especificidad del 97% y 98%, respectivamente, así como valores predictivos por encima del 90%. Los valores LR+ de estas combinaciones de biomarcadores fueron 28.2 y 57.3, respectivamente, y los valores LR- de 0.0 para ambas. La combinación IL1beta y MMP8 presentó una sensibilidad del 88% y una especificidad del 97%, unos VPP y VPN de 98% y 83% y unos valores de LR+ y LR- de 26 y 0.1. Estos mismos autores, en un trabajo posterior (Ebersole et al, 2015), encontraron que estas mismas combinaciones de biomarcadores salivales mostraban peores valores con porcentajes de sensibilidad y especificidad oscilando entre 81-76% y 77-72%, VPP y VPN, entre 84.5-82% y 72.5-56% y LR+ y LR-, entre 3.5-2.7 y 0.3-0.2 (Figura 3 y Tabla 6).

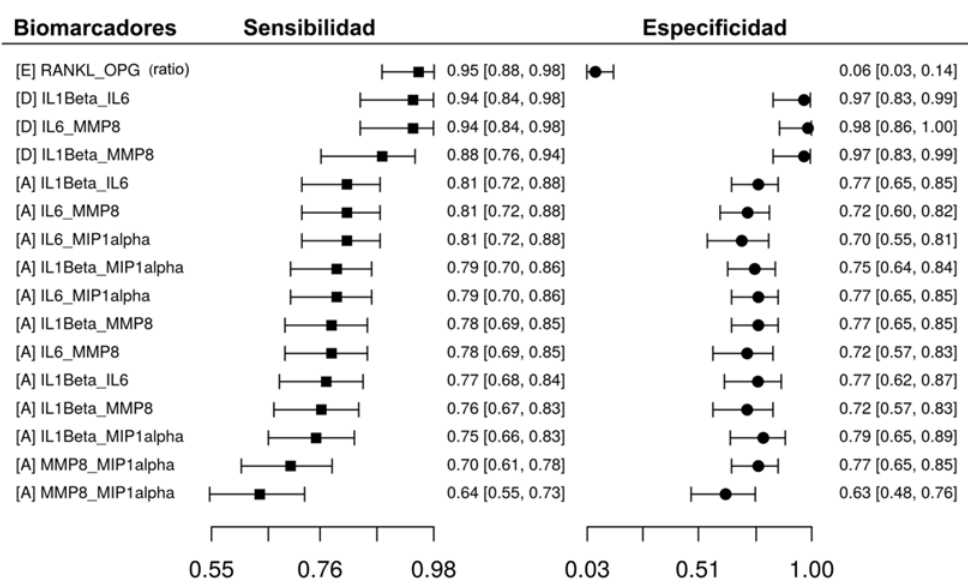


Figura 3. Forest plot con la precisión diagnóstica (sensibilidad, especificidad e intervalo de confianza del 95%) de cada combinación de dos biomarcadores salivales. IL: interleuquina; MIP: proteína inflamatoria de los macrófagos; MMP: metaloproteinas de la matriz; OPG: osteoprotegerina; RANKL: ligando de receptor activador para el factor nuclear κ B. Los valores de sensibilidad y especificidad fueron redondeados. [A]: Ebersole et al, 2015; [D]: Ebersole et al, 2013; [E]: Ochanji et al, 2016.

La ratio RANKL/OPG, aunque se asoció a una sensibilidad del 95%, su especificidad fue muy baja, de tan solo el 6%; los valores predictivos también fueron bajos (positivo, 52%; negativo, 56%) y el LR+ y LR- de 1.0 y 0.7, respectivamente (Ochanji et al, 2016) (Figura 3 y Tabla 6).

Tabla 6. Parámetros de clasificación diagnóstica de la combinación de dos biomarcadores.

ESTUDIO	COMBINACIÓN BIOMARCADORES	N° GC/ N° GP	PREC (%)	SENS/ ESPEC (%)	VPP/ VPN (%)	LR+/ LR-	DOR	J Index
Ochanji et al., 2016	RANKL, OPG	77/81	51.9	95.1/6.5	51.7/55.6	1.0/0.7	1.3	0.01
Ebersole et al., 2013	IL1beta, IL6	30/50	95.0	94.0/96.7	97.9/90.6	28.2/0.0	454.3	0.90
Ebersole et al., 2013	IL6, MMP8	30/50	95.7	94.0/98.4	98.9/90.9	57.3/0.0	940.0	0.92
Ebersole et al., 2013	IL1beta, MMP8	30/50	91.3	88.0/96.7	97.8/82.9	26.4/0.1	212.6	0.84
Ebersole et al., 2015	IL1beta, IL6	65/101	79.5	81.2/76.9	84.5/72.5	3.5/0.2	14.3	0.58
Ebersole et al., 2015	IL6, MMP8	65/101	77.7	81.2/72.3	82.0/71.2	2.9/0.2	11.2	0.53
Ebersole et al., 2015	IL6, MIP1alpha	43/101	77.8	81.2/69.8	86.3/61.2	2.6/0.2	9.9	0.51
Ebersole et al., 2015	IL1beta, MIP1alpha	65/101	77.7	79.2/75.4	83.3/70.0	3.2/0.2	11.6	0.54

Ebersole et al., 2015	IL6, MIP1alpha	65/101	78.3	79.2/76.9	84.2/70.4	3.4/0.2	12.6	0.56
Ebersole et al., 2015	IL1beta, MMP8	65/101	77.7	78.2/76.9	84.0/69.4	3.3/0.2	11.9	0.55
Ebersole et al., 2015	IL6, MMP8	43/101	76.4	78.2/72.1	86.8/58.5	2.8/0.3	9.2	0.50
Ebersole et al., 2015	IL1beta, IL6	43/101	77.1	77.2/76.7	88.6/58.9	3.3/0.2	11.1	0.54
Ebersole et al., 2015	IL1beta, MMP8	43/101	75.0	76.2/72.1	86.5/56.4	2.7/0.3	8.2	0.48
Ebersole et al., 2015	IL1beta, MIP1alpha	43/101	76.4	75.2/79.1	89.4/57.6	3.5/0.3	11.4	0.54
Ebersole et al., 2015	MMP8, MIP1alpha	65/101	72.9	70.3/76.9	82.6/62.5	3.0/0.3	7.8	0.47
Ebersole et al., 2015	MMP8, MIP1alpha	43/101	63.9	64.4/62.8	80.2/42.9	1.7/0.5	3.0	0.27

GC: grupo control; GP: grupo periodontal; PREC: precisión; SENS: sensibilidad; ESPEC: especificidad; VPP: valor predictivo positivo; VPN: valor predictivo negativo; LR: razón de verosimilitud; DOR: odds ratio diagnóstica.

La combinación de tres biomarcadores salivales estuvo representada por 12 tablas de clasificación diagnóstica, siendo la combinación más frecuente la formada por dos interleuquinas inflamatorias y una enzima: IL1beta, IL6 y MMP8.

En el estudio de Ebersole et al. (2013), esta combinación, IL1beta, IL6 y MMP8, presentó un porcentaje de sensibilidad del 94% y especificidad del 97%, así como valores predictivos por encima del 90%. Los valores LR+ y LR- fueron 28.2 y 0.0. Estos mismos autores, en un trabajo posterior (Ebersole et al, 2015), encontraron que esta misma combinación de biomarcadores mostraban peores valores con porcentajes de sensibilidad y especificidad oscilando entre 78-76% y 77-74%, VPP y VPN, entre 84-87.5% y 69-57% y LR+ y LR-, entre 3.3-2.9 y 0.3-0.2.

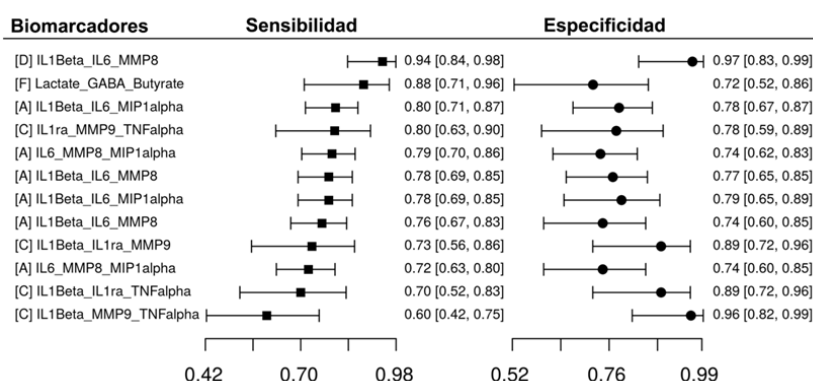


Figura 4. Forest plot con la precisión diagnóstica (sensibilidad, especificidad e intervalo de confianza del 95%) de cada combinación de tres biomarcadores salivales. Butyrate: butirato; GABA: Ácido γ -aminobutírico; IL: interleuquina; Lactate: lactato; MIP: proteína inflamatoria de los macrófagos; MMP: metaloproteínasa de la matriz; ra: receptor antagonista; TNF: factor de necrosis tumoral. Los valores de sensibilidad y especificidad fueron redondeados. [A]: Ebersole et al, 2015; [C]: Wu et al, 2017; [D]: Ebersole et al, 2013; [F]: Rzeznik et al, 2017.

El segundo mejor valor de sensibilidad, con un porcentaje del 88.5%, fue aportado por la combinación de biomarcadores lactate, GABA y butyrate, aunque su especificidad fue del 72%; el VPP y VPN del 77% y 86%, y el LR+ y LR- del 3.1 y 0.1 (Rzeznik et al, 2017) (Figura 4 y Tabla 7).

Tabla 7. Parámetros de clasificación diagnóstica de la combinación de tres biomarcadores.

ESTUDIO	COMBINACION BIOMARCADORES	N° GC/ N° GP	PREC (%)	SENS/ ESPEC (%)	VPP/ VPN (%)	LR+/ LR-	DOR	J Index
Ebersole et al., 2013	IL1beta, IL6, MMP8	30/50	95.0	94.0/96.7	97.9/90.6	28.2/0.0	454.3	0.90
Rzeznik et al., 2017	Lactate, GABA, Butyrate	25/26	80.4	88.5/72.0	76.7/85.7	3.1/0.1	19.7	0.60
Ebersole et al., 2015	IL1beta, IL6, MIP1alpha	65/101	79.5	80.2/78.5	85.3/71.8	3.7/0.2	14.7	0.58
Wu et al., 2017	IL1ra, MMP9, TNFalpha	27/30	78.9	80.0/77.8	80.0/77.8	3.6/0.2	14.0	0.57
Ebersole et al., 2015	IL6, MMP8, MIP1alpha	65/101	77.1	79.2/73.8	82.5/69.6	3.0/0.2	10.7	0.53
Ebersole et al., 2015	IL1beta, IL6, MMP8	65/101	77.7	78.2/76.9	84.0/69.4	3.3/0.2	11.9	0.55
Ebersole et al., 2015	IL1beta, IL6, MIP1alpha	65/101	78.5	78.2/79.1	89.8/60.7	3.7/0.2	13.5	0.57
Ebersole et al., 2015	IL1beta, IL6, MMP8	43/101	75.7	76.2/74.4	87.5/57.1	2.9/0.3	9.3	0.50
Wu et al., 2017	IL1beta, IL1ra, MMP9	27/30	80.7	73.3/88.9	88.0/75.0	6.6/0.3	22.0	0.62
Ebersole et al., 2015	IL6, MMP8, MIP1alpha	43/101	72.9	72.3/74.4	86.9/53.3	2.8/0.3	7.5	0.46
Wu et al., 2017	IL1beta, IL1ra, TNFalpha	27/30	78.9	70.0/88.9	87.5/72.7	6.3/0.3	18.6	0.58
Wu et al., 2017	IL1beta, MMP9, TNFalpha	27/30	77.2	60.0/96.3	94.7/68.4	16.2/0.4	39.0	0.56

GC: grupo control; GP: grupo periodontal; PREC: precisión; SENS: sensibilidad; ESPEC: especificidad; VPP: valor predictivo positivo; VPN: valor predictivo negativo; LR: razón de verosimilitud; DOR: odds ratio diagnóstica.

La combinación de cuatro biomarcadores salivales estuvo representada por 12 tablas de clasificación diagnóstica, siendo la combinación más frecuente la formada por 2 interleuquinas inflamatorias, 1 quimioquina y 1 enzima: IL1beta, IL6, MIP1alpha y MMP8.

En los estudios de Ebersole et al. (2015) y Nagarajan et al. (2015), esta combinación, IL1beta, IL6, MIP1alpha y MMP8 presentó porcentajes de sensibilidad y especificidad que oscilaron entre 80-72.5% y 80-72.5%, VPP y VPN, entre 90-74% y 78-61% y LR+ y LR-, entre 3.7-2.9 y 0.3-0.2.

Ferrando et al. (2005) describieron que la combinación de 4 ácidos grasos con grupo OH presentaba una sensibilidad y especificidad de 93% y 97%, un VPP y VPN del 98% y 90%, y un LR+ y LR- del 34 y 0.0 (Figura 5 y Tabla 8).

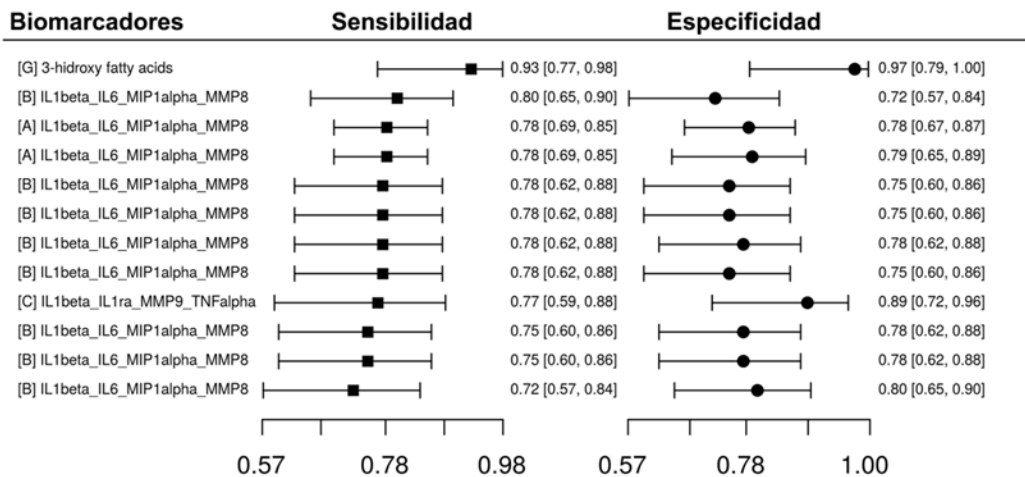


Figura 5. Forest plot con la precisión diagnóstica (sensibilidad, especificidad e intervalo de confianza del 95%) de cada combinación de cuatro biomarcadores salivales. 3-hidroxy fatty acids: ácidos grasos con grupo -OH en la posición 3; IL: interleuquina; MIP: proteína inflamatoria de los macrófagos; MMP: metaloproteínasa de la matriz; ra: receptor antagonista. Los valores de sensibilidad y especificidad fueron redondeados. [A] Ebersole et al, 2015; [B]: Nagarajan et al, 2015; [C]: Wu et al, 2017; [G]: Ferrando et al, 2005.

Si comparamos los porcentajes de sensibilidad y especificidad de las combinaciones de dos, tres o cuatro biomarcadores salivales más frecuentes, observamos que esos valores no varían entre las combinaciones de 2 o 3 biomarcadores (sensibilidad: 94-76% *versus* 94-76%; especificidad: 98-72% *versus* 97-74%), e incluso son inferiores en la combinación de 4 biomarcadores (sensibilidad y especificidad: 80.0% y 72.5%).

Tabla 8. Parámetros de clasificación diagnóstica de la combinación de cuatro biomarcadores.

ESTUDIO	COMBINACION BIOMARCADORES	N° GC/ N° GP	PREC (%)	SENS/ ESPEC (%)	VPP/ VPN (%)	LR+/ LR-	DOR	J Index
Ferrando et al., 2005	3-OH-C12:0, 3-OH-C14:0, 3-OH-Ci17:0, 3-OH-C17:0	18/27	94.5	92.6/97.3	98.0/90.0	34.2/0.0	450.0	0.89
Nagarajan et al., 2015	IL1beta, IL6, MIP1alpha, MMP8	40/40	76.3	80.0/72.5	74.4/78.4	2.9/0.2	10.5	0.52
Ebersole et al., 2015	IL1beta, IL6, MIP1alpha, MMP8	43/101	78.3	78.2/78.5	84.9/69.9	3.6/0.2	13.0	0.56
Ebersole et al., 2015	IL1beta, IL6, MIP1alpha, MMP8	43/101	78.5	78.2/79.1	89.8/60.7	3.7/0.2	13.5	0.57
Nagarajan et al., 2015	IL1beta, IL6, MIP1alpha, MMP8	40/40	76.3	77.5/75.0	75.6/76.9	3.1/0.3	10.3	0.52
Nagarajan et al., 2015	IL1beta, IL6, MIP1alpha, MMP8	40/40	76.3	77.5/75.0	75.6/76.9	3.1/0.3	10.3	0.52
Nagarajan et al., 2015	IL1beta, IL6, MIP1alpha, MMP8	40/40	77.5	77.5/77.5	77.5/77.5	3.4/0.2	11.8	0.55
Nagarajan et al., 2015	IL1beta, IL6, MIP1alpha, MMP8	40/40	76.3	77.5/75.0	75.6/76.9	3.1/0.3	10.3	0.52
Wu et al., 2017	IL1beta, IL1ra, MMP9, TNFalpha	27/30	82.5	76.7/88.9	88.5/77.4	6.9/0.2	26.2	0.65
Nagarajan et al., 2015	IL1beta, IL6, MIP1alpha, MMP8	40/40	76.3	75.0/77.5	76.9/75.6	3.3/0.3	10.3	0.52
Nagarajan et al., 2015	IL1beta, IL6, MIP1alpha, MMP8	40/40	76.3	75.0/77.5	76.9/75.6	3.3/0.3	10.3	0.52
Nagarajan et al., 2015	IL1beta, IL6, MIP1alpha, MMP8	40/40	76.3	72.5/80.0	78.4/74.4	3.6/0.3	10.5	0.52

GC: grupo control; GP: grupo periodontal; PREC: precisión; SENS: sensibilidad; ESPEC: especificidad; VPP: valor predictivo positivo; VPN: valor predictivo negativo; LR: razón de verosimilitud; DOR: odds ratio diagnóstica.

DISCUSIÓN

1. Observación de la heterogeneidad y de la calidad de los estudios de precisión diagnóstica en saliva

El uso de un proceso dual (computarizado y manual) para la selección de los artículos permitió observar que la precisión diagnóstica de los biomarcadores salivares en la periodontitis representa alrededor del 3.7% de la literatura obtenida en nuestra búsqueda. Posteriormente, encontramos que casi el 30% de los estudios de precisión diagnóstica en saliva no cumplían con las exigencias metodológicas descritas anteriormente para su inclusión en este tipo de revisión sistemática (Macaskill et al, 2010).

En cuanto a la calidad metodológica de los estudios (Whiting et al, 2011), alrededor del 86% de los artículos incluidos eran estudios casos-control. Este tipo de estudios corren un mayor riesgo de sesgo que los estudios de cohortes (Dinnes et al, 2005). Sin embargo, en prácticamente todos los trabajos incluidos se ha realizado la verificación del diagnóstico periodontal utilizando un mismo estándar de referencia lo cual es un aspecto positivo a la hora de minimizar el riesgo de sesgo (Reistma et al, 2009). Este hecho contribuye a controlar los posibles desequilibrios entre los valores de sensibilidad y especificidad (Leeflang, 2014).

Los autores no aplicaron umbrales preestablecidos de los biomarcadores moleculares salivares en ninguno de los 7 artículos incluidos en esta revisión sistemática, si no que fueron seleccionados para optimizar la sensibilidad y la especificidad. Por tanto, esto nos lleva a una sobreestimación de la precisión de la prueba (Whiting et al, 2011), que posteriormente puede evaluarse mediante un análisis de validación (interno o externo) (Moons et al, 2015), lo cual fue realizado en el 57% de los artículos incluidos, 4 de los 7 estudios.

Aunque no es un aspecto evaluable en la herramienta QUADAS-2 (Whiting et al, 2011), creemos que uno de los principales problemas metodológicos podría ser el pequeño tamaño de las muestras utilizadas lo cual puede condicionar la fiabilidad de los parámetros de clasificación calculados. Sin embargo, en la presente revisión, la mayoría de las tablas de clasificación diagnóstica, tanto de los pacientes controles como de los pacientes periodontales, presentaron un tamaño muestral entre 31 y 70 individuos (70% y 82% de las tablas de clasificación diagnóstica, respectivamente)

Al estándar de referencia utilizado para el diagnóstico clínico de la condición periodontal se le consideró el "gold standard", lo cual implica un 100% de sensibilidad y de especificidad (Reistma et al, 2009). Sin embargo, es obvio que el estándar de referencia que se utiliza para el diagnóstico de periodontitis no es perfecto (Miller et al, 2010), por lo que existe la posibilidad de que se provoquen errores de verificación que condicionen los parámetros de rendimiento de los biomarcadores diagnósticos, con tendencia a la subestimación. Esta tendencia se produce ya que los posibles errores asociados al diagnóstico clínico no están relacionados con los posibles errores asociados al diagnóstico molecular de los biomarcadores (Reistma et al, 2009).

Con el fin de asegurar un espectro adecuado de pacientes y controlar así el riesgo de sobreestimación en los parámetros de clasificación diagnósticas (Reistma et al, 2009), al igual que en otras revisiones sistemáticas realizadas por nuestro grupo (Arias-Bujanda et al, 2019, Arias-Bujanda et al, 2020), en el presente trabajo se consideraron como condiciones control tanto a los sujetos con salud periodontal como a los sujetos con salud periodontal y gingivitis;

en el caso de la condición objetivo, a los diferentes grados de extensión y gravedad de la periodontitis. Con la finalidad de hacer viable la realización de la presente revisión sistemática, hubo que aceptar la variabilidad de las definiciones del fenotipo clínico de la periodontitis presente en los estudios de precisión diagnóstica.

La pretensión de analizar la saliva radica en evaluar la capacidad de ésta para reflejar el estado periodontal de un paciente (Buduneli & Kinane, 2011, Ghallab, 2018), por lo que obviamente el análisis es a nivel sujeto. La mayoría de los estudios incluidos en la presente revisión (más del 70%) analizaron muestras de saliva no estimulada, cuyo uso es preferido ante otros tipos de muestras, como la saliva estimulada o el enjuague. Esta preferencia se sustenta en el hecho de que se evita una posible dilución de la muestra salival, lo que podría posiblemente afectar a la cuantificación de biomarcadores de interés (Miller et al, 2010).

2. Precisión de los biomarcadores salivales para el diagnóstico de la periodontitis

Después de revisar la literatura, encontramos tres revisiones sistemáticas sobre la exactitud de los biomarcadores salivales para el diagnóstico de la periodontitis, las publicadas por Arias-Bujanda et al. (2020), de Lima et al. (2016) y Sukriti et al. (2020). Además encontramos una revisión sobre la precisión de estos biomarcadores en fluido crevicular publicada por Arias-Bujanda et al. (2019).

En cuanto a los criterios de inclusión aplicados a los estudios encontrados vemos diferencias de criterio entre las diferentes revisiones sistemáticas. De Lima et al. (2016) y Sukriti et al. (2020) excluyeron aquellos trabajos en los que el estado periodontal fue evaluado por sólo una de las medidas clínicas establecidas (PPD o CAL) o el Índice de Necesidad de Tratamiento Periodontal de la Comunidad (CPITN). Por el contrario, al igual que en las anteriores revisiones sobre la temática (Arias-Bujanda et al, 2019, Arias-Bujanda et al, 2020), en el presente estudio decidimos incluir inicialmente estos estudios para que posteriormente pudieran ser evaluados metodológicamente.

En las revisiones de Arias-Bujanda et al. (2019), Arias-Bujanda et al. (2020) y de Lima et al. (2016) se analizaron la precisión de biomarcadores actuando de forma individual, detectados tanto en el fluido gingival crevicular como en la saliva, en el diagnóstico de periodontitis. Por el contrario, en la presente revisión, la perspectiva era analizar la precisión diagnóstica de combinaciones de al menos 2 biomarcadores salivales con la de verificar la hipótesis de si esta precisión diagnóstica podría verse incrementada al evaluar conjuntamente varios biomarcadores en saliva.

Actualmente, la MMP8 se considera uno de los candidatos prometedores para diagnosticar y predecir la progresión de la periodontitis (Alassiri et al, 2018, Franco et al, 2017, Zhang et al, 2009). La conclusión obtenida en la revisión de Arias-Bujanda et al. (2019) corrobora esta afirmación, ya que los resultados del meta-análisis reflejaron que la MMP8 detectada en el fluido gingival crevicular mostró una buena sensibilidad (77%) y una excelente especificidad (92%) para detectar la periodontitis en sujetos sistémicamente sanos.

Aunque están descritas las dificultades metodológicas asociadas a la detección y cuantificación de las citoquinas en los fluidos orales debido a la presencia de bajas concentraciones (Jaedicke et al, 2016), según Arias-Bujanda et al. (2019), varias citoquinas pro-inflamatorias presentes en el fluido, como la IL1alpha y la ILbeta, en base a sus

parámetros de precisión diagnóstica se posicionan como biomarcadores prometedores para el diagnóstico de la periodontitis.

Arias-Bujanda et al. (2020) concluyeron que a nivel individual los biomarcadores salivales más investigados para el diagnóstico de la periodontitis fueron: MMP8 e IL1beta, seguidos por MMP9, IL6 y hemoglobina. En línea con este hallazgo, en la presente revisión comprobamos como algunas de estas moléculas, específicamente MMP8, IL1beta e IL6 son los biomarcadores salivales que más se han investigado combinándose entre ellos o con otros, como MIP1alpha.

Los resultados de la revisión de Arias-Bujanda et al. (2020) sobre biomarcadores salivales revelaron que MMP8, MMP9, IL1beta, IL6 y hemoglobina, actuando como biomarcadores individuales, mostraron una buena capacidad para detectar la condición de periodontitis (>70%) en pacientes sistémicamente sanos, mientras que MMP9 y IL1beta también mostraron una buena capacidad para detectar la condición de no periodontitis (alrededor del 80%).

En consonancia con estas aportaciones previas (Arias-Bujanda et al, 2020), en la presente revisión, las combinaciones que mejores porcentajes de sensibilidad y especificidad mostraron fueron IL1beta e IL6 (94% y 97%, respectivamente), e IL6 junto a MMP8 (94% y 98%, respectivamente) (Ebersole et al, 2013). Estos porcentajes se mantuvieron similares, cuando combinamos tres biomarcadores, IL1beta, IL6 y MMP8 (sensibilidad del 94% y especificidad del 97%) (Ebersole et al, 2013). Estos resultados concuerdan con los aportados en la única revisión sistemática previamente publicada en la que se analizaron combinaciones de biomarcadores salivales, que fue la de Sukriti et al. (2020), y constatan la excelente capacidad de estas combinaciones de biomarcadores salivales para detectar la periodontitis y la no periodontitis.

Sin embargo, los hallazgos sobre una mayor precisión diagnóstica asociada a la combinación de dos o tres biomarcadores salivales deben ser interpretados con cautela por dos motivos principales: el primero, todos estos resultados provienen de un mismo estudio, el realizado por Ebersole et al. (2013); y, el segundo, estos mismos autores en un estudio posterior en el que utilizaron tamaños muestrales mayores obtuvieron que estas mismas combinaciones de biomarcadores salivales se asocian a peores valores de sensibilidad y especificidad con respecto a los encontrados en la serie anterior (combinaciones de 2 biomarcadores, sensibilidad: 81-76% y especificidad: 77-72%; combinaciones de 3 biomarcadores, sensibilidad: 78-76% y especificidad: 77-74 %; lo que se interpreta en ambas combinaciones como una buena y aceptable capacidad para detectar la periodontitis y la no periodontitis, respectivamente) (Ebersole et al, 2015). Por otro lado, la combinación de los biomarcadores salivales IL1beta, IL6, MIP1alpha y MMP8 tampoco supuso mejoras en los valores de sensibilidad y especificidad encontrados con respecto a las combinaciones de dos o tres biomarcadores, las cuales oscilaron entre 80-72.5% y 80-72.5%, respectivamente (Ebersole et al, 2015, Nagarajan et al, 2015).

En líneas generales, si comparamos estos datos con los aportados con los biomarcadores salivales individuales (Arias-Bujanda et al, 2020), el uso en conjunto de más de un biomarcador salival parece incrementar su capacidad de diagnosticar la periodontitis en comparación con el uso de biomarcadores individuales. Estas combinaciones con mayor capacidad predictiva son IL1beta e IL6, IL6 y MMP8, e IL1beta y MMP8, no existiendo

diferencias sustanciales entre estas combinaciones y las combinaciones de 3 biomarcadores (IL1beta, IL6 y MMP8) o 4 biomarcadores (IL1beta, IL6, MIP1alpha y MMP8).

Otras moléculas, como los ácidos grasos con OH en la posición 3 se identificaron como biomarcadores salivales prometedores (Ferrando et al, 2005), pero es necesario seguir investigando para confirmar estos hallazgos.

3. Implicaciones para la práctica y perspectiva futura

Recientemente, Tonetti et al. (2018) afirmaron que los biomarcadores podrían desempeñar un papel esencial en la detección temprana de la periodontitis y en la evaluación de su grado de severidad. Por tanto, conseguir una herramienta de diagnóstico salival supondría tener una prueba no invasiva, sensible, específica y útil como complemento para el cuidado y mantenimiento del paciente (Miller et al, 2010). También puede ayudar a la hora de detectar la presencia de periodontitis en grandes poblaciones (Ghallab, 2018).

Si la progresión natural de la periodontitis complica sustancialmente el descubrimiento de biomarcadores en el fluido crevicular (Kinane et al, 2017), es razonable pensar que esta dificultad será aún mayor en la saliva, lo cual pudo ser comprobado con la MMP8 (Arias-Bujanda et al, 2019, Arias-Bujanda et al, 2020). Aunque las ventajas asociadas al uso de la saliva son evidentes (Miller et al, 2010), también debemos saber que hay aspectos negativos que hay que tener en cuenta (Al-Tarawneh et al, 2011, Giannobile, 2012, Srivastava et al, 2017). Por otro lado, debido a la gran complejidad etiopatogénica de la periodontitis parece altamente improbable el encontrar un único biomarcador que permita diagnosticarla y predecir su evolución, y aún menos en la saliva (Zhang et al, 2009). Por lo tanto, la utilización de combinaciones de más de un biomarcador podría proporcionar no sólo una valoración más precisa del estado periodontal del paciente, sino que también podrían ser útiles para predecir su progresión (Ghallab, 2018).

Desde un punto de vista del desarrollo de un kit con aplicabilidad clínica, la mejor combinación de biomarcadores sería aquella formada por el menor número de biomarcadores posibles, es decir, dos biomarcadores que se asociaran a una alta precisión diagnóstica. Centrándonos en las combinaciones de dos biomarcadores más investigadas, y desde la perspectiva de la utilidad de un kit diagnóstico constituido por IL1beta e IL6, IL6 y MMP8, o IL1beta y MMP8, del total de test positivos entre el 99-98% detectarían a pacientes con periodontitis y del total de test negativos entre 91-83% detectarían a pacientes con la condición de no periodontitis (Ebersole et al, 2013). Estos valores predictivos tan altos fueron inferiores en otras series posteriores, especialmente la capacidad del test de detectar la condición de no periodontitis. De tal forma, que el VPP osciló entre un 89-82% y el VPN entre 72.5-56% (Ebersole et al, 2015). Destacar de forma importante que la capacidad diagnóstica de estos posibles tests no varió ostensiblemente con la combinación de tres biomarcadores (IL1beta, IL6 y MMP8: VPP, entre 98-84%, VPN, entre 91-57%) o la combinación de 4 biomarcadores (IL1beta, IL6, MIP1alpha y MMP8: VPP, entre 90-78%, VPN, entre 74-61%).

A pesar del gran interés que ha mostrado la comunidad científica por el tema de los biomarcadores en el diagnóstico de la periodontitis, la principal limitación de esta revisión fue el pequeño número de artículos incluidos ya que la mayoría fueron descartados al no analizar

combinaciones de biomarcadores, por lo que se requiere una mayor evidencia a este respecto. Se precisan un mayor número de investigaciones centradas en evaluar la precisión diagnóstica de combinaciones de biomarcadores salivales en la periodontitis, implicando grandes series e incluyendo análisis de validación (Moons et al, 2015). Igualmente, otros factores que deberían ser considerados son la influencia de la presencia de gingivitis en la condición control, el tabaquismo y la presencia de enfermedades sistémicas con la finalidad de clarificar el impacto de estas variables en la precisión diagnóstica de la combinación de biomarcadores.

En conclusión, IL1beta e IL6, IL6 y MMP8, e IL1beta y MMP8 son las combinaciones de biomarcadores salivales más investigadas en el diagnóstico de periodontitis. El uso combinado de estos biomarcadores presenta una capacidad excelente o buena para detectar la periodontitis, y excelente o aceptable para detectar la condición de no periodontitis; esta capacidad diagnóstica no se incrementa al incorporar otros biomarcadores. Se constata que el uso en conjunto de estas combinaciones de dos biomarcadores salivales parece incrementar su rendimiento en el diagnóstico de periodontitis en comparación con el uso de estos mismos biomarcadores de forma individual, aunque debido a la heterogeneidad de los resultados encontrados se precisa mayor evidencia que corrobore estas observaciones.

REFERENCIAS

- Alassiri S, Parnanen P, Rathnayake N, Johannsen G, Heikkinen AM, Lazzara R, et al. The ability of quantitative, specific, and sensitive point-of-care/chair-side oral fluid immunotests for aMMP-8 to detect periodontal and peri-Implant diseases. *Dis Markers*. 2018; 2018: 1306396.
- Al-Harhi LS, Cullinan MP, Leichter JW, Thomson WM. The impact of periodontitis on oral health-related quality of life: a review of the evidence from observational studies. *Aust Dent J*. 2013; 58(3): 274–7; quiz 384.
- AlMoharib HS, AlMubarak A, AlRowis R, Geevarghese A, Preethanath RS, Anil S. Oral fluid based biomarkers in periodontal disease: part 1. Saliva. *J Int Oral Health*. 2014; 6(4): 95-103.
- Al-Tarawneh SK, Border MB, Dibble CF, Bencharit S. Defining salivary biomarkers using mass spectrometry-based proteomics: A systematic review. *OMICS*. 2011; 15(6), 353–361.
- Arias-Bujanda N, Balsa-Castro C, Regueira-Iglesias A, Nibali L, Donos N, Tomás I. Accuracy of single molecular biomarkers in gingival crevicular fluid for the diagnosis of periodontitis: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol*. 2019; 46(12):1166-1182.
- Arias-Bujanda N, Balsa-Castro C, Regueira-Iglesias A, Nibali L, Donos N, Tomás I. Accuracy of single molecular biomarkers in saliva for the diagnosis of periodontitis: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol*. 2020; 47(1):2-18
- Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol*. 1999; 4(1): 1–6.
- Barros SP, Williams R, Offenbacher S, Morelli T. Gingival crevicular fluid as a source of biomarkers for periodontitis. *Periodontol 2000*. 2016; 70(1): 53-64.
- Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther*. 2001; 69: 89–95
- Buduneli N, Kinane DF. Host-derived diagnostic markers related to soft tissue destruction and bone degradation in periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2011; 38 Suppl11, 85–105.
- Camelo-Castillo AJ, Mira A, Pico A, Nibali L, Henderson B, Donos N, et al. Subgingival microbiota in health compared to periodontitis and the influence of smoking. *Front Microbiol*. 2015; 6: 119.
- Caton J, Armitage G, Berglundh T, Chapple ILC, Jepsen S, Kornman KS, L et al. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions-introduction and key changes from the 1999 classification. *J Clin Periodontol*. 2018; 45 Suppl 20: S1-S8.

Chapple ILC, Genco R. Diabetes and periodontal diseases: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on periodontitis and systemic diseases. *J Clin Periodontol*. 2013; 40 Suppl 14: S106-12.

Cekici A, Kantarci A, Hasturk H, Van Dyke TE. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000*. 2014; 64(1): 57-80.

Chatzistavrianou D, Blair F. Diagnosis and management of chronic and aggressive periodontitis part 1: periodontal assessment and diagnosis. *Dent Update*. 2017; 44(4): 306-8, 310, 313-5.

Deeks JJ, Bossuyt PM GC, editor. *Cochrane handbook for systematic reviews of diagnostic test accuracy, version 1.0.0* [Internet]. Cochrane Collaboration. 2013.

De Lima CL, Acevedo AC, Grisi DC, Taba M, Guerra E, De Luca Canto G. Host-derived salivary biomarkers in diagnosing periodontal disease: systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol*. 2016; 43(6): 492–502.

De Luca Canto G, Pachêco-Pereira C, Aydinöz S, Major PW, Flores-Mir C, Gozal D. Diagnostic capability of biological markers in assessment of obstructive sleep apnea: a systematic review and metaanalysis. *J Clin Sleep Med*. 2015; 11: 27–36.

Dentino A, Lee S, Mailhot J, Hefti AF. *Principles of Periodontology*. *Periodontol 2000*. 2013; 61(1): 16–53.

Dinnes J, Deeks J, Kirby J, Roderick P. A methodological review of how heterogeneity has been examined in systematic reviews of diagnostic test accuracy. *Health Technol Assess*. 2005; 9(12): 1–113.

Ebersole JL, Dawson DR, Morford LA, Peyyala R, Miller CS, González OA. Periodontal disease immunology: “Double indemnity” in protecting the host. *Periodontol 2000*. 2013; 62(1): 163-202.

Ebersole JL, Nagarajan R, Akers D, Miller CS. Targeted salivary biomarkers for discrimination of periodontal health and disease(s). *Front Cell Infect Microbiol*. 2015; 5: 62

Ferrando R, Szponar B, Sánchez A, Larsson L, Valero-Guillén PL. 3-Hydroxy fatty acids in saliva as diagnostic markers in chronic periodontitis. *J Microbiol Methods*. 2005; 62 (3): 285-91

Franco C, Patricia HR, Timo S, et al. Matrix metalloproteinases as regulators of periodontal inflammation. *Int J Mol Sci*. 2017;18: pii: E440.

Ghallab NA. Diagnostic potential and future directions of biomarkers in gingival crevicular fluid and saliva of periodontal diseases: Review of the current evidence. *Arch Oral Biol*. 2018; 87: 115-124.

Giannobile WV. Salivary diagnostics for periodontal diseases. *J Am Dent Assoc*. 2012; 143 (10 Suppl), 6S–11S.

Jaedicke KM, Preshaw PM, Taylor JJ. Salivary cytokines as biomarkers of periodontal diseases. *Periodontol 2000*. 2016; 70(1): 164-83.

Johnson N, Ebersole JL, Kryscio RJ, Danaher RJ, Dawson D 3rd, Al-Sabbagh M, Miller CS. Rapid assessment of salivary MMP-8 and periodontal disease using lateral flow immunoassay. *Oral Dis*. 2016; 22(7): 681-7.

Kassebaum NJ, Bernabé E, Dahiya M, Bhandari B, Murray CJL, Marcenes W. Global burden of severe periodontitis in 1990-2010: a systematic review and meta-regression. *J Dent Res*. 2014; 93(11): 1045-53.

Kinane DF, Stathopoulou PG, Papapanou PN. Periodontal diseases. *Nat Rev Dis Primers*. 2017; 3: 17038.

Korte DL, Kinney J. Personalized medicine: an update of salivary biomarkers for periodontal diseases. *Periodontol 2000*. 2016; 70(1): 26-37.

Leeflang, MMG. Systematic reviews and meta-analyses of diagnostic test accuracy. *Clin Microbiol Infect*. 2014; 20(2), 105–113.

Macaskill P, Gatsonis C, Deeks JJ, Harbord RM, Takwoingi Y. Chapter 10: Analysing and presenting results. In *Cochrane handbook for systematic reviews of diagnostic test accuracy*. The Cochrane Collaboration. 2010 (1st ed., pp. 1–61).

Miller CS, Foley JD, Bailey AL, Campell CL, Humphries RL, Christodoulides N, et al. Current developments in salivary diagnostics. *Biomark Med*. 2010; 4(1):171-89.

McInnes MDF, Moher D, Thombs BD, McGrath TA, Bossuyt PM, Clifford T, et al. Preferred reporting items for a systematic review and meta-analysis of diagnostic test accuracy studies. *JAMA*. 2018; 319(4): 388-396.

Moons KGM, Altman DG, Reitsma JB, Ioannidis JPA, Macaskill P, Steyerberg EW, Collins GS, et al. Transparent reporting of a multivariable prediction model for individual prognosis or diagnosis (TRIPOD): Explanation and elaboration. *Ann Intern Med*; 162(1): W1–73.

Nagarajan R, Miller CS, Dawson D, Al-Sabbagh M, Ebersole JL. Patient-Specific Variations in Biomarkers across Gingivitis and Periodontitis. *PLoS One*. 2015; 10 (9): e0136792

Ochanji AA, Matu NK, Mulli TK. Association of salivary RANKL and osteoprotegerin levels with periodontal health. *Clin Exp Dent Res*. 2017; 3 (2): 45-50

Reistma JB, Rutjes AWS, Whiting P, Vlassov VV, Leeflang M, Deeks JJ. Chapter 9: assessing methodological quality. In *Cochrane handbook for systematic reviews of diagnostic test accuracy*. The Cochrane Collaboration. 2009 (1st ed., pp. 1–29).

Sanz M, Teughels W. Innovations in non-surgical periodontal therapy: consensus report of the Sixth European Workshop on Periodontology. *J Clin Periodontol*. 2008; 35(8 Suppl):3-7.

Rzeznik M, Triba MN, Levy P, Jungo S, Botosoa E, Boris Duchemann B, Le Moyec L et al. Identification of a discriminative metabolomic fingerprint of potential clinical relevance in saliva of patients with periodontitis using ¹H nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy. *PLoS One*. 2017; 12 (8): e0182767.

Srivastava N, Nayak PA, Rana S. Point of care- a novel approach to periodontal diagnosis-a review. *J Clin Diagn Res*. 2017; 11 (8), ZE01–ZE06.

Sukriti KC, Wang XZ, Gallagher JE. Diagnostic sensitivity and specificity of host-derived salivary biomarkers in periodontal disease amongst adults: Systematic review. *J Clin Periodontol*. 2020; 47(3): 289-308

Tonetti MS. Periodontitis and risk for atherosclerosis: an update on intervention trials. *J Clin Periodontol*. 2009; 36 Suppl 10: 15-9.

Tonetti MS, Eickholz P, Loos BG, Papapanou P, Van Der Velden U, Armitage G, et al. Principles in prevention of periodontal diseases: consensus report of group 1 of the 11th European Workshop on Periodontology on effective prevention of periodontal and peri-implant diseases. *J Clin Periodontol*. 2015; 42(S16): S5–11.

Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *J Clin Periodontol*. 2018; 45 Suppl 20: S149-S161.

Whiting PF, Rutjes AWS, Westwood ME, Mallett S, Deeks JJ, Reitsma JB, et al. QUADAS-2: a revised tool for the quality assessment of diagnostic accuracy studies. *Ann Intern Med*. 2011; 155(8): 529-36.

Wu YC, Ning L, Tu YK, Huang CP, Huang NT, Chen YF, et al. Salivary biomarker combination prediction model for the diagnosis of periodontitis in a Taiwanese population. *J Formos Med Assoc*. 2018; 117(9): 841-848.

Zhang L, Henson BS, Camargo PM, Wong DT. The clinical value of salivary biomarkers for periodontal disease. *Periodontol 2000*. 2009; 51, 25–37.