



UNCUYO
UNIVERSIDAD
NACIONAL DE CUYO

FCM
FACULTAD DE
CIENCIAS MÉDICAS

IMBECU
CONICET

FO
FACULTAD DE
ODONTOLOGÍA

**UNIVERSIDAD
MAZA**

Tratamiento con Antioxidantes Locales de Patologías Inflammatorias de la Mucosa Oral: Evaluación Clínica, Morfométrica, Citológica e Inmunohistoquímica.

Tesis para Doctorado en Ciencias Médicas

Autor: Mg. Emilce M. Rivarola de Gutierrez

Director: Prof. Dr. Héctor E Lanfranchi

Co-Director: Prof. Dr. Nelson E Driban

Campo de Afiliación: Medicina - Odontología - Farmacología.

Palabras Claves: Patología oral. Liquen bucal.

Síndrome de ardor bucal. Mucositis. Aftas. Antioxidantes.

Antocianinas. Morfometría. Citología exfoliativa oral. Citoqueratinas

Lugares de Trabajo:

Hospital Luis Lagomaggiore. Área de Dermatología.

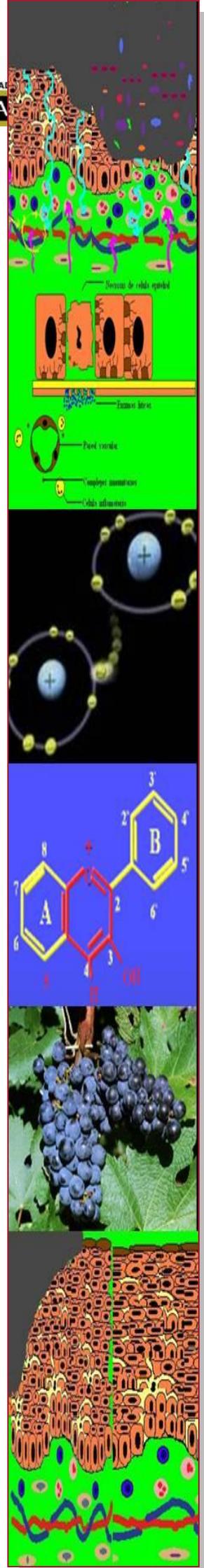
FCM. UNCuyo. Cátedra de Farmacia y Bioquímica.

Universidad Maza: Cátedra de Farmacobotánica

CONICET- Mendoza: Instituto de Medicina y Biología

Experimental de Cuyo (IMBECU)

Unidades de Análisis: Pacientes con patologías Inflammatorias de la mucosa bucal. Imágenes, biopsias y citologías exfoliativas.



Agradecimientos

- *"El arte es largo, la vida breve, la ocasión fugitiva, la experiencia falaz, el juicio dificultoso. No basta que el médico haga por su parte cuanto debe hacer, si por otro lado no concurren al mismo objeto, los asistentes y demás circunstancias exteriores."*

Hipócrates

A Dios, mis familiares, mis maestros, mis pacientes, mis colegas, asistentes y a todos quienes colaboraron tan honorablemente para realizar las investigaciones y todos los pasos que componen este trabajo; deseo manifestar mi perpetua gratitud ya que sin la confluencia de tantas voluntades y actitudes no hubiera sido posible esta obra. Quienes han sido partícipes lo saben; a todos y cada uno les agradezco y deseo que la Voluntad Superior que guió esta labor los ilumine siempre en sus pensamientos y acciones.

Epígrafe:

"Que el alimento sea tu mejor medicina y tu mejor medicina sea tu alimento".

Hipócrates.

ABREVIATURAS

8-oxodG: 8-oxo-7,8-dihidro-2'-deoxiguanosina

ANF: intermedias anfófilas

APE1: endonucleasa 1 apurínico- apirimídica

AST: antioxidantes séricos totales

CIAN: cianófilas

CK: citoqueratinas

COX-2: ciclo oxigenasa-2 AP-1: activador de la proteína1

CP: cariopcnóticas

CP: propionato de clobetasol

D SIER: dientes de sierra

DAMPs: patrones moleculares asociados a daño

DG3: desmogleína 3

DISPL: displasia

DS: desvío estandard

E: escamas

EHU: extractos de hollejos de las uvas

EOS: intermedias eosinófilos

ESU: extractos de semillas de uva

EXOC: exocitosis

GSK: glucógeno sintetasa quinasa

HHA: eje hipotálamo-hipofisario adrenal

HQ/PQ: hiperqueratosis/ paraqueratosis

HSP60: proteína del golpe de calor 60

I CAR: índice de cariopcnosis

I CIAN: índice de cianofilia

IAN: índice de anfofilia

IC: intervalo de confianza
IE: índice de eosinofilia
INC PIG: incontinencia de pigmento
INF BD: infiltrado en banda
iNOS: óxido nítrico sintasa inducible
IQ: índice de queratinización
LPB: líquen plano bucal
MAPK: quinasas proteicas activadas por mitógenos
MDA: malondialdehído
NEC Q: necrosis de los queratinocitos
NF- κ B: factor nuclear-kappaB
NO: óxido nítrico
NOS: óxido nítrico sintasa
PAC: pacientes
PAMPs: patrones moleculares asociados a patógenos
PI3K: fosfoinosida 3 quinasa
PKC: proteinquinasas C
pNS:p No Significativa estadísticamente
PRRs: receptores que reconocen patrones moleculares
REDOX: óxido-reducción
ROS: especies reactivas de oxígeno
THO: técnica de higiene oral
TRAT: tratamiento
VAC: vacuolización de la capa basal del epitelio
VSG: velocidad de sedimentación globular o eritrosedimentación
 β NAG: N-acetil- β -D-glucosaminidasa

ÍNDICE

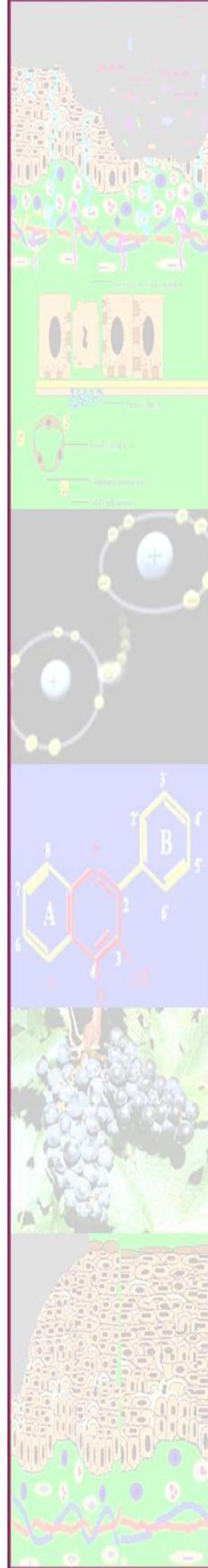
I INTRODUCCIÓN. RESUMEN TÉCNICO	11
II MARCO TEÓRICO.	14
Base Conceptual del Trabajo.	15
1- Patologías inflamatorias a estudiar y consideración de la presencia de estrés oxidativo en las mismas.	15
Liquen plano bucal	15
Síndrome de ardor bucal	17
Mucositis	18
Aftas	20
Estrés oxidativo	21
2- Presentación de las antocianinas y de los antecedentes demostrados de su efecto antioxidante <i>in vivo e in vitro</i>	23
Composición química. Antioxidantes presentes en la <i>vitis vinífera</i> .	26
Actividad terapéutica de los taninos	32
Acción farmacológica	32
Antecedentes demostrados de ausencia de efectos tóxicos realizados hasta la fecha con antocianinas.	33
3- Citología exfoliativa	36
4- Citoqueratinas	38
III FORMULACIÓN DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN:	41
Enunciación	42
Objetivos	42
Hipótesis	42

IV METODOLOGÍA	43
Diseño experimental	44
Gráfico del diseño experimental	47
Examen clínico protocolizado	48
Determinación de antioxidantes y malondialdehído	51
Estudio morfométrico	51
Citología exfoliativa	52
Citoqueratinas	53
Análisis estadístico	54
V RESULTADOS	56
Pacientes con líquen bucal	57
Datos epidemiológicos	57
Índices odontológicos	59
Exámenes complementarios	50
Tipos clínicos de líquen bucal y reacciones liquenoides	61
Presencia de amalgamas en pacientes con líquen plano bucal	61
Presencia de amalgamas en pacientes con líquen erosivo	62
Presencia de amalgamas en pacientes con líquen no erosivo	63
Presencia de lesiones en pacientes con líquen erosivo	64
Presencia de lesiones en pacientes con líquen no erosivo	65
Evaluación del compromiso total de la cavidad bucal (scores)	66
Scores en pacientes con líquen erosivo	67
Scores en pacientes con líquen no erosivo	69
Evaluación del dolor	70

Dolor pacientes con liquen erosivo	70
Dolor pacientes con liquen no erosivo	72
Tiempo hasta alcanzar la mejoría. Número de días	73
Pacientes con liquen erosivo	73
Pacientes con liquen no erosivo	74
Evolución de los pacientes con liquen bucal	75
Pacientes con liquen erosivo. Control final	75
Pacientes con liquen no erosivo. Control final	75
Recaída en pacientes con liquen plano bucal	77
Recaída en pacientes con liquen erosivo	77
Recaída en pacientes con liquen no erosivo	77
Determinación de antioxidantes séricos totales y malondialdehído en pacientes con liquen	77
Pacientes con liquen erosivo	78
Pacientes con liquen no erosivo	78
Estudio morfométrico	79
Morfometría en pacientes con liquen erosivo	79
Morfometría en pacientes con liquen no erosivo	83
Pacientes con síndrome de ardor bucal.	85
Control de evolución clínica	85
Pacientes con mucositis.	87
Control de evolución clínica	87
Pacientes con aftas.	89
Control de evolución clínica	89
Determinación de antioxidantes séricos totales y malondialdehído en pacientes con aftas	93
Resultados de la citología exfoliativa	94
Citologías de pacientes con liquen erosivo	96
Citologías de pacientes con liquen no erosivo	104
Citologías de pacientes con síndrome de ardor bucal	109
Citologías de pacientes con mucositis	112

Citologías de pacientes con aftas	115
Resultados de la determinación de citoqueratinas	118
Expresión de CK1 en liquen bucal	119
Relación de CK1 con hábito de fumar e ingesta de drogas	120
Relación de CK1 con los hallazgos histopatológicos	120
Expresión de CK13 en liquen bucal	122
Relación de CK13 con hábito de fumar e ingesta de drogas	124
Relación de CK13 con los hallazgos histopatológicos	124
Expresión de CK14 en liquen bucal	128
Síntesis de resultados de la expresión de citoqueratinas	132
Expresión de CK1, CK13 y CK14 en citologías exfoliativas de liquen bucal	132
VI DISCUSIÓN	137
VII CONCLUSIONES	154
VIII SINTESIS DE LA TESIS	165
IX PERSPECTIVA Y PROYECCIONES	174
X ANEXOS	176
Consentimiento informado	177
Protocolo	183
Trabajos publicados	188
XI BIBLIOGRAFÍA	189

I INTRODUCCIÓN.
RESUMEN TÉCNICO





Introducción:

El estrés oxidativo es causado por un desequilibrio entre la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS) generadas en el metabolismo normal, y en mayor grado en la inflamación; y la capacidad de los tejidos para neutralizar los reactivos intermedios o reparar el daño resultante.

En las patologías de la mucosa bucal, que incluye este trabajo, se ha demostrado la presencia de estrés oxidativo en la fisiopatogenia. Las patologías evaluadas son: liquen plano bucal (LPB), síndrome de ardor bucal, mucositis y aftas. El grupo de los pacientes con LPB fue subdividido en: formas erosivas incluyendo al LPB erosivo y a la forma ampollar y formas no erosivas, abarcando esta última categoría: LPB reticular, queratósico, atrófico y pigmentario. Se estudió el efecto de un tratamiento local con antioxidantes extraídos de las uvas, antocianinas, comparándolo con los tratamientos habituales.

Objetivos: El principal objetivo de este trabajo fue comprobar si el uso de antocianinas de las uvas, era de utilidad para realizar tratamiento local en los pacientes con estas entidades nosológicas. Dado que se utilizaron además de los datos clínicos protocolizados, el estudio morfométrico, citologías exfoliativa y determinación de citoqueratinas (CK) para estudiar a estos pacientes, los otros objetivos fueron comprobar si estos métodos aplicados eran beneficiosos para el seguimiento evolutivo de los pacientes.

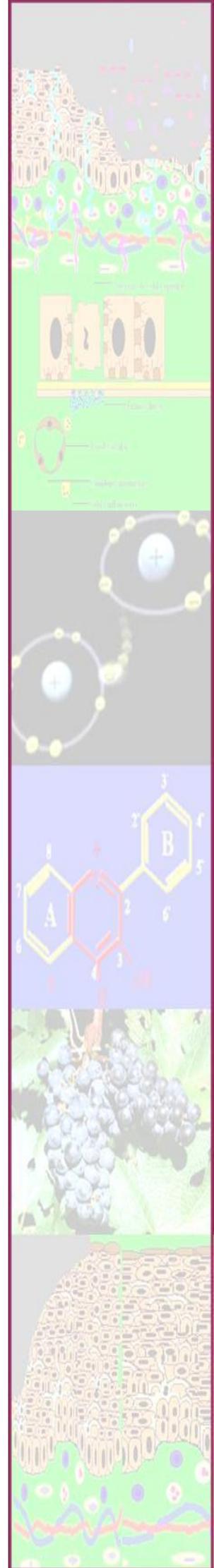
Metodología: Se dividió a los pacientes de cada patología en dos grupos. Se indicó a un grupo de ellos tratamiento local con antocianinas extraídas de la uva y al otro grupo el tratamiento local de primera elección en la actualidad: clobetasol propionato (CP) para LPB y aftas, vitamina E para pacientes con síndrome de ardor bucal y solución salina para las mucositis. Se les realizaron a los pacientes todos los cuidados accesorios de la cavidad bucal que debe recibir un enfermo con cualquiera de estas patologías: tratamiento de los factores que aumentan la inflamación como las deficiencias en la higiene bucal, el trauma, la infección local, el hábito de fumar y la ingesta de alcohol. A los pacientes se les realizaron

controles clínicos, de laboratorio, determinación de antioxidantes séricos totales (AST) y de malondialdehído (MDA), estudio morfométrico citológico e inmuno histoquímico de CK 1, 13 y 14. Se compararon los resultados obtenidos con análisis estadísticos.

Resultados: Los pacientes tuvieron respuesta terapéutica con las antocianinas. Esta fue mejor que con el tratamiento con CP para los pacientes con LPB erosivo oral, en la mejoría del puntaje de compromiso total de la cavidad bucal y en el estudio morfométrico. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el tiempo de respuesta terapéutica, en la evaluación del dolor, ni en el porcentaje de recaídas entre ambos grupos. Respecto al tratamiento de otras formas de LPB (no erosivas) hubo mejor respuesta respecto a la mejoría del dolor en el grupo tratado con antocianinas. En los pacientes con: aftas, síndrome de ardor bucal y mucositis la respuesta no dio diferencias significativas respecto al tratamiento de primera elección. Se encontró de utilidad el seguimiento clínico con la evaluación de parámetros tales como el grado de dolor y número de días hasta alcanzar la mejoría. Los métodos complementarios para el seguimiento, tales como estudio morfométrico de las lesiones y control del compromiso total de la cavidad bucal (scores de compromiso) se evaluaron como beneficiosos. Las citologías exfoliativa y la determinación de CK no aportaron ayuda para el seguimiento de estos pacientes. Sin embargo se encontró alterada la expresión de las tres CK estudiadas en los pacientes con LPB. En el caso de la citoqueratina 13 cuando se expresó en la basal se relacionó con mayor grado de vacuolización basal y de exocitosis.

Conclusiones: Las patologías inflamatorias orales tienen respuesta favorable con el tratamiento local con antocianinas extraídas de la uva. Se observa con los test estadísticos realizados en los pacientes incluidos en este trabajo, una igual o mejor respuesta que con los tratamientos habituales de primera elección. En los pacientes donde el tratamiento local de elección se basa en los corticoides de uso tópico, se observó que muchos de ellos tienen comorbilidades, en las que puede estar contraindicado el uso de la corticoterapia. Es especialmente en estos enfermos donde se infiere una ventaja en el uso de este antioxidante natural presente en la dieta.

II MARCO TEÓRICO





ase Conceptual del Trabajo.

Sobre la base de la bibliografía revisada hasta la fecha, se exponen las bases teóricas del trabajo en el siguiente orden:

- 1- Presentación de las patologías a estudiar y consideración de la presencia de estrés oxidativo en las mismas.
- 2- Presentación de las antocianinas y de los antecedentes demostrados de su efecto antioxidante *in vitro* e *in vivo*.
- 3- Antecedentes demostrados de la ausencia de efectos tóxicos en los tratamientos realizados hasta la fecha con antocianinas.
- 4- Citología exfoliativa
- 5- Citoqueratinas (CK)

1- Presentación de las patologías a estudiar y consideración de la presencia de estrés oxidativo en las mismas.

Liquen plano bucal (LPB)

Se trata de una patología crónica que afecta a la mucosa bucal. Forma parte del denominado liquen rojo plano que puede también comprometer la piel y otras mucosas. Su etiología es desconocida y su patogenia es autoinmune. El LPB presenta formas clínicas denominadas típicas o reticulares y tiene otras formas de presentación atípicas o no reticulares que abarcan una forma queratósica o en placa, pigmentada, ampollar, atrófica y erosiva. La transformación maligna hacia carcinoma espinocelular ocurre sólo en las formas atípicas o no reticulares y no en las formas típicas o reticulares.

El término reacción liquenoide es de uso más frecuente en las publicaciones internacionales. En relación con la etiopatogenia se acepta actualmente que: “el ataque autoinmune de las células T sobre el epitelio es el primer evento patológico

en la reacción liquenoide”.¹ En algunos casos el antígeno diana de la reacción resulta conocido, por ejemplo los aloantígenos de la reacción injerto versus huésped. En otros se piensa que es un autoantígeno, pero en la mayoría de los casos resulta desconocido. Numerosos antígenos infecciosos, drogas y químicos han sido implicados, entre ellos los más mencionados son:

1-Contactantes como: amalgamas, mercurio, cobre, oro, químicos en desarrollo de la fotografía color.

2- Ingeridos: drogas como inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina, antimaláricos, bloqueadores de los canales del calcio, antiinflamatorios no esteroides entre otros.

3- Inyectados: las vacunas (por ejemplo la de la hepatitis B).

4- Infecciones: hepatitis B, hepatitis C y herpes virus humano 7.²

Se ha demostrado a través de un estudio con inmunofluorescencia la presencia de 8-nitroguanina en el epitelio bucal. Interesantemente, la 8-nitroguanina se forma en los sitios de inflamación relacionados con carcinogénesis independientemente de la etiología.

Un estudio doble de inmunofluorescencia encontró 8-nitroguanina y 8-oxo-7,8-dihidro-2'-deoxiguanosina (8-oxodG) acumuladas en biopsias de epitelio bucal en LPB y en carcinoma espinocelular bucal, mientras que no se observó o era muy escasa la inmunoreactividad en la mucosa bucal normal. La localización conjunta de 8-nitroguanina y óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) se encontró en epitelio bucal de LPB y carcinoma. La inmunoreactividad de 3-nitrotirosina, que es considerada un marcador bioquímico de inflamación, se observó también en epitelio bucal co-localizada con 8-nitroguanina. La acumulación de p53 (proteína nuclear de 53 kDa, codificada por el gen del mismo nombre, ubicado en el cromosoma 17, que actúa como un factor de transcripción que controla el ciclo celular) fue observada más fuertemente en el epitelio bucal con carcinoma que con LPB, donde también está presente, mientras que no había p53 acumulado en mucosa bucal normal. Estos hallazgos demuestran que el daño al ADN iNOS- dependiente puede conducir a la acumulación de p53 no sólo en carcinoma bucal sino también en LPB atípico. Se concluye que la formación de lesiones con ADN potencialmente mutagénico que

incluyen 8-nitroguanina y 8-oxodG pueden contribuir al desarrollo de cáncer bucal desde el LPB.³

Recientemente han surgido nuevas terapias inmunomoduladoras para LPB. Un ejemplo es el ungüento de tacrolimus, aprobado para el tratamiento de la dermatitis atópica por la FDA y otros treinta países que incluyen numerosos miembros de la Unión Europea. En la práctica clínica de rutina su uso se ha extendido a varias enfermedades dermatológicas inflamatorias, incluyendo algunas con riesgo potencial de transformación maligna como el LPB. Actualmente esta droga se encuentra en revisión ya que se ha asociado a los inhibidores de la calcineurina con aumento del riesgo de cáncer. Se ha demostrado después del uso del tacrolimus el desarrollo de carcinoma espinocelular actuando a través de las cascadas de señalización como el MAPK y p53 que resultaron alterados después de la terapia instituida.⁴

Se ha publicado un trabajo usando isotretinoína tópica, que tiene varios mecanismos de acción, entre los cuales se incluye su efecto antioxidante, en pacientes con LPB. Los autores obtuvieron respuestas satisfactorias con concentraciones altas en pacientes con formas atrófico-erosivas de LPB.⁵

Con base en estas observaciones fisiopatológicas y de experiencias terapéuticas previas, se decidió incluir a un grupo de pacientes con LPB, para realizar una experiencia terapéutica con antioxidantes locales. Pacientes con todos los tipos clínicos de LPB fueron incorporados a este trabajo. Para lograr una comparación más precisa, se los subdividió en formas erosivas y no erosivas. En el grupo de pacientes con formas erosivas se incluyó al liquen bucal erosivo y a la forma ampollar y la categoría liquen bucal no erosivo, comprende al liquen reticular, liquen queratósico o en placa, atrófico y pigmentario.

Síndrome de ardor bucal (Estomatodinia)

Se trata de una afectación de ardor bucal, en ausencia de lesiones mucosas, donde varios factores locales, sistémicos y fisiológicos se han encontrado asociados, pero su etiología no ha sido totalmente aclarada. Afecta mayormente a mujeres de

edad media y se acompaña frecuentemente de alteraciones del gusto.⁶⁻⁷ Recientemente se han realizado experiencias terapéuticas con un captador de radicales libres, el ácido alfa lipoico.⁸ Esta droga es un potente antioxidante que actúa como coenzima mitocondrial; se ha demostrado en estudios clínicos que es neuroprotector y que tiene efectos en la sintomatología del síndrome de ardor bucal, con beneficios remarcables y mínimos efectos adversos.⁹

Mucositis

Se denomina mucositis a los efectos tóxicos agudos, relacionados con el tratamiento intensivo con quimioterapia o radioterapia de una enfermedad maligna que incide de modo inevitable en las células normales, principalmente en las de la mucosa bucal, pero también localizada en toda la mucosa que reviste el sistema gastrointestinal, a causa de su alta tasa de renovación celular. La cavidad bucal es muy susceptible a los efectos tóxicos directos e indirectos de la quimioterapia oncológica.^{10, 11} Este riesgo se debe a numerosos factores, entre ellos la alta tasa de renovación celular de la mucosa, la microflora compleja y diversa, y el trauma a los tejidos bucales durante la función bucal normal.¹² Aunque los cambios en las estructuras de tejido blando de la cavidad bucal presuntamente reflejan aquellos que ocurren en todo el sistema gastrointestinal, las siguientes secciones del presente trabajo se concentran en las complicaciones bucales provocadas por la terapia antineoplásica. La Organización Mundial de la Salud (OMS), ha clasificado a las mucositis en grados según el examen clínico y la capacidad funcional referida a la ingesta del paciente.¹³ La graduación de la severidad de las mucositis comprende para la OMS desde grado cero, donde no hay manifestaciones clínicas y la función es normal, hasta el grado cuatro donde aparecen úlceras bucales severas que no permiten la ingesta, amenazando la vida. Los grados intermedios muestran gravedad creciente en las lesiones desde eritema y edema en el grado uno, aparición de ulceración moderada en grado dos y úlceras bucales severas pero que permiten ingesta de líquidos en el grado tres.

Ya en el grado cuatro el paciente debe recibir hidratación parenteral porque es imposible la ingesta aún de ellos (Tabla1).

Si bien las complicaciones bucales pueden imitar ciertos trastornos sistémicos, se presentan ciertos efectos secundarios bucales únicos en el contexto de estructuras anatómicas orales específicas y sus funciones. En la patogenia de esta afección se encuentra involucrada la vía del estrés oxidativo.¹⁴ La mucositis originada por quimioterapia o radioterapia se inicia por injuria directa a las células basales del epitelio y al tejido subyacente. La ruptura de la cadena del ADN puede resultar en muerte celular o en daño. Aparece también injuria a través de otros mecanismos variados que son mediados por la generación de especies reactivas de oxígeno. Se activan varias vías que producen daño en el endotelio, fibroblastos y epitelio. Además el daño directo a las células madres resulta en pérdida de la capacidad de renovación del epitelio.

Como resultado el epitelio se adelgaza y el paciente comienza con los primeros síntomas de la mucositis. Esto puede progresar a la desintegración del epitelio y aparición de las ulceraciones. Esta fase ulcerativa es extremadamente dolorosa porque la barrera protectora de las terminaciones nerviosas de la lámina propia es eliminada. Las bacterias de la boca colonizan las úlceras y liberan productos de la pared celular que penetran al corion, generando mayor liberación de citoquinas inflamatorias. En la mayoría de los casos ocurre curación espontánea después de dos o tres semanas del cese de la radioterapia o de la quimioterapia. El epitelio migra desde los márgenes de la herida, como consecuencia de señales del mesénquima y de la matriz extracelular, que determina la proliferación, migración y diferenciación.¹⁵

Se han realizado estudios a doble ciego donde se ha demostrado la eficacia de la vitamina E tópica para el tratamiento de las mucositis en pacientes que recibían quimioterapia por tumores sólidos y por leucemia, comprobando las diferencias significativas en los resultados terapéuticos a los cinco días de instaurada la terapia.¹⁶

GRADUACIÓN DE LA SEVERIDAD DE LAS MUCOSITIS. OMS

GRADO	CLÍNICA	FUNCIÓN
0	NORMAL	NORMAL
I	LEVE EDEMA Y ERITEMA	INGIERE SÓLIDOS
II	ERITEMA Y MODERADA ULCERACIÓN	INGIERE SÓLIDOS
III	ÚLCERAS ORALES SEVERAS	INGESTA LÍQUIDA
IV	ÚLCERAS ORALES SEVERAS	NO INGESTA ORAL AMENAZA LA VIDA

Tabla 1: Escala de las mucositis alimentarias secundarias a quimioterapia sistémica o a radioterapia de cabeza y cuello.

Aftas

Las aftas, son un desorden frecuente en la mucosa bucal que se caracteriza por ulceraciones bucales dolorosas recurrentes. Aunque la etiología de las aftas se desconoce, el trauma local, los microorganismos, las deficiencias nutricionales, cambios hormonales, genéticos y factores inmunológicos han sido sugeridos en su patogenia. En estos pacientes se han realizado determinaciones en suero y en saliva para determinar el nivel de peroxidación lipídica y el nivel de las vitaminas antioxidantes. Las vitaminas A, C y E en ambos fluidos se encontraron significativamente disminuidas en relación con sujetos controles. Además se encontró una fuerte correlación entre los niveles séricos y salivales de estas tres vitaminas. El grado de peroxidación lipídica, medido a través de los niveles de MDA se ha descrito aumentado en los sujetos con aftas. Esto indicaría que la actividad no enzimática antioxidante, en suero y saliva de pacientes con aftas, está disminuida.¹⁷ La determinación de las actividades de la superóxido dismutasa,

glutación peroxidasa, catalasa y MDA y de los niveles del potencial antioxidante medidos en plasma y en los eritrocitos de pacientes con aftas demostró que los sistemas antioxidantes de defensa enzimáticos y no enzimáticos están disminuidos.¹⁸

Otros autores han determinado que en saliva los niveles de superóxido dismutasa, glutación peroxidasa y catalasa estaban aumentados, mientras que en el plasma se encontraban disminuidos. Se considera que los mecanismos de defensa enzimáticos antioxidantes salivales pueden estar estimulados localmente contra las aftas, infiriendo que el organismo puede movilizar su potencial antioxidante a los sitios donde éste sea necesario.¹⁹ En la enfermedad de Adamantiades-Behçet que es un desorden sistémico crónico donde se asocian úlceras bucales, y genitales con lesiones oculares y manifestaciones cutáneas, se ha reportado la producción aumentada de superóxido por parte de los neutrófilos y los macrófagos y se ha indicado la presencia de pro oxidantes circulantes con efectos dañinos en los cromosomas, confirmando el estrés oxidativo en esta entidad; además el efecto anticlastogénico de la superóxido dismutasa *in vitro* sugiere su implicación.²⁰

Estrés Oxidativo.

Estrés oxidativo es el término que se utiliza para describir el efecto de la oxidación, donde un nivel anormal de ROS, como los radicales libres (ejemplo hidroxilo, ácido nítrico y superóxido) conducen al daño (llamado daño oxidativo) de moléculas específicas con injuria consecuente de células o tejidos. Una producción aumentada de ROS ocurre como resultado de infecciones, inflamación, radiación ultravioleta y contacto con tóxicos entre otras causas.²¹

Las ROS y las especies reactivas de nitrógeno participan en una amplia variedad de enfermedades humanas. El daño oxidativo del ADN está involucrado en la carcinogénesis química y en el envejecimiento. De las numerosas moléculas internas que se originan en el metabolismo, algunas se comportan como químicos monocíclicos que inducen principalmente daño oxidativo del ADN, mientras que

otras, son químicos policíclicos que pueden inducir no sólo deterioro oxidativo del ADN sino también formación de aductos de ADN.

Recientemente, la infección crónica y la inflamación han sido reconocidas como factores importantes en la carcinogénesis. El daño nitrativo y oxidativo del ADN son inducidos en la inflamación relacionada con la carcinogénesis, tanto en animales como en seres humanos.²²

Las ROS son un producto colateral del metabolismo energético aeróbico y tienen una función, muy importante, en las señales celulares.²³ La acumulación de ROS está limitada por sistemas antioxidantes que le permiten a la célula mantener la homeostasis siendo la modulación de la óxido-reducción un acontecimiento fisiológico.²⁴ Estos sistemas están sobre todo restringidos al medio intracelular, donde las condiciones de reducción deben ser preservadas e incluyen removedores de ROS y enzimas antioxidantes como tioredoxina, catalasa, superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa y glutatión reductasa. Además intervienen moléculas pequeñas denominadas tioles no proteicos como el glutatión. En el transcurso de una gran variedad de respuestas inflamatorias se generan niveles mayores de ROS. Por otro lado este incremento de ROS es beneficioso para el desarrollo de la inflamación contribuyendo con las señales de transducción y la formación de citoquinas y a la fagocitosis.²⁵

Sin embargo el exceso de ROS puede causar estrés oxidativo, que conduce a daño tisular, con peroxidación lipídica y disrupción de ácidos nucleicos, enzimas y proteínas estructurales.²⁶

Al considerar que el mecanismo del estrés oxidativo está implicado en todas estas patologías bucales inflamatorias se plantea este proyecto para tratar con antioxidantes locales a los pacientes que padezcan estas afecciones. Existen trabajos previos con el uso de antioxidantes sistémicos tales como la vitamina E y el ácido alfa-lipoico. En la literatura revisada hasta la fecha hay pocos trabajos con antioxidantes locales (vitamina E en mucositis).¹⁶

2. Presentación de las antocianinas y de los antecedentes demostrados de su efecto antioxidante *in vitro* e *in vivo*.

El uso de antioxidantes locales, como los presentes en la uva podría ser de utilidad para estos pacientes, empleándolos para tratar las patologías bucales inflamatorias.

Los extractos de semillas de uva y del hollejo de la uva contienen grupos polifenólicos de **antocianinas** (o proantocianidinas) que están presentes además en otras frutas, vegetales, chocolate, té, entre otros. Una persona promedio consume 180-1000 mg. /día de estas sustancias combinadas.²⁷

La uva (*Vitis vinífera*) es una de las especies más utilizadas por las antiguas civilizaciones que poblaron la Tierra. De todos los principios activos descubiertos en la vid, indudablemente los compuestos polifenólicos han despertado el mayor interés desde el punto de vista de la investigación farmacológica en relación con sus propiedades protectoras del sistema cardiovascular. Hipócrates, Teofrasto, Galeno, Dioscórides y Plinio hicieron mención de sus propiedades medicinales. Teniendo en cuenta la gran variedad de subespecies de uvas, los compuestos activos pueden variar sobretodo en la fórmula cuantitativa más que en la cualitativa. Los compuestos responsables del color de las uvas se encuentran básicamente en los hollejos de las mismas, siendo los pigmentos y taninos (sustancias fenólicas) los más importantes. A los diferentes componentes fenólicos los podemos clasificar de la siguiente manera:

1. Ácidos fenólicos no flavonoides (ácidos orgánicos):

En las uvas abundan los ácidos tartárico y málico, que en su conjunto, representan el 90% del contenido de ácidos totales. En menor medida se encuentra el ácido cítrico. Otros compuestos fenólicos pertenecen al grupo de los estilbenos, entre los que destacan la fitoalexina, resveratrol y viniferinas.

2. Flavonoides:

En los frutos y las hojas se han aislado cromatográficamente catequina, epicatequina, galocatequina, quercetina y sus glucósidos quercitrina e isoquercitrina (estos últimos serían responsables de la coloración amarillenta observable cuando las uvas blancas son vistas a trasluz), kampferol, rutina y

luteolina. En el hollejo de las uvas rosadas y rojas se han identificado 3 monoglucósidos de la quercetina, kamferol y miricetina. Esta última no se encuentra en el hollejo de las uvas blancas, las cuales presentan dihidroquercetina (astilbina) y dihidrokampferol3ramnósido (engeletina). Taninos condensados, procianidinas, antocianinas, o leucoantocianidinas: son todos términos que encuadran a los derivados de los oligómeros o polímeros de la catequina y epicatequina. Abundan en las semillas y hollejos principalmente, aunque también pueden encontrarse en las hojas y raíces. Las antocianinas brindan el color rosado y rojo oscuro a las uvas, destacándose el malvidin3glucósido. En cambio, la clorofila es la responsable de la coloración verdosa de los ejemplares inmaduros. De las hojas se han aislado 3 elagitaninos: brevilagin1, vitilagin e isovitolagin. La corteza es relativamente rica en sustancias fenólicas, es decir, pigmentos y taninos.

De todos los principios activos descubiertos en la vid indudablemente los compuestos polifenólicos (Figura nº 1)²⁸ han despertado el mayor interés desde el punto de vista de la investigación farmacológica.

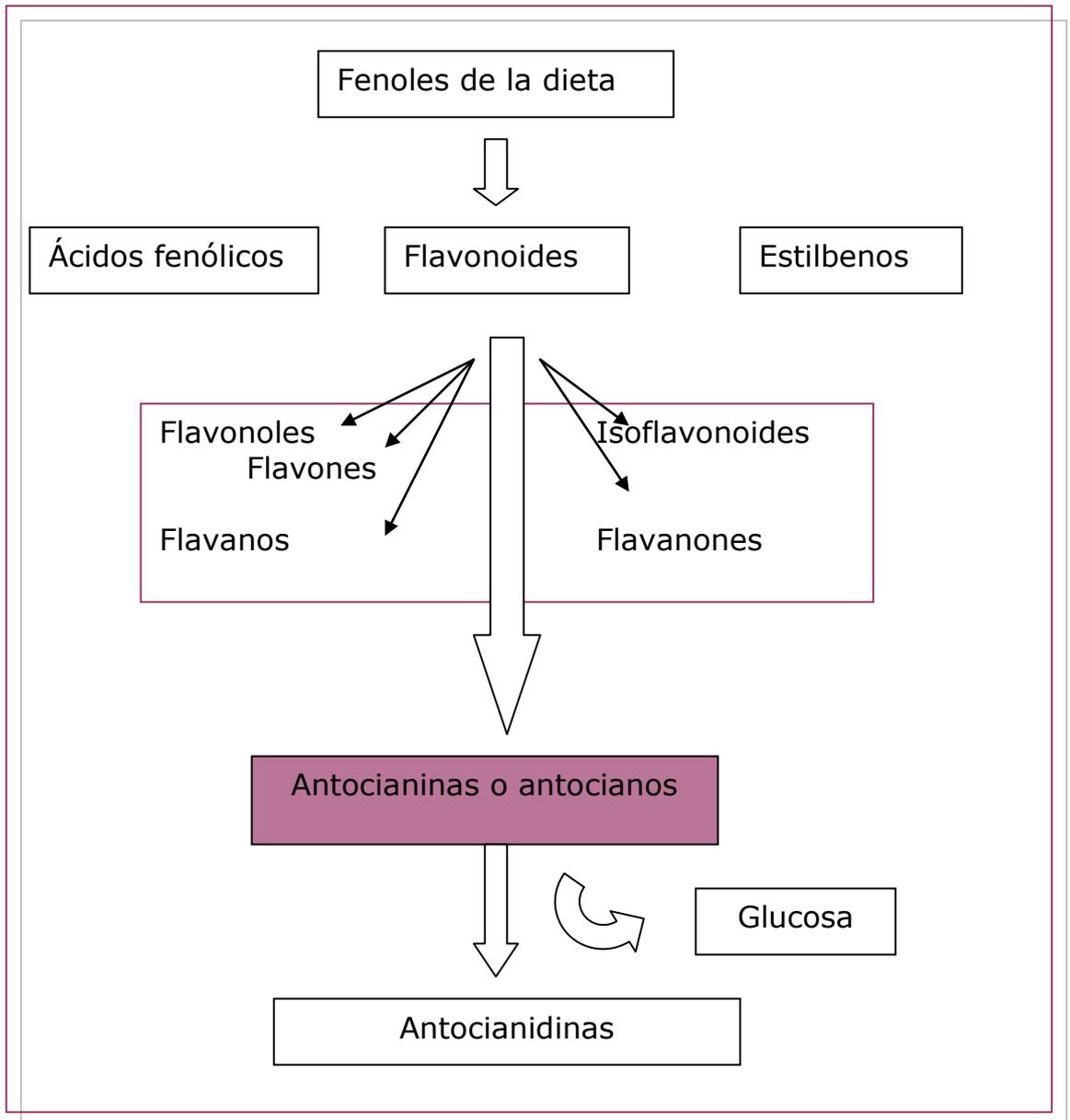


Figura nº 1: Fenoles de la dieta.²⁸

Las antocianinas son compuestos vasoactivos con comprobada actividad antioxidante y antielastasa.^{29, 30} En ese sentido, han demostrado poseer propiedades captadoras de radicales superóxido e hidroxilo e inhibidoras de la peroxidación lipídica. Las antocianinas son consideradas como "las principales antioxidantes del reino vegetal" ya que bloquean la propagación de radicales libres, reforzando así la acción antiproteasa, e impiden que los radicales libres inactiven las antielastasas naturales.³¹

Composición química. Antioxidantes presentes en *Vitis vinífera*

Se ha estudiado intensivamente la capacidad de los vinos tintos para mantener el color a lo largo del tiempo, encontrándose en gran medida relacionada con su composición en compuestos fenólicos presente en los granos de uvas con actividad antioxidante (Figura nº 2).

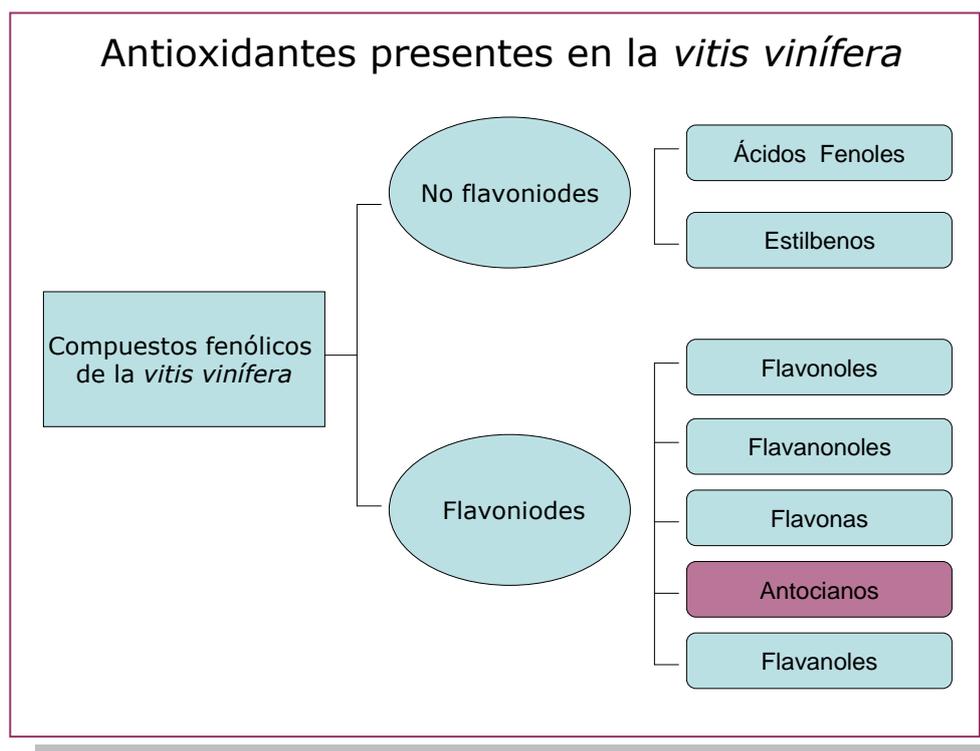
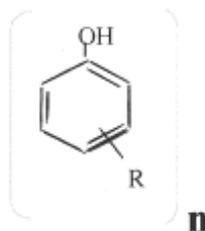


Figura nº 2: Compuestos fenólicos presentes en la *vitis vinífera*.

Estos compuestos se clasifican en dos grandes subgrupos.^{32 33}

A. No flavonoides, estos componentes presentan un anillo bencénico (C_6-R) que incluyen dos grandes familias: *los ácidos fenoles* y *los estilbenos*. La estructura básica de los compuestos fenólicos es la siguiente:



Los *ácidos fenoles*, se encuentran en los hollejos, en la pulpa de la baya y en las semillas; se subdividen en *ácidos benzoicos* y *ácidos cinámicos*. Ambos pueden estar en forma libre o bien esterificada con el ácido tartárico u otros componentes.³⁴

Los *estilbenos* se encuentran relacionados con mecanismo de defensa de los frutos contra los ataques fúngicos; se encuentran solamente en el hollejo. Los principales componentes son: *resveratrol*, *piceida*, *astringina*, *resveratrolósido* y *picetanol*. Han cobrado importancia debido a los efectos beneficiosos que el resveratrol y otros componentes fenólicos parecen tener en la salud humana.³⁵ La estructura química de los principales estilbenos se detalla en la tabla 2:

<p>Estilbeno</p>	Principales estilbenos	R1	R2	R3
	Resveratrol	OH	H	OH
	Piceida	Oglucosa	H	OH
	Astringina	Oglucosa	OH	OH
	Resveratrolósido	OH	H	Oglucosa
	Picetanol	OH	OH	OH

Tabla 2. Principales estilbenos.

B. Flavonoides, son pigmentos hidrosolubles, responsables de la coloración de las flores, frutos y a veces de las hojas. Se encuentran así las chalconas, auronas, flavonoles amarillos con los antocianósidos rojos, azules o violetas. Si no son directamente visibles, contribuyen a la coloración por su papel de copigmentos, como ocurre con las flavonas y flavonoles incoloros que copigmentan y protegen a los antocianósidos. Los flavonoides se acumulan en las vacuolas y según las

especies se concentran en la epidermis de las hojas y en la cutícula foliar, asegurando la defensa de los tejidos contra los efectos nocivos de las radiaciones ultravioletas.³⁶

Estos compuestos presentan dos anillos bencénicos y un heterociclo central. Incluyen cinco grandes familias: *flavonoles*, *flavanoles*, *flavonas*, *antocianos* y *flavanoles*. Esta última contiene a los taninos condensados o *procianidinas*. Numerosos flavonoides y muchos fenoles, reaccionan con los radicales, impidiendo de ese modo las degradaciones debidas a su intensa reactividad. Parece ser que la capacidad antioxidante de un flavonoide depende de su afinidad por los radicales y por tanto de su estructura (*in vitro*); los flavanoles son más activos que los flavonoles que a su vez son más activos que las flavanonas.³⁷

Familias de los compuestos flavonoides:

1. Flavonoles, son los responsables del color amarillo de la piel de las uvas blancas, se encuentran presentes en el hollejo,³⁸ en forma de aglicona o de heterósido, si bien algunos autores consideran que las agliconas son sólo producto de la hidrólisis durante los procesos de extracción. Los principales flavonoles presentes en vid son: kaempferol, quercitina, miricetina e isoramnetina (en la tabla 3 se muestra la estructura química)

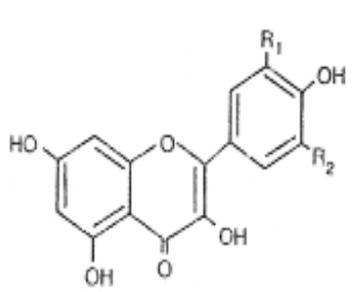
Estructura	Flavonoles	R ₁	R ₂
	Kaempferol	H	H
	Quercitina	OH	H
	Miricetina	OH	OH
	Isoramnetina	OCH ₃	H

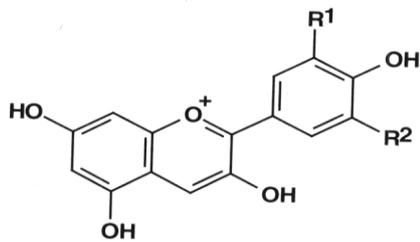
Tabla 3. Principales flavonoles

2 y 3. Flavanoles y flavonas, de estructura similar a los anteriores, su estructura química difiere en que no poseen el doble enlace del heterociclo.

4. Antocianos, (del griego *anthos* flor y *kyanos* azul), este término fue utilizado por Marquat en 1.835 para designar a los pigmentos azules de las flores,

posteriormente se descubrió que los colores violeta, púrpura, magenta y los tonos rojos, rosado y escarlata presentes en numerosas flores, frutos, hojas y raíces se deben también a estos pigmentos. En 1913, Willstatter y Everest propusieron que el término *antocianina* se empleara para el glicósido y *antocianidina* para la aglicona. Actualmente se utilizan indistintamente los términos antocianina y antociano para referirse al mismo pigmento.³⁹

Estos pigmentos se encuentran en forma de heterósidos (antocianósidos) y sus geninas (antocianidoles) son derivadas del catión 2-fenilbenzopirilio más comúnmente llamado catión flavilio. Están considerados dentro del grupo de los flavonoides porque poseen el esqueleto característico C₆-C₃-C₆ y el mismo origen biosintético, pero difieren en que absorben fuertemente en la región visible del espectro. Su estructura química es la siguiente:



Según los sustituyentes en R₁ y R₂ se tiene la estructura de los diferentes antocianos. En otras especies existen otros antocianos como la *pelargonina*, en el género *Vitis* se hallan: *cianidina*, *peonidina*, *delfinidina*, *petunidina* y

malvidina. En la tabla 4 se muestra la estructura de los antocianos presentes en vid:

Antocianos	R ₁	R ₂
Cianidina	OH	H
Peonidina	OCH ₃	H
Delfinidina	OH	OH
Petunidina	OCH ₃	OH
Malvidina	OCH ₃	OCH ₃

Tabla 4. Antocianos de vid.

Las agliconas de los antocianos se denominan *antocianidinas*, la cianidina es la más común y responsable del color magenta, el violeta y azul se deben a la delfinidina (con un grupo hidroxilo más). Cada antocianidina se presenta con

unidades de azúcar, la variación está en el tipo del azúcar, en el número y en la posición en la que están unidos.

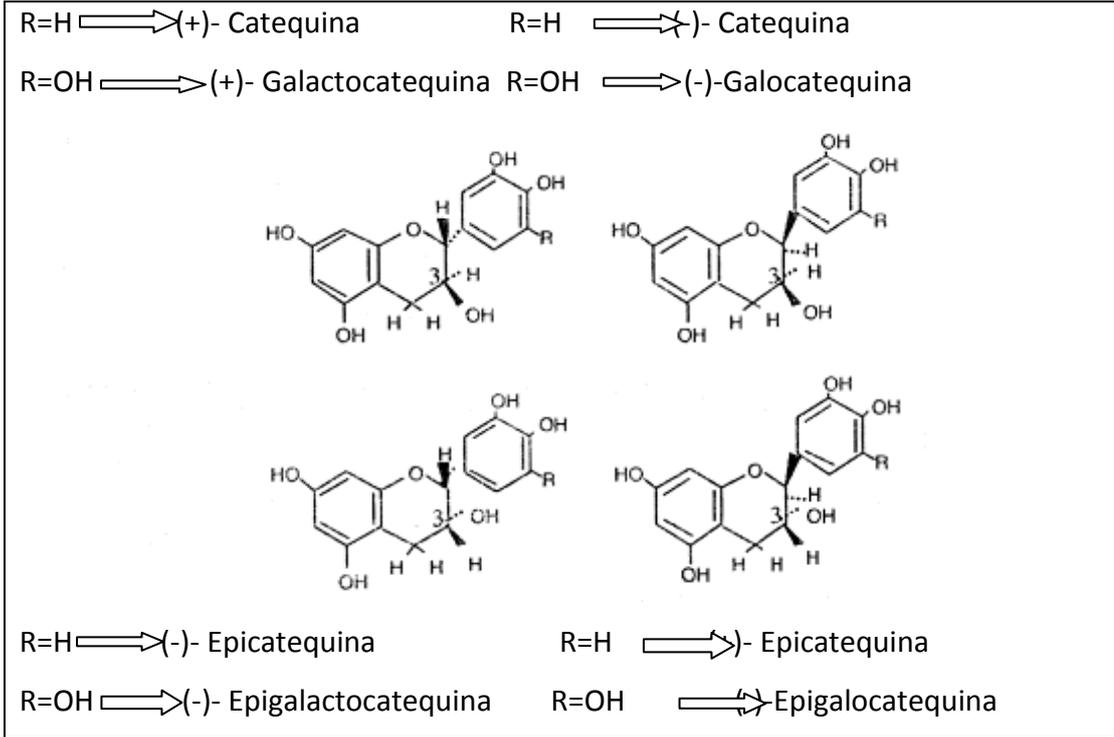
Solo la aglicona presenta características cromóforas. En la uva se localiza en los hollejos y en las variedades tintóreas también se encuentran en la pulpa. En el género *Vitis*, el antociano mayoritario es el monoglucósido de malvidina, y hasta el momento se han determinado la presencia de 17 formas distintas.⁴⁰

Otro aspecto a tener en cuenta es el hecho de que los antocianos presentan un equilibrio en función del pH entre formas químicas diferentes que condiciona su color⁴¹. Así en pH muy ácido la forma mayoritaria es el catión flavilio de color rojo; cuando el pH del medio aumenta se transforma en la base quinona de color violáceo y en la forma carbinol, incolora.⁴² Ambas reacciones tienen lugar simultáneamente de acuerdo con sus constantes de equilibrio.

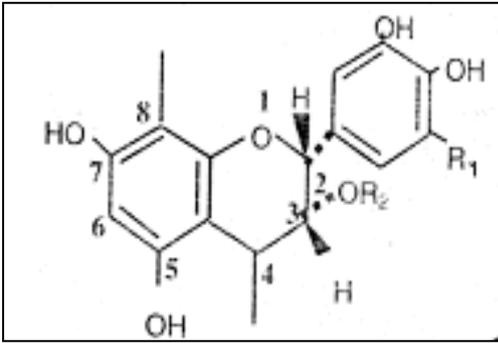
5. Flavanoles (taninos condensados o procianidinas), representan una compleja familia compuesta por diferentes formas isómeras de la catequina y sus polímeros. La estructura básica de la catequina presenta dos carbonos asimétricos por lo que existen 4 isómeros (+)/ (-) catequina y epicatequina. Además el anillo aromático externo puede presentar un tercer grupo OH, dando lugar a las correspondientes (+)/ (-) galocatequina y epigalocatequina. Por otra parte el grupo OH en posición 3 del heterociclo puede estar galoilado, es decir que puede estar esterificado con una molécula de ácido gálico, por lo que también se pueden incluir los 3- galatos de (+)/(-) (galo) catequina y epi (galo) catequina.

En la uva los mayoritarios son (+)-catequina, (-) epicatequina y el 3-galato de (-)-epicatequina.

A continuación se muestra la estructura química de los monómeros del flavanol:



Los flavanoles polímeros reciben el nombre de taninos condensados y corresponden a cadenas de diferente número de unidades de los diversos flavanoles monómeros mediante enlaces C₄-C₈ o C₄-C₆. Su estructura es la siguiente.⁴³



R₁ = H: Procianidinas R₂ = OH: Prodelfinidinas

A los polímeros de flavanol o taninos condensados se los denomina *procianidinas*, debido a que en medio muy ácido dan lugar por hidrólisis a *cianidina*. Cuando están formados por unidades galocatequinas y/o epigallocatequinas se obtiene por hidrólisis ácida *delfinidinas*, designadas prodelfinidinas.⁴⁴

Los taninos de los hollejos están constituidos por procianidinas y prodelfinidinas y en las semillas se encuentran únicamente procianidinas parcialmente galoiladas.⁴⁵

Actividad terapéutica de taninos.

Estos compuestos aplicados por vía tópica, impermeabilizan las capas más externas de la piel y las mucosas, protegiendo las capas subyacentes, tienen también un efecto vasoconstrictor sobre pequeños vasos superficiales. Al limitar la pérdida de fluidos e impedir las agresiones externas, los taninos favorecen la regeneración de los tejidos en caso de heridas superficiales o de quemaduras. Se ha demostrado también el efecto antiséptico, antibacteriano y antifúngico.

Maffei Facino y colaboradores comprobaron que el poder antioxidante de las procianidinas presentes en las semillas de *Vitis vinífera* se debe a su capacidad de atrapar a los radicales HO[•], iniciadores de las reacciones de lipoperoxidación y a los radicales R[•], RO[•] y ROO[•], responsables de la propagación y mantención de las reacciones que producen el daño microvascular, y ello mediante la aplicación de dos modelos diferentes para la generación de los radicales libres, uno químico y otro fisicoquímico.⁴⁶ Con el método químico demostraron que las procianidinas poseen actividad antilipoperoxidativa dosis dependiente, al inhibir la formación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico en un 98% a la concentración de 5 µmol/l. El efecto inhibitorio de procianidina, expresado como la concentración inhibitoria 50 (CI₅₀ = 2,5 µmol/l, es superior al de catequina (CI₅₀ = 50 µmol/l), la unidad monomérica de procianidina usada como referencia. El segundo método consiste en la inducción de la lipoperoxidación por ultrasonido; este método permite diferenciar las distintas fases del proceso peroxidativo.⁴⁷

Acción farmacológica

Se ha observado que las antocianinas pueden inhibir varios grupos enzimáticos, tales como elastasas, colagenasas, hialuronidasas y betaglucuronidasas.⁴⁸ Todas estas enzimas intervienen en la constitución de la matriz extracelular de la piel y en el recambio de los principales componentes estructurales de la matriz extravascular de colágeno, elastina y ácido hialurónico.⁴⁹

También ejercen un efecto inhibitorio no competitivo con la enzima xantina oxidasa, la cual se encuentra relacionada con la formación de aniones superóxido. Las antocianinas fueron testeadas en diferentes pruebas de toxicidad aguda y crónica, demostrando una alta seguridad. La dosis letal 50 fue calculada en ratas y cobayos, siendo la misma de 4.000 mg/Kg. La administración oral de 60 mg/Kg.

diarios de antocianinas durante seis meses a ratas y durante doce meses a perros no produjo efectos tóxicos, teratogénicos ni mutagénicos⁵⁰. Se puede emplear, para uso externo, la infusión de las hojas a razón de una cucharada de postre por taza.⁵¹

Analizando la bibliografía con respecto a la actividad antioxidante de los flavonoides, se encuentra que tienen el siguiente comportamiento *in vitro*:

Flavonoles son más activos que las flavanonas. Son flavonoles: quercitina, kenferol, rutina, antocianinas.

Se ha investigado el efecto del extracto de tabaco en la peroxidación lipídica, la reducción del citocromo c, la fragmentación del ADN y la muerte por apoptosis de los queratinocitos del epitelio bucal normal. Además se ha determinado el efecto protector de determinados antioxidantes seleccionados. Las células, aisladas y cultivadas de tejido bucal normal, sometidas al extracto de tabaco, fueron tratadas con: vitamina C (75 μ M), vitamina E (75 μ M), una combinación de vitaminas C y E (75 μ M de cada una), y extracto de antocianinas de las semillas de uva (100 μ g/ml). Se determinó el grado de actividad antioxidante de estos compuestos. Los resultados demostraron que el extracto de tabaco produce daño tisular oxidativo y apoptosis que puede ser atenuado por antioxidantes que incluyen a la vitamina C, a la vitamina E, a la combinación de ambas y al extracto de semillas de uva. El extracto de semillas de uva mostró una protección mayor que las de la vitamina C y E, aplicadas individualmente o combinadas.⁵²

La inhibición del anión superóxido y del radical hidroxilo, en condiciones similares fue del 78-81% para las antocianinas, del 12-19% para la vitamina C, y del 36-44% para la vitamina E succinato. Estos resultados demuestran que el extracto de semillas de uvas es un captador de radicales de oxígeno libres más potente que las vitaminas C y E.⁵³

3. Antecedentes demostrados de la ausencia de efectos tóxicos en los tratamientos realizados hasta la fecha con antocianinas.

Numerosas investigaciones han demostrado la ausencia de efectos tóxicos en los tratamientos realizados hasta la fecha con antocianinas. Como parte de un

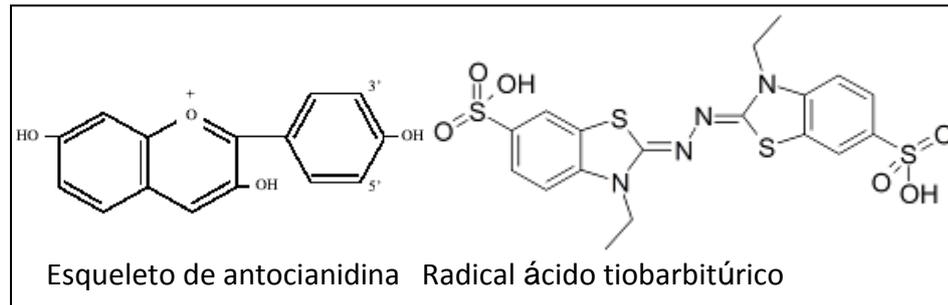
programa para investigar la seguridad de los extractos de semillas de uva (ESU) y los extractos de hollejos de las uvas (EHU) se estudió la actividad clastogénica in vivo de estos productos y/o la disrupción de los aparatos mitóticos, detectando micro núcleos en los eritrocitos policromáticos de médula ósea de ratas. A los animales se les dio 500, 1000 y 2000 mg/ Kg. En ninguno de los extractos se encontraron diferencias estadísticamente significativas que demostraran aumento de micro nucleación, con lo que se evaluó como negativos a estos dos productos.

Aunque los seres humanos han ingerido antocianinas fenólicas por siglos, sin efectos adversos reportados, la literatura en toxicología contiene poca evidencia formal respecto a su seguridad.

Para investigar la seguridad del ESU y del EHU, estos productos fueron incorporados a la dieta de las ratas y se las alimentó al menos tres meses, para evaluar la toxicidad subcrónica. Al final del estudio se realizó necropsia con evaluación microscópica de todos los órganos. No hubo cambios relacionados con el tratamiento que pudieran ser de significación tóxica. Entonces una concentración en la dieta del 2.5% de ESU o del 2.5% de EHU se consideró como de un nivel donde no se observan efectos colaterales adversos. Esto fue equivalente a 1,78 g /Kg./peso corporal/día de uno de los dos extractos en machos y a 2,15 g/Kg./peso corporal en ratas hembras. Se estudió la actividad antioxidante del ESU y de otros compuestos referentes midiendo su capacidad para captar el radical catión tiobarbitúrico; los compuestos más efectivos fueron en orden: extracto de semillas de uvas > rutina > catequina > diosmina ≥ ácido ascórbico. Los efectos radio protectivos se analizaron usando el test de micronúcleo para la actividad anticlastogénica, midiendo la reducción de la frecuencia de eritrocitos policromáticos multinucleados, evaluados en médula ósea de ratas expuestas a rayos X.⁵⁴

La mayor capacidad para captar el radical ácido tiobarbitúrico y la actividad anticlastogénica, puede ser explicada por un gran número de estructuras conjugadas entre los grupos catecol en los anillos y los grupos 3-OH libres del esqueleto polifenólico polimérico, y además por la estabilidad del radical aroxil flavonoide generado en el proceso.⁵⁵

En el siguiente esquema se muestra el esqueleto de las antocianidinas versus el radical ácido tiobarbitúrico.⁵⁶



Se investigó además al ESU en su efecto preventivo en el tratamiento con radicales de oxígeno libre y para valorar su propia inducción de daño cromosómico en líneas celulares linfoblásticas humanas. El extracto estaba compuesto en el 89% por proantocianidinas con un grado de polimerización de entre 2 a 15 y no se observó daño cromosómico, o sea no es genotóxico y demostró un efecto preventivo del daño producido por H₂O₂ a través de una acción de captación directa de H₂O₂.⁵⁷

La ingesta de extracto de semillas de uvas rico en proantocianidina se realizó durante seis meses en mujeres japonesas y demostró su seguridad y efectividad para el tratamiento del cloasma.⁵⁸

Como síntesis de esta sección se puede citar que los radicales libres se han implicado en más de cien condiciones humanas que incluyen: artritis, shock hemorrágico, aterosclerosis, edad avanzada, isquemia e injuria de reperfusión de varios órganos, enfermedades de Alzheimer y Parkinson entre otras.⁵⁹ Un gran número de antioxidantes sintéticos y naturales han demostrado inducir efectos beneficiosos en la salud humana y para prevenir enfermedades.⁶⁰ Se ha estudiado la habilidad del extracto de proantocianidina proveniente de semillas de uva en modelos *in vitro* e *in vivo* comparado con vitamina C, E y βcarotenos. Estos experimentos demostraron que el ESU es altamente biodisponible y posee una protección significativamente mayor contra los radicales libres. Además se demostró su citotoxicidad para las células de adenocarcinoma de mama, pulmón y estómago, mientras mejora el crecimiento y la viabilidad de las células normales de la mucosa gástrica. El ESU también demostró excelente protección contra el daño inducido por sobredosis de acetaminofeno en hígado y riñón regulando el

gen bcl-X (L), el daño del ADN y presumiblemente reduciendo el estrés oxidativo. El ESU demostró excelente protección contra la injuria por isquemia y reperfusión en el infarto de miocardio en ratas. Además se ha demostrado que sobre regula el gen bcl-2 e infra regula el oncogén c-myc. La aplicación tópica en voluntarios aumenta la protección solar y su administración crónica como suplemento dietario alivia la pancreatitis crónica en humanos. Estos resultados demuestran que el ESU provee una excelente protección contra el estrés oxidativo y la injuria mediada por radicales libres.⁶¹

4. Citología exfoliativa

Las células del epitelio normalmente se exfolian hacia la cavidad bucal y pueden ser fácilmente recogidas y visualizadas a través de la citología exfoliativa de la mucosa bucal.

En las zonas donde el epitelio es delgado como el piso de la boca, las células progenitoras del mismo se encuentran en la capa basal y en zonas donde el epitelio es más grueso como en carrillos o paladar, estas se ubican en dos o tres capas celulares basales y parabasales.

La velocidad de proliferación del epitelio, o sea el tiempo que tarda una célula en llegar desde la capa basal donde se origina, hasta la superficie, es en la encía de 41 a 57 días y en el carrillo de 25 días. Las diferencias regionales de los patrones de queratinización influirían en el recambio. Hay en la mucosa bucal tres tipos de epitelios: ortoqueratinizados, paraqueratinizados y no queratinizados. El epitelio bucal no queratinizado se recambia más rápido que el queratinizado.

Algunas células permanecen en la población celular progenitora de la zona basal. Las restantes a medida que migran hacia la superficie pasan por un proceso de maduración o queratinización que es completo en el caso de la mucosa masticatoria. La mucosa de revestimiento presenta paraqueratosis con persistencia de los núcleos en la capa superficial.

Las células de la mucosa que normalmente exfolian en la cavidad bucal son:

- 1) Células basales: redondas u ovals con núcleos grandes muy azules con la tinción de Papanicolaou. El citoplasma se ve como una membrana que envuelve al núcleo. Son basófilas.
- 2) Células parabasales: muy similares a las anteriores, el citoplasma basófilo es más claro. El núcleo algo más pequeño tiene una estructura más fina.
- 3) Células intermedias: existen dos grupos; las más profundas en el epitelio son más grandes que las parabasales. Los bordes se pliegan por eso se las llama también naviculares. Los núcleos son grandes con estructura delicada. El segundo subtipo de células intermedias muestra signos de queratinización, pequeños gránulos citoplásmicos. Citoplasma cianófilo en las más nuevas y eosinófilo en las más antiguas. Si toman ambas tinciones estas células se denominan anfófilas.
- 4) Células superficiales: mayor tamaño, poligonales. Núcleos picnóticos.
- 5) Células anucleadas o escamas: son células completamente queratinizadas. Irregulares y poligonales, su tamaño puede ser menor que el de las anteriores. En la zona nuclear suele observarse un orificio.

La mucosa bucal presenta tres tipos diferentes de estructuras histológicas. Estas son:

- a) Mucosa de revestimiento: situada en cara ventral de la lengua, piso de boca, carrillos, mucosa alveolar y cara mucosa de ambos labios. Epitelios no queratinizados.
- b) Mucosa masticatoria: localizada en paladar, semimucosa labial y encía. El epitelio es normalmente paraqueratinizado.
- c) Mucosa especializada que recubre la cara dorsal de la lengua.

Las células provenientes de la mucosa yugal y el vestíbulo comprenden todos los tipos celulares mencionados, excepto las escamas. De la zona de paladar se obtienen normalmente células anaranjadas (con la tinción de Papanicolaou) poligonales con núcleos picnóticos o ausentes y algunos microorganismos.

Las células de la gíngiva son también a predominio de tipo superficial, sobre todo anucleadas si no existe inflamación.

Las células descamadas del epitelio especializado de la lengua muestran predominio de eosinofilia y núcleos picnóticos o ausentes. Es normal en esta zona

la presencia de bacterias, polimorfonucleares y células mononucleares como linfocitos o células plasmáticas.⁶²

5. Citoqueratinas

El citoesqueleto es un elemento básico en la fisiología celular. Con microscopía electrónica de transmisión se lo puede visualizar en forma de una trama fibrosa que surca la célula desde la membrana citoplasmática hasta la nuclear, manteniendo la posición del núcleo y las organelas y extendiéndose hasta los desmosomas, cilios y flagelos, sustentando así la estructura y movilidad celular. El citoesqueleto está formado por microtúbulos (15-25 nm), filamentos de actina (5-7 nm) y filamentos intermedios. Éstos, se denominan así debido a que su diámetro (8-11nm) se encuentra comprendido entre el de los otros dos.

La composición de los filamentos intermedios nos ayuda a identificar el origen de una célula anaplásica. Los tumores malignos frecuentemente conservan el tipo de filamentos intermedios característicos del tejido que le dio origen y las metástasis generalmente continúan expresando estos filamentos intermedios. Existen 6 grupos de filamentos intermedios. Los tipo 1 y 2 incluyen CK ácidas y básicas respectivamente, las cuales están presentes en el epitelio. El tipo 3 comprende la vimentina que se encuentra en células mesenquimales y melanocitos; la desmina, que se halla en la mayoría de las células musculares y la proteína ácida glial fibrilar de las células gliales. El tipo 4 abarca neurofilamentos que son componentes de las neuronas. Las láminas nucleares constituyen el tipo 5, la nestina; el tipo 6 se encuentra en algunas células madres.⁶³

La estructura de las CK es similar a la de otros filamentos intermedios y se basa en la disposición en alfa hélice. Las moléculas de queratina están compuestas por moléculas polipeptídicas estrechamente enrolladas formando una especie de cilindro con múltiples cadenas laterales. Estas cadenas laterales que no son alfa hélice, son variables y determinan los diferentes tipos de CK. En 1982, Moll comprobó que existían 19 subclases de CK y las catalogó según sus pesos moleculares.⁶⁴ Actualmente se han descrito 20 CK.⁶⁵ La expresión de estos diferentes patrones de CK específicos de lugar, puede cambiar cuando la tasa de

crecimiento se eleva y/o el nivel de diferenciación está alterado patológicamente.⁶⁶ Los bloques de construcción primarios comprenden un heterodímero, o sea un par de queratinas, una ácida y una básica, y luego los filamentos intermedios de queratina comprenden cantidades iguales de polipéptidos de queratinas básicas y ácidas.⁶⁷ Las CK situadas en la porción basal del epitelio son de menor peso molecular. A medida que las células se diferencian y desplazan hacia la superficie de la piel van adquiriendo otras CK de mayor peso molecular, que presentan nuevos enlaces bisulfuro que aumentan su insolubilidad. Las CK son los principales marcadores de diferenciación del epitelio estratificado. En la evolución de las patologías inflamatorias el grado de diferenciación celular varía según los momentos evolutivos.

La proteína CK14 es reconocida como un marcador específico de la diferenciación celular en las capas del estrato basal de un epitelio normal estratificado.⁶⁸ Debido a su localización el par de CK 5 y 14 son consideradas las mayores responsables en el mantenimiento de la integridad de la capa basal, ya que son el principal componente de los hemidesmosomas.⁶⁹

Todos los queratinocitos basales expresan el par de queratinas, CK5 y CK14. Según se van alejando los queratinocitos de la capa basal dejan de expresar estas CK y comienzan a expresar CK específicas de tejido. Las CK principales de epidermis interfolicular son las queratinas CK1 y CK10, mientras las células no queratinizadas de la mucosa estratificada expresan CK4 y CK13.⁷⁰ (Figura nº 3)

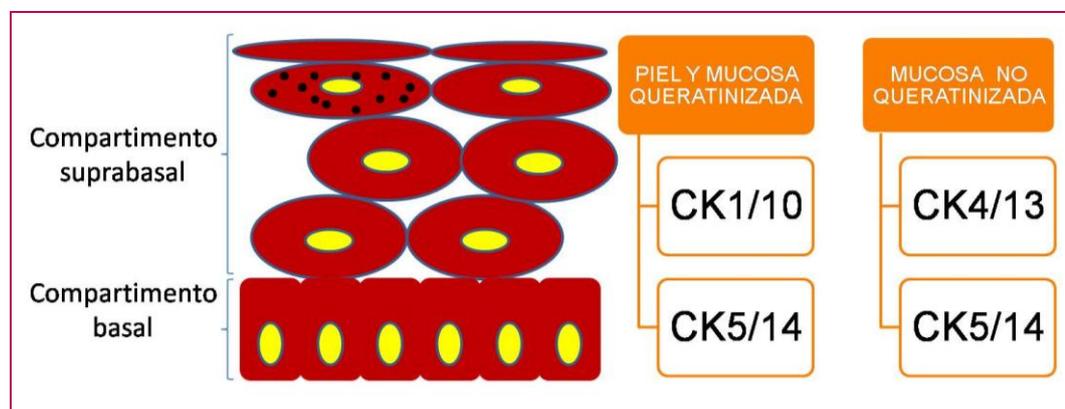


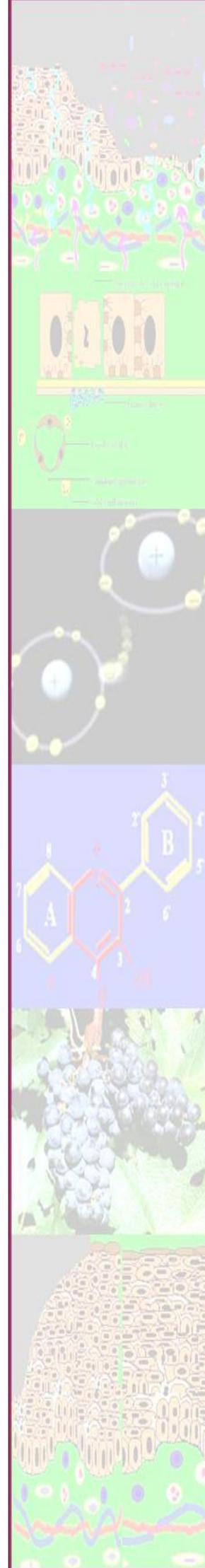
Figura nº 3: esquema de epitelio estratificado y sus CK.⁷¹

En la mucosa bucal, esofágica y del cervix, CK4 y CK13 son las queratinas suprabasales predominantes y pueden ser consideradas marcadoras de este tipo de epitelios. En el epitelio bucal y del cervix, pequeñas subpoblaciones de células suprabasales también expresan CK1 y CK10.⁷²

Dentro de la boca, el paladar duro y la gíngiva expresan patrones idénticos y se asemejan al de la epidermis. La superficie dorsal de la lengua y de la región de la comisura muestran patrones intermedios entre el epitelio queratinizante y el no queratinizante.⁷³ En contraste, la mucosa alveolar contiene en gran proporción CK4 y 13 y en menor cantidad CK5, 6, 14 y 17.⁷⁴

Alternativamente, CK1 y CK10 pueden ser reguladas independientemente una de otra, aún cuando copolimerizen para formar el filamento intermedio de la red suprabasal. Otra explicación sobre por qué CK1 es la queratina dominante sería que es un marcador más temprano de diferenciación que CK10 en la vía de diferenciación terminal y que la expresión de CK10 depende de la de CK1. Esto ha sido demostrado a nivel de ARNm y a nivel proteico en cultivo celular y en la epidermis, donde la síntesis de CK1 comienza de manera más temprana que la de la CK10, siendo ésta transcrita cuando existen niveles apreciables de CK1.^{75, 76}

III FORMULACIÓN DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN





nunciación

1. ¿La utilización local de antioxidantes derivados de la uva, mejoran la evolución de las patologías bucales con estrés oxidativo?

2. ¿Es de utilidad el análisis morfométrico para el control evolutivo de los pacientes y de la efectividad del tratamiento?

3. ¿Se puede evaluar la evolución clínica con citología exfoliativa?

4. ¿Es mejor objetivar con CK la evolución clínica de los pacientes?

Objetivos

1. Demostrar que los antioxidantes derivados de la uva, mediante el uso local mejoran las patologías orales con estrés oxidativo.

2. Demostrar la utilidad del estudio morfométrico para evaluar la evolución y la efectividad del tratamiento.

3. Verificar si con citología exfoliativa se puede controlar la evolución de los pacientes.

4. Investigar la utilidad de las CK para evaluar la evolución de los pacientes.

Hipótesis

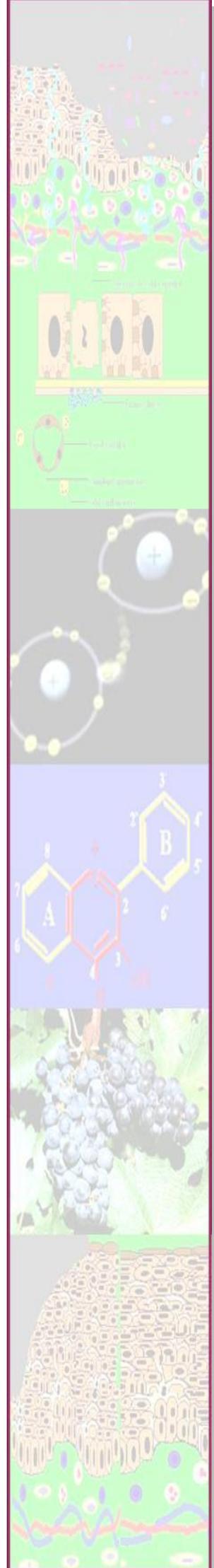
1. El uso local de antioxidantes derivados de la uva, sirve para tratar las patologías orales con estrés oxidativo.

2. El estudio morfométrico es de utilidad para evaluar la respuesta al tratamiento de las patologías orales en cuya patogenia interviene el estrés oxidativo.

3. La citología exfoliativa es un método auxiliar para evaluar la evolución de las patologías orales con estrés oxidativo.

4. La determinación de CK es un método eficaz para objetivar la evolución de las patologías orales con estrés oxidativo.

IV METODOLOGIA





iseño experimental

Estudio con grupo control pareado por patología.

Se realizaron para cada patología:

- Un grupo de pacientes con tratamiento experimental con enjuague con antocianinas (**casos**)
- Un grupo de pacientes con tratamientos de primera elección (**controles**).

Grupo experimental (casos)

Se utilizó en este grupo de pacientes un producto que se emplea como colorante para la industria alimentaria, de Laboratorios Christian Hansen Argentina.

Denominación del producto: Colorante Natural Rojo 0352

Descripción: polvo de color violáceo- bordeaux oscuro.

Ingredientes: antocianina de uva, Vitis vinífera purificada.

Concentración: 1250+/- 75 unidades/gr.

Solubilidad: miscible en medio acuoso.

Almacenaje: proteger de la exposición al aire y la luz. Conservar en frío. No congelar.

Envases: se presenta en bolsas de cinco kilogramos.

Aplicaciones: en todo producto con una fase acuosa considerable tales como licores, caramelos, jugos de fruta, gelatinas, jaleas, helados, etc.

Apariencia en aplicación: desde el rojo brillante al rojo azulado dependiendo de la aplicación, ph. y dosis.

Directivas para su uso: mezclar el colorante antes de ser usado. Puede agregarse en forma directa según el proceso o en la base de la aplicación.

Aprobación y legislación: este colorante está en todo de acuerdo con las directivas de EU Nr. 163. Además cumple con el artículo 1324 del C.A.A.

Estabilidad del producto aplicado: es estable a temperaturas cercanas a los 120°C.

Rango de ph. 5.0-9.0 en solución acuosa. Y ph. 1.0-9.0 en matriz alimenticia.

Las antocianinas se fraccionaron en frascos de vidrio en 150 ml., color caramelo a razón de tres gramos por frasco. Se agregó agua potable. De esto resultó una dilución de 20mg/ml.

Los enjuagues con antocianinas se indicaron a los pacientes para ser utilizados con la modalidad de introducir 5 ml de la solución, que corresponden a una dosis de 100 mg. en la cavidad bucal, dejar actuar 5 minutos y escupir. Tres veces por día, después de desayuno, almuerzo y cena a continuación de la higiene oral habitual. Esta dosis de 100 mg. por dosis, tres veces por día, es menor a la dosis promedio que habitualmente se ingiere de esta sustancia en una dieta balanceada (desde 180 mg / día hasta 1000 mg / día promedio).^{77, 78}

Además esta es la dosis que se comparó *in vitro* con lo que equivale a 225mg de vitamina E, y demostró mayor efecto captador de radicales libres de oxígeno.^{79, 80}

Grupo con tratamiento de primera elección (controles)

A los pacientes del grupo control se les administró:

- A los pacientes con LPB o aftas:

Corticoides tópicos de muy alta potencia: propionato de clobetasol (CP) en crema asociada a nistatina y neomicina (Cada 100 g del preparado comercial contienen: 17-CP (micronizado) 0.050 g; Neomicina (como sulfato) 0.350 g +; Nistatina (micronizada) 100.000 U./g*; Dióxido de Titanio 2.000 g; Eter Cetílico Polioxietileno 3.500 g; Aceite de Maní 14.500 g; Galato de Propilo 0.003 g; Sustituto Cera de Abejas. 3.000 g; Cera Microcristalina 30.000 g; Parafina Líquida c.s.p. 100.000 g. + Equivalente a 3.500 U./g. * Equivalente a aproximadamente 2.5% de nistatina.) aplicado tres veces por día localmente sobre las lesiones, después de desayuno, almuerzo y cena a continuación de la higiene oral habitual.

- A los pacientes con síndrome de ardor bucal:

Otro antioxidante de uso habitual: vitamina E tópica en cápsulas a las que el paciente les hacía un orificio y mantenía el contenido de la cápsula en la boca durante aproximadamente 5 minutos antes de ingerirlo.

- A los pacientes con mucositis:

Enjuague bucal preparado con:

Cloruro de sodio 5 grs.

Bicarbonato de sodio 5 grs.

Agua 500 ml.

Esta solución salina es internacionalmente aceptada y recomendada para el tratamiento de las mucositis post quimioterapia.^{81, 82}

La preparación y fraccionamiento de las antocianinas fue realizada por la Prof. Ing. Amanda Di Fabio (Profesora titular de la Cátedra de Farmacobotánica; Universidad Maza).

Criterios de inclusión: pacientes con diagnóstico de líquen, aftas, mucositis o síndrome de ardor bucal. Presencia de lesiones activas en la consulta inicial para las tres primeras entidades nosológicas y de sintomatología para los pacientes con síndrome de ardor bucal.

Criterio de exclusión: menores de 15 años de edad. Pacientes con antecedente de haber recibido transplante de médula ósea.

A los pacientes que firmaron el consentimiento informado aprobado por el Comité de Ética e Investigación del Hospital Luis Lagomaggiore, e ingresaron en el proyecto se los dividió en grupos según las patologías. Se formaron cuatro grupos: pacientes con LPB, pacientes con aftas, síndrome de ardor bucal y, pacientes con mucositis. Dentro de cada grupo seleccionado según la patología, un grupo recibió el tratamiento antioxidante y el otro grupo el tratamiento de primera elección, habitual, vigente para esa patología (gold standard) (Figura nº 4).

Gráfico del diseño experimental

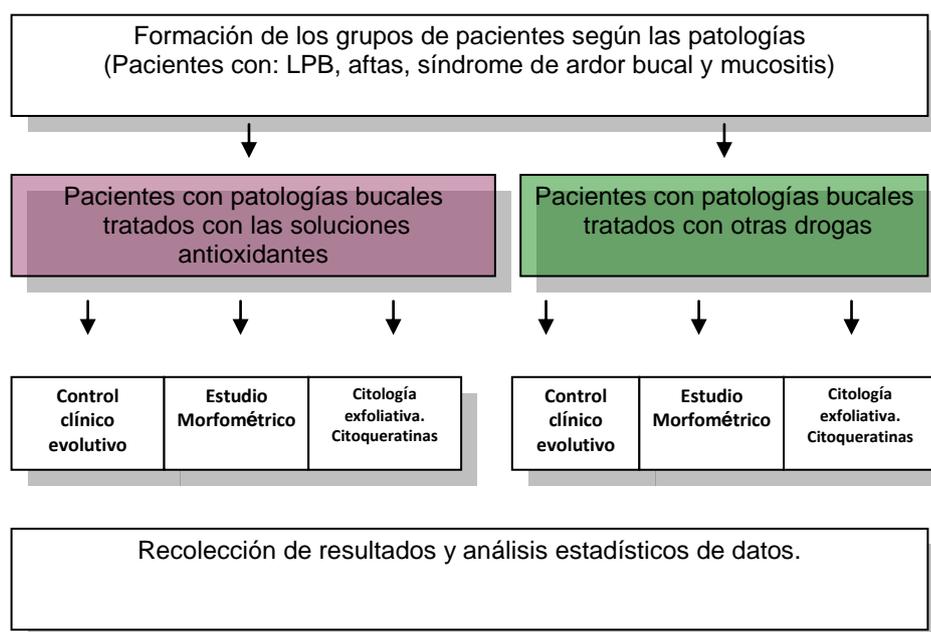


Figura nº 4: Diseño experimental.

En el estudio morfométrico y de CK, sólo se incluyó a los pacientes con LPB.

A los pacientes de todos los grupos se les realizó:

1. Historia clínica y analítica de rutina.
2. Enseñanza de técnica de higiene oral (THO).
3. Descontaminación de la cavidad oral mediante los tratamientos odontológicos necesarios: periodontales, tratamiento de caries y extracciones, adaptación de prótesis e higiene de las mismas.
4. Tratamiento local de las candidiasis con nistatina (previo al inicio).
5. Eliminación del trauma local.
6. Indicación de eliminar el hábito de fumar.
7. Indicación de abandonar la ingesta de alcohol durante el tratamiento.
8. Tratamiento psiquiátrico coadyuvante en caso de ser necesario.
9. La diferencia en el tratamiento se basó en el tratamiento local con solución antioxidante o con tratamiento local convencional (corticoides tópicos para LPB y aftas, vitamina E para síndrome de ardor bucal, solución salina para mucositis) según el grupo de estudio al que correspondan.
10. Control de la evolución clínica.

Para lograr describir con precisión, clasificar objetivamente y realizar mediciones reproducibles de la severidad del daño de la mucosa, tanto para el cuidado rutinario del paciente, como para realizar un trabajo de investigación complejo, se utilizó el protocolo diseñado para esta investigación que fue aprobado por el Comité de Ética e Investigación del Hospital Luis Lagomaggiore (se adjunta en el Anexo de esta tesis).

Examen clínico protocolizado

Los pacientes fueron examinados en el consultorio de odontología, bajo la luz de los sillones odontológicos. Para controlar la evolución de estos pacientes se completó el protocolo en cada consulta. Los datos incorporados se subdividieron en: datos epidemiológicos, datos del interrogatorio (motivo de consulta, antecedentes, enfermedad actual), datos obtenidos del examen odontológico y estomatológico de los pacientes, datos de laboratorio, score de compromiso, comentarios y observaciones.

Se evaluaron los índices odontológicos que a continuación se detallan. Estos índices fueron evaluados por odontólogos generales del Servicio de Odontología del Hospital Luis Lagomaggiore.

Índice CPOD: Resulta de la sumatoria de dientes permanentes cariados perdidos y obturados.

Índice de Løe y Silness: permite establecer grados de intensidad del acúmulo de placa (Tabla 5). No necesita la aplicación de sustancias descubridoras y puede utilizarse en piezas dentarias seleccionadas representativas de toda la boca, tales como (1.6, 2.1, 2.4, 3.6, 4.1 y 4.4) en cuatro sitios por diente: mesial, vestibular, distal y palatino.

Criterios clínicos para el índice de placa de Løe y Silness	
Grado	Características
0	No hay placa
1	No hay placa a simple vista. Hay placa cuando se realiza el pasaje de sonda ó explorador por el área dentogingival
2	Hay placa bacteriana a simple vista
3	Hay placa bacteriana a simple vista rodeando el diente, incluso por espacios interdientales. Puede haber cálculos

Tabla 5: Índice de placa.

Se estima el promedio de las piezas seleccionadas para tal fin, incluyendo las cuatro áreas del diente. Se estima que el paciente posee buen estado de salud bucal cuando el índice de Løe y Silness se mantiene en cero (0).

Índice de O'Leary.

Indica el porcentaje de superficies teñidas, revelando la presencia de placa bacteriana, (color rosa oscuro, si se emplea eritrosina, o color rosa y azul, si se usa doble tono) sobre el total de superficies dentarias presentes.⁸³

Se obtiene aplicando la siguiente fórmula.

$$\frac{\text{Cantidad de superficies teñidas} \times 100}{\text{Total de superficies Presentes}} =$$

Scores: Se realizó un puntaje de compromiso total de la cavidad bucal que se analizó en cada consulta (ver protocolo anexo) donde a la ausencia de lesión se le otorga un punto (mucosa sana, ausencia de placa bacteriana o cálculo, ausencia de sequedad bucal), la presencia de lesión moderada es evaluada con dos puntos (eritema o lesión mucosa no erosiva, placa bacteriana o cálculo presente en áreas, por ejemplo interdentales, xerostomía moderada) y las lesiones de severidad máxima se registran con tres puntos (erosiones, placa bacteriana o cálculo generalizado, xerostomía extrema). Se evalúan 14 aspectos, siendo el menor puntaje posible 14 y el máximo 42 (Tabla 6).

Categoría	1	2	3
Saliva	Acuosa	Espesa	Ausente
Borde	Suave rosado y húmedo	Seco o fisurado	Ulcerada o sangrante
Labio superior	Suave rosado y húmedo	Eritema indentaciones	Ulcerada o sangrante
Labio inferior	Suave rosado y húmedo	Eritema indentaciones	Ulcerada o sangrante
Lengua dorso	Rosado húmedo y papilas presentes	Saburral o pérdida de papilas con apariencia brillante. Con o sin eritema. Micosis	Ampollado o fisurado
Lengua ventral	Rosado y húmedo	Enrojecida o cubierta sin ulceración. Micosis	Ulceración con o sin sangrado
Lengua borde derecho	Rosado y húmedo	Enrojecida o cubierta sin ulceración. Micosis	Ulceración con o sin sangrado
Lengua borde izquierdo	Rosado y húmedo	Enrojecida o cubierta sin ulceración. Micosis	Ulceración con o sin sangrado
Mucosa yugal derecha	Rosado y húmedo	Enrojecida o cubierta sin ulceración. Micosis	Ulceración con o sin sangrado
Mucosa yugal izquierda	Rosado y húmedo	Enrojecida o cubierta sin ulceración. Micosis	Ulceración con o sin sangrado
Paladar	Rosado y húmedo	Enrojecida o cubierta sin ulceración. Micosis	Ulceración con o sin sangrado
Piso	Rosado y húmedo	Enrojecida o cubierta sin ulceración. Micosis	Ulceración con o sin sangrado
Encías	Rosado y firme. Edema por dentición	Edematoso con o sin eritema , suave	Sangrado espontáneo o a la presión
Dientes	Limpio y sin cálculo	Placa o cálculo en áreas localizadas (entre los dientes)	Placa o cálculo generalizado.
SCORE			

Tabla 6: Cuadro para valoración de scores.

Evaluación del dolor: en la evaluación clínica, la magnitud del dolor fue cuantificada a través de una escala analógica verbal de dolor. Se indicó a los pacientes graduar el dolor de 0 a 10; siendo 0 ausencia de dolor y 10 el máximo dolor imaginable por el paciente. Esto fue evaluado al inicio y en los controles evolutivos.

Se utiliza además de la evolución clínica, la determinación de AST y de MDA, la morfometría de las lesiones y la citología exfoliativa oral.

Determinación de AST y de MDA

Con los pacientes con liquen bucal se realizó un estudio prospectivo, experimental, no randomizado, controlado. Criterio de inclusión: pacientes con liquen bucal. Se realizó seguimiento de variables clínicas y dosaje de los niveles de AST (método de determinación por espectrofotometría con el reactivo: Total Seric Antioxidant Randox®) y MDA en suero (mediante un método basado en la reacción del MDA con el ácido tiobarbitúrico) el día de inicio y el día final de tratamiento. Se realizó un análisis comparativo con controles normales y entre los grupos: casos y controles

Estudio morfométrico

Para el estudio morfométrico de las lesiones se utilizó el programa Image Pro Plus (software procesador y analizados de imágenes) para examinar las imágenes iconográficas obtenidas durante los exámenes clínicos de los pacientes con liquen bucal. Para poder comparar las áreas afectadas, las fotografías fueron tomadas incluyendo una regla con graduación en milímetros en las imágenes. Se midieron las áreas afectadas en los pacientes con liquen bucal en la consulta inicial y en la consulta de control de mejoría en ambos grupos, casos y control. Se sometieron posteriormente a análisis estadístico las mediciones de las áreas estudiadas.

Citología exfoliativa

Se realizó en todos los pacientes incluidos en el estudio, un seguimiento citológico, con citología exfoliativa. Esta técnica no es traumática para el paciente. A través de ella se pueden observar las características de las células exfoliadas y se pueden realizar índices de grados de diferenciación. Los frotis fueron obtenidos en el control de inicio (antes de comenzar el tratamiento) y en los controles evolutivos según el curso de cada patología. En las patologías de evolución aguda las tomas citológicas se realizaron el día del inicio de la terapia, y luego semanalmente. En las patologías crónicas, mensualmente. Se eligió la citología exfoliativa por ser un método no invasivo. Las muestras se tomaron realizando en la zona a estudiar una presión sostenida a lo largo de la lesión, con espátula.⁸⁴

Se tomaron muestras de las células exfoliadas en la zona de la mucosa afectada. Se fijaron los extendidos citológicos con alcohol 96°. A estos extendidos se les realizó tinción con técnica de Papanicolaou. Se tomaron fotografías de los preparados para realizar el conteo de al menos trescientas células en cada vidrio. Se realizó la lectura de las citologías clasificando a las células según su morfología y tinción en: escamas, células cariopicnóticas, células intermedias eosinófilas, células intermedias anfófilas y células cianófilas. Estas últimas incluyen también a las células parabasales y basales. En base a estas observaciones se realizó la determinación de los índices citológicos.^{62, 85}

Índice de queratinización= $\frac{\text{N}^\circ \text{ de escamas} \times 100}{\text{N}^\circ \text{ total de células}}$

Índice de eosinofilia= $\frac{\text{N}^\circ \text{ escamas} + \text{n}^\circ \text{ cariopicnóticas} + \text{n}^\circ \text{ eosinófilas} \times 100}{\text{N}^\circ \text{ total de células}}$

Índice de cariopcnosis= $\frac{\text{N}^\circ \text{ cariopicnóticas} \times 100}{\text{N}^\circ \text{ total de células}}$

Índice de anofilia= $\frac{N^{\circ}\text{anfófilas} \times 100}{N^{\circ}\text{total de células}}$

Índice de cianofilia= $\frac{N^{\circ}\text{cianófilas} \times 100}{N^{\circ}\text{total de células}}$

Determinación de CK

Se realizó estudio inmunohistoquímico de treinta y tres biopsias de mucosa de pacientes con LPB y cuatro controles en mucosa bucal normal, no queratinizada, de pacientes que presentaron mucocele. En todos los casos, el diagnóstico se confirmó mediante microscopía óptica. Se inmunomarcaron las CK1, 13 y 14.

Las biopsias fijadas en formol al 10% e incluidas en parafina fueron cortadas y montadas en portaobjetos silanizados. Los cortes fueron hidratados a través de pasos por xilol y alcoholes en concentraciones decrecientes. Se bloqueó la actividad de la peroxidasa endógena con 0,1% de azida sódica y 3% de peróxido de hidrógeno durante 30 minutos. Se lavó 10 minutos en buffer Tris (0,05 M Tris base, pH 7,5). Para el desenmascaramiento de los antígenos nucleares se colocó 0,01 M buffer citrato, pH 6 a ebullición durante 25 minutos. Se realizó un nuevo lavado de 10 minutos en buffer TRIS y un lavado de 5 minutos en Autobuffer (0,128 M Tris-ClH; 0,2 M Tris base; 2,5% BRIJ 35; pH 7,5). Se bloquearon los sitios inespecíficos con leche descremada al 10% durante 30 minutos. Se incubó con el primer anticuerpo, diluido en buffer de dilución de anticuerpos (0,02 M $\text{PO}_4\text{H}_2\text{Na}$; 0,15 M NaCl; 0,04 % azida sódica; 1 % albúmina sérica bovina; pH 7,6) en cámara húmeda a 4°C durante toda la noche. Los primeros anticuerpos utilizados fueron: a) *anti CK1 NCL-CK1 (monoclonal hecho en ratón) (Novocastra, Leica Biosystems Newcastle Ltd, UK)*, b) *antiCK13 NCL-CK13 (monoclonal hecho en ratón) (Novocastra)* y c) *antiCK14 NCL-L-LL002 (monoclonal hecho en ratón) (Novocastra)*. Se lavó 20 minutos con Autobuffer (0,128 M Tris-ClH; 0,2 M Tris base; 2,5% BRIJ 35; pH 7,5, Sigma-Aldrich) y se incubó en cámara húmeda a temperatura ambiente (45 minutos) con el segundo anticuerpo (*antiratón, Vector, Burlingame, CA, USA*).

Se lavó nuevamente por 20 minutos en Autobuffer. Se efectuó incubación en cámara húmeda a temperatura ambiente (45 minutos) con el reactivo ABC (Complejo Avidina Biotina, Vectastain de Vector) y luego se realizó lavado de 20 minutos en Autobuffer. Se incorporó diaminobencidina como sustrato cromógeno. Se lavó en agua corriente durante 5 minutos y luego en agua destilada durante 5 minutos. Se contra-tiñó con hematoxilina durante 5 segundos, se lavó en agua corriente durante 10 a 15 minutos y luego en agua destilada. Se deshidrató con concentraciones crecientes de alcohol, posteriormente se realizaron pasajes por xilol y se colocó cubreobjetos.⁸⁶

Los preparados fueron observados en microscopio óptico y se valoró la tinción según la intensidad en leve (+), moderada (++), intensa (+++) o negativa (0).

En los pacientes con LPB la inmuno marcación para CK 1,13 y 14 se realizó también en los extendidos citológicos efectuados al inicio y en los controles evolutivos de los pacientes. Los extendidos fueron fijados en alcohol 96° y conservados a temperatura ambiente. Para la inmuno marcación de los mismos se utilizó la metodología antes citada con la única diferencia de que se realizó permeabilización de los preparados antes de bloqueo de la peroxidasa endógena. La permeabilización se realizó con detergente no iónico Nonidet® P40 (etilfenil-poli-etilenglicol) en PBS 1X, durante 5 minutos a 4°C seguido por 2 lavados de 5 minutos cada uno con PBS 1X a 4°C.

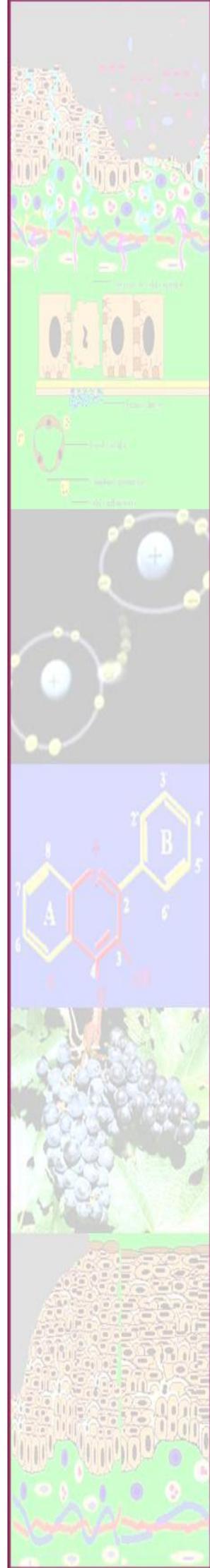
Análisis Estadístico

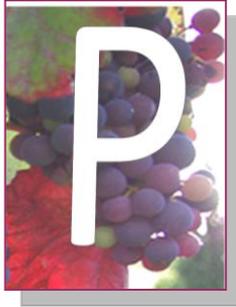
Los datos recopilados en las consultas se analizaron con el programa informático epidemiológico Epi-info. La metodología utilizada incluyó el análisis a través de medidas de tendencia central, medidas de dispersión, test de Student y test exacto de Fisher según correspondiera.

El análisis morfométrico, los índices citológicos y la expresión de las CK en los extendidos se analizaron con el programa GraphPad InStat 3.0 y con GraphPad Prism versión 5, San Diego, California, USA y se utilizaron el test exacto de Fisher, el test de Wilcoxon para muestras pareadas, la prueba no paramétrica de Mann-Whitney, el análisis de la varianza (ANOVA), el test de Kruskal-Wallis (ANOVA No

paramétrica) y el test de Friedman (ANOVA no paramétrica mediciones repetidas) según correspondiera. Un valor de $p \leq 0.05$ se consideró significativo.

V RESULTADOS





ACIENTES CON LIQUEN BUCAL

Datos epidemiológicos.

Se han incluido en la valoración clínica un total de cincuenta y dos pacientes con LPB. Edad media: 61,6 años ($DS\pm 10,6$); 35,4% > 65 años, 87,5% mujeres, en el 77,1% (IC95% 62,69-87,97) la patología tiene una evolución superior a 1 año.

El 95,8% provenía de zonas urbanas y el 20,8% estaba desocupado. El 83,3% pertenecen a clase media y 4,2% indigentes. En cuanto al estado civil, el 72,9% estaba casado y 18,7% viven solos.

El principal motivo de consulta fue el dolor (93,8%). En la estimación cualitativa a través de la escala analógica de dolor de 0 a 10, los pacientes presentaron en promedio 6,45 ($DS\pm 2,4$). En el 97,9% las lesiones son múltiples, predominando las lesiones erosivas ($n = 37$), las lesiones en placas ($n = 20$) y el eritema ($n = 12$). La principal localización fue la mucosa yugal (más del 70%), seguida de los labios, la lengua (dorso y región lateral) y las encías. En el 12,5% se localizó en el paladar. Se realizó biopsia en el 87,5% de los pacientes. La evolución promedio en días fue de 252,7 con un rango de 7 a 3.285 días. En el 73% se identificó traumatismo en la lesión. El 81% presentaron placas y el 62% cálculos dentarios.

En el 92% se realizó enseñanza de THO. El índice CPOD resultó en: C 2,43 ($DS\pm 2,6$) P: 14 ($DS\pm 9,07$), O: 4,12 ($DS\pm 3,9$), D: 16,8 ($DS\pm 8,7$). Índice LÖE: 1,57 ($DS\pm 0,7$). Índice de O'LEARY: 79,8 ($DS\pm 22,2$). Caries 60% y en el 81% amelodontarias. Tenían prótesis 31 pacientes y en la mitad estaban mal adaptadas. Veintiocho pacientes presentaban amalgamas como resultado de tratamientos odontológicos previos (53,8%).

Se valoró el "performance status" a través de la escala de Karnofsky, el mismo fue de 100 puntos en el 66,6% de los pacientes.

El 87,5% (IC 95%: 74,75-95,27) tienen enfermedades comórbidas y el 71% de ellos reciben 3 o más fármacos para tratarlas. Los principales fármacos son: antihipertensivos (8 pacientes con inhibidores de enzima convertidora de angiotensina, 6 con betabloqueantes y 5 con bloqueantes de los canales de calcio, y otros), hormonas tiroideas y antidepresivos entre otros.

El 25% de los pacientes son tabaquistas (IC95%13,64-39,60). Sólo en dos pacientes se consiguió el cese del tabaquismo sostenido pese a la recomendación médica y odontológica en cada visita, a través de una intervención mínima. Cuatro pacientes (8.3%; IC95%2,32-19,98) tienen problemas relacionados con el alcohol. Se incluyeron en el grupo experimental 26 pacientes (casos) que fueron tratados con antocianinas de las uvas: 17 pacientes con tipos clínicos erosivos y 9 con tipos no erosivos; y 26 en el grupo de tratamiento de primera elección (controles) tratados con CP-neomicina-nistatina: 21 pacientes con tipos clínicos erosivos y 5 con formas clínicas no erosivas.

Los pacientes del grupo casos tenían una edad promedio de 60,4 (DS±9.9), el 36% eran mayores de 65 años y el 92% fueron mujeres. En el grupo control la edad promedio fue de 62,8 (DS±11,3), el 34,8% fueron pacientes mayores de 65 años y el 82.6% de sexo femenino. La escolaridad promedio fue de 9,7 años (DS±4,7) para los casos y 10,6 años (DS±3,9) para los controles (pNS). El 100% del grupo casos y el 91.3% del grupo control tenía procedencia urbana. La escala de Karnofsky fue en promedio de 93,7 (DS±8,7) y 93,3 (DS±10,1) respectivamente. No hubo diferencias en la presencia de comórbidas en ambos grupos (92 vs. 82,6%), siendo las más frecuentes la hipertensión arterial, la depresión, la diabetes mellitus y el hipotiroidismo, entre otras. El 100% de los pacientes con comórbidas reciben tratamientos para las diferentes patologías. No encontramos diferencias en cuanto a la presencia de tabaquismo ni el número de paquetes-años de cigarrillos fumados (paquetes de cigarrillos fumados por día; por años de fumador) ni antecedentes de problemas con el alcohol. Tampoco en cuanto al consumo de xantinas ni otros productos (lácteos), significación estadística (pNS).

No se encontraron diferencias en cuanto a los antecedentes de tratamientos previos (84 vs. 76%), al tiempo medio de duración del mismo (promedio 126 días (DS± 29) vs. 97 días (DS±46) ni en cuanto a la respuesta parcial, ya que en ningún caso fue sostenida y todos los pacientes tuvieron recaídas con las conductas terapéuticas previas.

El tiempo promedio de inicio de la patología hasta la consulta fue de menos de seis meses en 20% del grupo casos y 30% del grupo control y más de un año de 72% vs. 61% respectivamente (pNS).

El score de evaluación de compromiso se realizó en cada consulta, fue en promedio en la primera consulta de 20.31 DS±2.69 en el grupo casos y 20.2 DS±3.3 en el grupo control.

En el 100% de ambos grupos hubo adherencia a la indicación médica.

Se compararon los índices odontológicos de los pacientes que recibieron sendos tratamientos, no encontrándose diferencias significativas entre ambos.

Índices odontológicos.

En la siguiente tabla se expresan los valores encontrados de los índices evaluados y los tratamientos odontológicos realizados.

Liquen bucal	Casos n = 25		Controles n = 23		
CPOD					
C:	1.94	DS ± 2.57	3.15	DS± 2.7	
P:	14.7	DS ± 9.07	12.92	DS± 9.28	
O:	4.55	DS ± 4.11	3.53	DS± 2.7	
D:	14.42	DS ± 9.4	20	DS± 6.8	
Caries	12	(50%)	11	(48%)	pNS
macro	1	(8.3%)	2	(18%)	
amelodontarias	11	(91.7%)	9	(82%)	
Prótesis:	15	(60%)	18	(78%)	
Adaptada	11/15	(73%)	16/18	(89%)	
PLACA:	19	(76%)	19	(83%)	
áreas	10	(53%)	12	(63%)	
generalizada	9	(47%)	7	(37%)	
CÁLCULO	17	(68%)	12	(52%)	
áreas	16	(94%)	11	(92%)	
generalizado	1	(6%)	1	(8%)	
TRAUMA LOCAL:	15	(60%)	20	(87%)	p=0.7
Trat. Odontológico	18	(72%)	22	(96%)	
Descontaminación	9		8		
Detartraje	4		4		
Otros	8		9		
INDICE Løe	1.54	DS±0.62	1.63	DS± 0.84	
INDICE O' Leary	77.66	DS±22.7	83.54	DS± 22.5	

Tabla 7: Índices odontológicos

Se realizó comparación de los análisis de laboratorio bioquímico de rutina en los pacientes al inicio y al final del tratamiento. Los valores hallados se expresan en la tabla siguiente.

Liquen bucal	Casos n =:25	Controles n = :23
Inicio		
Hematocrito promedio	39.8 DS±8.9	41.9 DS±2.88
Anemia	2 (8%)	-
Leucopenia	-	-
Leucocitosis	-	-
Plaquetopenia	-	-
VSG promedio	16.6 DS±9.81	14.7 DS±10.7
VSG: >50 mm. 1º hora	-	-
Glucemia anormal	2 (8%)	-
Colesterol Total promedio	210.5 DS±48.33	218.68 DS±57.6
Colesterol Total anormal	9 (36%)	13 (56%)
LDL-C promedio	134 DS±45.3	137.6 DS±61.5
LDL-C anormal	4 (16%)	6 (26%)
HDL-C promedio	54.1 DS±14.1	56.8 DS±25.3
HDL-C anormal	3 (12%)	2 (8.7%)
Trigliceridemia promedio	136.43 DS±67.9	150.4 DS±80.9
Trigliceridemia anormal	8 (32%)	6 (26%)
Uricemia promedio	37.11 DS±15.7	32.2 DS±23.8
Creatininemia promedio	8 DS±1.5	8.15 DS±1.28
Liquen bucal	Casos n =:20	Controles n =:18
Final		
Hematocrito promedio	40.9 DS±2.1	41.3 DS±1.87
Anemia	-	-
Leucopenia	-	-
Leucocitosis	-	-
Plaquetopenia	-	-
VSG promedio	15 DS±7.07	10.7 DS±9.06
VSG: >50 mm 1º hora	-	-
Glucemia anormal	-	-
Colesterol Total promedio	224.4 DS±59.8	212.45 DS±60.9
Colesterol Total anormal	10 (50%)	10 (56%)
LDL-C promedio	151.06 DS±52.7	147.88 (DS±45.5)
LDL-C anormal	6 (30%)	9 (50%)
HDL-C promedio	51.6 DS±14.1	56.8 DS±25.3
HDL-C anormal	-	-
Trigliceridemia promedio	118.8 DS±67.9	150.4 DS±80.9
Trigliceridemia anormal	2 (10%)	1 (11%)
Uricemia promedio	39.3 DS±10.8	32.2 DS±23.8
Creatininemia promedio	7.4 DS±3.04	8.15 DS±1.28

Tabla 8: Exámenes complementarios

Tipos clínicos de liquen bucal y reacciones liquenoides.

Todos los tipos clínicos de liquen bucal fueron incorporados a este trabajo.

Se realizó biopsia en 45 pacientes. En dos de estos pacientes el resultado fue inespecífico y en el resto confirmó el diagnóstico.

No se hizo subdivisión con reacciones liquenoides considerando que:

Desde el punto de vista etiopatogénico 71% de los pacientes ingerían 3 o más fármacos, 53,85% tenían restauraciones con amalgamas, y en dos pacientes se encontró el antecedente de virus de la hepatitis B.

Desde el examen clínico estomatológico, aunque existen casos paradigmáticos como en la reacción injerto versus huésped donde las lesiones son simétricas, se considera en general que las reacciones liquenoides bucales son unilaterales y corrientemente en contacto con amalgamas. Respecto a las lesiones clínicamente liquenoides, unilaterales, tuvimos tres pacientes con lesión única erosiva y seis pacientes con lesión no erosiva única (n=9).

Tres de estos nueve pacientes tuvieron otros episodios con lesiones múltiples. Una paciente con lesión bucal erosiva única tenía afectación genital con confirmación histopatológica de liquen y dos con afectación única erosiva bucal, tenían diagnóstico anatomopatológico de liquen. Resulta así que de los nueve pacientes con lesiones bucales únicas sólo dos quedarían como reacción liquenoide única bucal.

Para lograr una comparación más precisa, se los subdividió en formas erosivas y no erosivas. En el grupo de pacientes con formas erosivas se incluyó al liquen bucal erosivo y a la forma ampollar y la categoría liquen bucal no erosivo, comprende: liquen reticular, liquen queratósico o en placa, atrófico y pigmentario.

Presencia de amalgamas en pacientes con LPB

Como se considera actualmente a las amalgamas un probable alérgeno de contacto involucrado en la etiopatogenia del LPB, se trató de determinar si la existencia o no de amalgamas y el número de estas restauraciones presentes, influía en las formas de presentación clínica y si había diferencia con significación estadística en el

momento de la mejoría respecto al inicio de los tratamientos. Para esto evaluó el número de amalgamas presentes en los pacientes incluyendo todas las formas clínicas de LPB. (Tabla 9)

LIQUEN BUCAL (N=52)		
FORMAS CLÍNICAS	EROSIVOS (n=38)	NO EROSIVOS (n=14)
NO TIENEN AMALGAMAS	16	8
PRESENCIA DE AMALGAMAS	22	6

Tabla 9: Amalgamas presentes en pacientes con liquen bucal

Presencia de amalgamas en pacientes con liquen erosivo

Se evaluó el número de amalgamas presentes al inicio del tratamiento y en el momento de la mejoría clínica.

CASOS EROSIVOS	NÚMERO DE AMALGAMAS		CONTROLES EROSIVOS	NÚMERO DE AMALGAMAS	
	PACIENTES	INICIO		MEJORÍA	PACIENTES
1	0	0	1	3	3
2	2	2	2	1	0
3	0	0	3	0	0
4	1	1	4	3	3
5	0	0	5	3	3
6	3	3	6	0	0
7	2	2	7	5	5
8	4	4	8	2	0
9	2	2	9	1	1
10	0	0	10	3	3
11	0	0	11	0	0
12	0	0	12	0	0
13	3	3	13	0	0
14	0	0	14	5	5
15	0	0	15	4	4
16	0	0	16	2	2
17	2	2	17	2	2
			18	2	2
			19	0	0
			20	0	0
			21	1	0

Tabla 10: Número de amalgamas presentes en pacientes con liquen erosivo.

Presencia de amalgamas en pacientes con liquen no erosivo

Se evaluó al inicio del tratamiento y en el momento de la mejoría clínica

CASOS NO EROSIVOS	NÚMERO DE AMALGAMAS	
	PACIENTES	INICIO MEJORIA
1	3	3
2	6	6
3	0	0
4	0	0
5	0	0
6	3	3
7	0	0
8	1	1
9	0	0

CONTROLES NO EROSIVOS	NÚMERO DE AMALGAMAS	
	PACIENTES	INICIO MEJORIA
1	1	1
2	0	0
3	1	0
4	0	0
5	0	0

Tabla 11: Número de amalgamas presentes en pacientes con liquen no erosivo.

Aunque se indicó la extracción de las amalgamas sólo cuatro pacientes se habían realizado las mismas para el momento de la mejoría clínica.

En el total de los pacientes con liquen, de todos los tipos, no hubo diferencia significativa con el test exacto de Fisher entre los pacientes que tenían amalgamas y los que no tenían amalgamas ($p=0,36$).

Analizando la presencia de amalgamas, el test de Mann-Whitney no dio diferencia significativa entre las formas erosivas y no erosivas ($p=0,32$).

El número de amalgamas presentes en los pacientes con **liquen erosivo**, no demostró diferencia con significancia estadística al inicio de los tratamientos entre los pacientes del grupo casos y del grupo control ($p=0,19$). En el grupo casos el número de amalgamas presentes al inicio y en la mejoría fue el mismo, no hubo ninguna modificación. Del grupo controles con liquen erosivo en tres pacientes se habían retirado las amalgamas para el momento de la mejoría, no hubo diferencia significativa tampoco en este grupo ($p=0,10$).

Tampoco hubo diferencias respecto al número de amalgamas en los pacientes con **liquen no erosivo** entre los casos y los controles al inicio ($p=0,19$). En los pacientes del grupo casos el número de amalgamas no se modificó entre el inicio del tratamiento y el control de mejoría, en los controles en un solo paciente se había

extraído la amalgama para el momento de la mejoría y esto no resultó en diferencia con significancia estadística ($p=0,37$).

La diferencia de medias en los días hasta alcanzar la mejoría no tuvo significancia estadística al comparar a los pacientes que tenían amalgamas al inicio con quienes no las tenían ($p=0,63$) ni en quienes se realizaron la extracción de las amalgamas con los que permanecieron con las mismas restauraciones que al inicio ($p=0,18$).

Presencia de lesiones en pacientes con liquen erosivo

Se analizó el número y tipo de lesiones presentes y la localización de las mismas. Estos datos se resumen en la siguiente tabla.

LIQUEN EROSIVO	Casos		Controles	
	n = 17	100%	n = 21	100%
LESIONES				
Múltiples	16	94,1%	19	90,5%
Erosión	17	100%	21	100%
N° de lesiones	2.93	DS: 1,28	2,66	DS: 1,15
Placa	6	37,5%	10	52,5%
Eritema	3	18,8%	7	36,8%
Indentaciones	0		1	5,26%
Otras	0		6	31,57%
LOCALIZACIÓN				
Mucosa Yugal Der.	12	70,6%	12	63,15%
Mucosa Yugal Izq.	11	64,7%	15	57,1%
Labio superior	2	11,8%	7	71,4%
Labio inferior	4	23,5%	7	33,3%
Lengua Dorso	2	11,8%	4	19%
Lengua Vientre	3	17,6%	1	4,8%
Lengua lateral Der.	4	23,5%	6	28,6%
Lengua lateral Izq.	3	17,6%	8	38,1%
Lengua Punta	0	0	1	4,8%
Piso de la boca	0		0	
Paladar	3	17,6%	4	19%
Encías superior	4	23,5%	2	9,5%
Encías inferior	5	29,4	2	9,5%

Tabla 12: Características de las lesiones, tipo y localización en pacientes con liquen erosivo.

Al analizar el número de lesiones entre los pacientes con liquen erosivo del grupo casos versus los pacientes del grupo control, el test de Student con corrección de Welch no dio diferencia significativa entre los grupos ($p=0,50$).

Presencia de lesiones en pacientes con liquen no erosivo

Se analizó el número y tipo de lesiones presentes y la localización de las mismas. Estos datos se resumen en la siguiente tabla.

<u>LIQUEN NO EROSIVO</u>	Casos		Controles	
LESIONES	n=9	100%	n=5	100%
Múltiples	6	66,6%	2	40%
Erosión	0	0	0	0
Nº de lesiones	2,66	DS: 1,52	2,5	DS:0,70
Placa	5	55,5%	3	60%
Eritema	4	44,4%	1	20%
Indentaciones	0	0	0	0
Otras	2	22,2%	2	40%
LOCALIZACIÓN				
Mucosa Yugal Derecha	6	66,6%	4	80%
Mucosa Yugal Izquierda	5	55,5%	4	80%
Labio superior	0	0	0	
Labio inferior	1	11,1%	0	
Lengua Dorso	2	22,2%	2	40%
Lengua Vientre	1	11,1%	0	20%
Lengua lateral Derecha	1	11,1%	0	20%
Lengua lateral Izquierda	1	11,1%	0	20%
Lengua Punta	0	0	0	
Piso de la boca	0	0	0	
Paladar	0	0	0	
Encías superior	2	22,2%	0	40%
Encías inferior	1	11,1%	0	20%

Tabla 13: Características de las lesiones, tipo y localización en pacientes con liquen no erosivo.

Al analizar el número de lesiones entre los pacientes con liquen no erosivo del grupo casos versus los pacientes del grupo control, el test de Student con corrección de Welch no dio diferencia significativa entre los grupos ($p=0,79$).

Evaluación del compromiso total de la cavidad bucal (Scores).

Considerando que la mayoría de los pacientes con liquen tienen múltiples lesiones, se evaluó el compromiso total de la cavidad bucal en el momento del inicio del tratamiento y en los controles evolutivos. (Figuras 5 a 16, Tablas: 14, 15, 16 y 17).



Figuras nº 5, 6 y 7: paciente BA, Lesiones en múltiples localizaciones, erosión en mucosa yugal derecha, placa en borde izquierdo de lengua y erosión en mucosa yugal izquierda. La suma del puntaje otorgado a cada lesión da la cifra del score de compromiso.



Figuras nº 8, 9 y 10: paciente BA en el alta. Se observa placa leve, sin erosión en ambas mucosas yugales y borde de lengua sin lesión.



Figura nº 11, 12 y 13: paciente BL en el inicio del tratamiento. Presencia de erosiones en ambos bordes de lengua y placa en cara dorsal de la misma.



Figura nº 14, 15 y 16 paciente BL en el control de mejoría. Se han curado las erosiones y persiste la placa en dorso de lengua.

Scores en pacientes con liquen erosivo

Se compararon los scores de inicio en estos pacientes entre el grupo casos y el grupo control, no encontrándose diferencia significativa con el test de t con corrección de Welch ($p=0,79$)

LIQUEN EROSIVO: CASOS, PUNTUACIÓN DE COMPROMISO TOTAL				
PAC.	INICIO	VISITA 2	VISITA 3	VISITA 4
1	22	19	15	14
2	20	18	16	16
3	21	20		
4	20	20	20	20
5	18	18	15	17
6	22	21	23	19
7	22	17	19	18
8	22	19	19	19
9	19	17	21	20
10	18	18	19	17
11	22	20	19	
12	25	21	20	15
13	21	24	21	24
14	21	20	19	19
15	18	17	17	17
16	22	23	20	20
17	23	16	16	17

Tabla 14: Puntuación del compromiso total de la cavidad bucal en pacientes con liquen erosivo. CASOS.

Los pacientes con liquen erosivo del grupo tratado con antocianinas (CASOS) mostraron diferencia significativa en el análisis de la varianza (ANOVA) al ser evaluadas las lesiones al inicio y en las tres consultas evolutivas posteriores (Figura nº 5) ($p=0,0039$). También fue significativa la diferencia al analizar los scores de inicio, pareados con los del momento de la mejoría (test de t pareado, $p=0,01$).

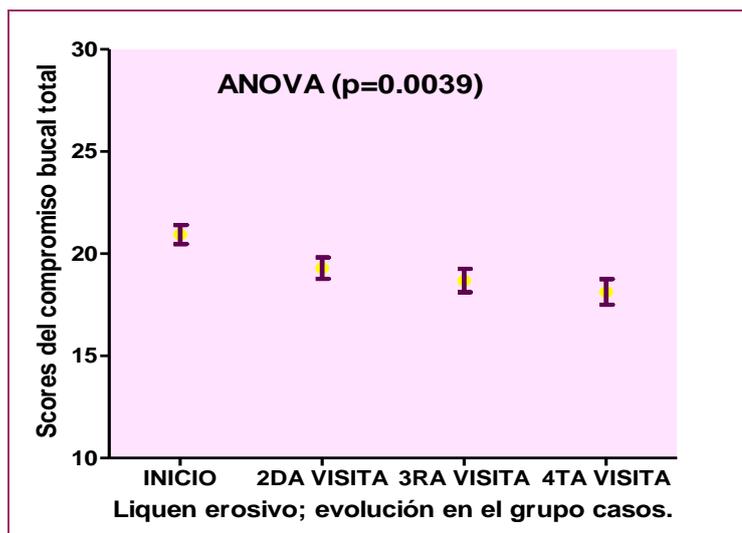


Figura nº 17: Puntuación del compromiso total de la cavidad bucal en la evolución del grupo casos de pacientes con liquen erosivo.

LIQUEN EROSIVO: CONTROLES, PUNTUACIÓN DE COMPROMISO TOTAL				
PACIENTES	INICIO	VISITA 2	VISITA 3	VISITA 4
1	18	17		
2	19	18	17	
3	16	15	15	15
4	27	21	26	22
5	18	16		
6	23	18		
7	24	23	17	16
8	19	18		
9	23	21	18	
10	22	22	20	17
11	23	17	19	18
12	23	21		
13	19	17		
14	20	21		21
15	20	19		
16	26	21		22
17	17	16	18	18
18	25	26		
19	17	16		
20	16	15	15	
21	20	20	28	

Tabla 15: Puntuación del compromiso total de la cavidad bucal en pacientes con liquen erosivo. CONTROLES.

Los pacientes con liquen erosivo del grupo control no mostraron diferencia significativa entre la evaluación de inicio y las evoluciones de sus puntuaciones de compromiso total de la cavidad bucal (Figura nº 6) (ANOVA, $p=0,27$). Al evaluar los scores entre el inicio y el momento del control de mejoría, se encontró diferencia significativa (test de t pareado, $p= 0,0008$).

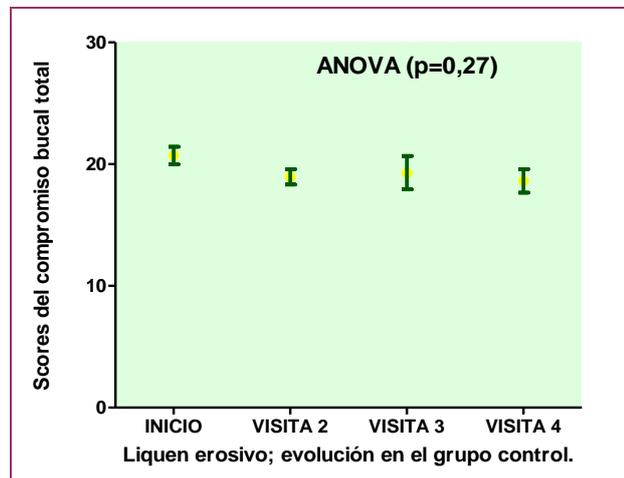


Figura nº 18: Puntuación del compromiso total de la cavidad bucal en la evolución del grupo control de pacientes con liquen erosivo

Scores en pacientes con liquen no erosivo.

Al comparar los scores de inicio en estos pacientes entre los grupos casos y controles, no hubo diferencia significativa con el test de t con corrección de Welch ($p= 0,75$)

LIQUEN NO EROSIVO: SCORES DE COMPROMISO TOTAL				
CASOS	INICIO	VISITA 2	VISITA 3	VISITA 4
1	22	21	19	17
2	15	23	24	
3	19	20	19	18
4	17	17	18	
5	18	16	17	15
6	20	15	19	20
7	19	19	18	
8	19	19	17	17
9	17	16		

Tabla 16: Puntuación del compromiso total de la cavidad bucal en pacientes con liquen no erosivo. CASOS

SCORES DE COMPROMISO TOTAL. NO EROSIVOS				
CONTROLES	INICIO	VISITA 2	VISITA 3	VISITA 4
1	22	21		
2	18	18	17	18
3	18	19	16	17
4	17	17	17	17
5	19	18	16	16

Tabla 17: Puntuación del compromiso total de la cavidad bucal en pacientes con liquen no erosivo. CONTROLES.

En los pacientes con liquen no erosivos el análisis del grado de afectación total de la cavidad bucal no dio diferencias significativas al comparar con ANOVA el score al inicio y en las consultas sucesivas tanto para los pacientes del grupo casos ($p=0,71$) como para los pacientes del grupo control ($p=0,06$). Al analizar los scores del momento del inicio pareados con los de la mejoría (test de t pareado), tampoco se encontró diferencia significativa para los casos ($p=0,99$) ni para los controles ($p=0,62$).

Evaluación del dolor

En el **control inicial**, la magnitud del dolor fue cuantificada a través de una escala analógica verbal de dolor. Se realizó un **control de mejoría**, en todos los grupos. (Tablas 18 y 19).

Dolor en pacientes con liquen erosivo

Se interrogó a los pacientes sobre el dolor, que fue graduado de 0 a 10, y se comparó luego la cifra del inicio con la de la mejoría con pruebas estadísticas. Estos datos se expresan en las siguientes tablas.

LIQUEN EROSIVO DOLOR					
CASOS			CONTROLES		
PAC	INICIO	MEJORÍA	PAC	INICIO	MEJORÍA
1	8	0	1	8	1
2	4	0	2	5	0
3	10	3	3	2	2
4	8	0	4	7	4
5	6	0	5	0	0
6	7	0	6	1	0
7	8	1	7	7	1
8	7	4	8	9	0
9	10	7	9	8	7
10	2	2	10	7	0
11	9	0	11	8	0
12	3	0	12	7	5
13	8	3	13	3	2
14	5	3	14	7	10
15	8	4	15	7	4
16	3	2	16	8	6
17	5	0	17	7	0
			18	8	10
			19	9	0
			20	5	0
			21	0	0

Tabla 18: Grado de dolor en pacientes con liquen erosivo al inicio y en el control de mejoría. CASOS Y CONTROLES.

El test de Kruskal Wallis de comparaciones múltiples, no mostró diferencias significativas en el grado de dolor entre los grupos al inicio ni en el momento de la mejoría entre ambos tratamientos (Figura nº 19). Al realizar análisis pareado de los datos para comparar el dolor al inicio y en el momento de la mejoría, se encontró diferencia significativa, tanto en los casos (test de t pareado $p=0,0001$) como en los controles (test de Wilcoxon $p=0,0007$).

Post test de Dunn de comparaciones múltiples

Comparación	Diferencia	Valor de p
Casos inicio vs. Control inicio	4.172	pNS P>0.05
Casos inicio vs. Casos mejoría	31.559 ***	P<0.001
Control inicio vs. Control mejoría	22.310 **	P<0.01
Casos mejoría vs. Control mejoría	-5.077	pNS P>0.05
Casos inicio vs. Control mejoría	26.482	** P<0.01
Casos mejoría vs. Control inicio	-27.387	*** P<0.001

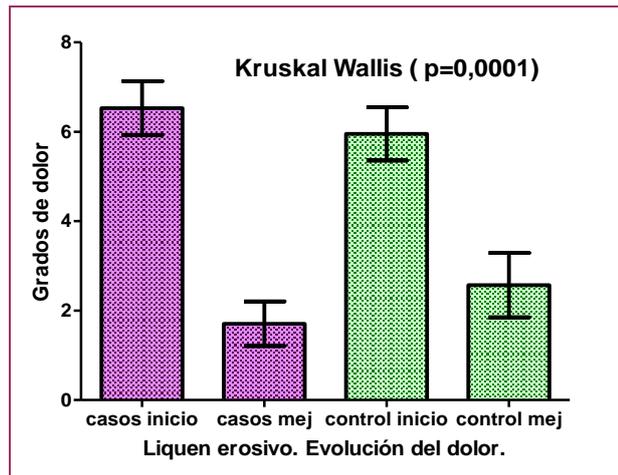


Figura nº 19: Comparación del dolor en los pacientes con liquen erosivo.

Dolor en pacientes con liquen no erosivo

En este grupo de pacientes el síntoma referido puede ser dolor o ardor. Ambos fueron graduados con la escala analógica de 0 a 10.

LIQUEN NO EROSIVO DOLOR					
CASOS			CONTROLES		
PAC	INICIO	MEJORIA	PAC	INICIO	MEJORIA
1	6	0	1	9	9
2	0	0	2	3	2
3	5	0	3	0	0
4	0	0	4	1	0
5	2	0	5	8	1
6	0	1			
7	2	0			
8	3	0			
9	7	0			

Tabla 19: Grado de dolor en pacientes con liquen no erosivo al inicio y en el control de mejoría. CASOS Y CONTROLES.

No se encontró diferencia significativa en el grado de dolor al inicio entre los pacientes del grupo casos versus el grupo control ($p=0,51$).

Al analizar el grado de dolor en los pacientes del grupo casos con liquen no erosivo, (Figura nº 20) la media de las diferencias entre los grupos: CASOS INICIO y CASOS MEJORÍA, a dos colas da diferencia significativa ($p=0.03$).

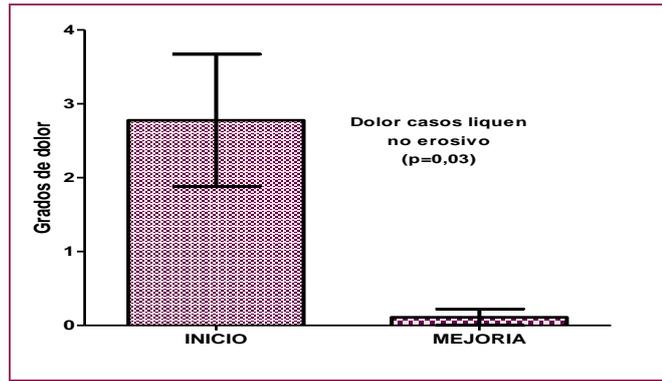


Figura nº 20: Comparación del grado de dolor en los pacientes del grupo casos con liquen no erosivo.

En la comparación del grado de dolor en los pacientes con liquen no erosivo, del grupo control, entre el inicio y la mejoría, (Figura nº 21) no dio diferencia significativa ($p=0,24$)

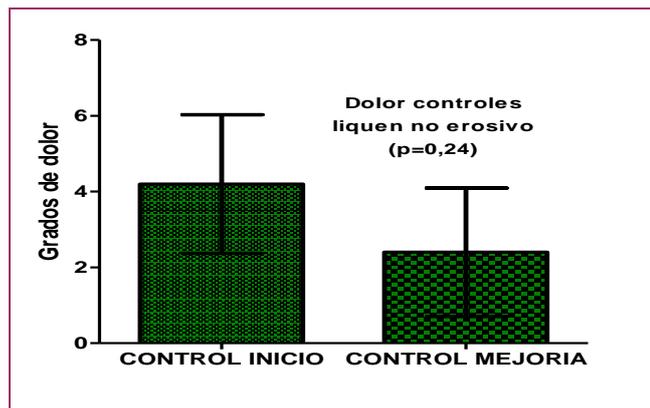


Figura nº 21: Comparación del grado de dolor en los pacientes del grupo control con liquen no erosivo,

Tiempo hasta alcanzar la mejoría. Número de días

Pacientes con liquen erosivo

En los pacientes del grupo casos ($n=17$), con liquen erosivo la media para alcanzar la mejoría fue de 49 días ($DS\pm 64,39$). En el grupo control ($n=21$) la media para alcanzar la mejoría fue de 45 días ($DS\pm 36,10$). No hubo diferencia significativa entre los dos grupos ($p=0,82$). (Tabla 20).

EROSIVOS NÚMERO DE DÍAS HASTA MEJORÍA			
CASOS	Nº DÍAS	CONTROLES	Nº DÍAS
1	29	1	37
2	14	2	72
3	28	3	25
4	72	4	12
5	14	5	25
6	270	6	110
7	34	7	14
8	13	8	49
9	10	9	14
10	30	10	14
11	41	11	24
12	19	12	14
13	59	13	17
14	134	14	111
15	31	15	35
16	28	16	59
17	14	17	14
		18	126
		19	83
		20	37
		21	65

Tabla 20: Número de días hasta alcanzar la mejoría en pacientes con liquen erosivo.

Pacientes con liquen no erosivo

NO EROSIVOS NÚMERO DE DÍAS HASTA MEJORÍA			
CASOS	Nº DÍAS	CONTROLES	Nº DÍAS
1	129	1	45
2	29	2	42
3	28	3	45
4	21	4	35
5	27	5	17
6	37		
7	450		
8	98		
9	23		

Tabla 21: Número de días hasta alcanzar la mejoría en pacientes con liquen no erosivo

Respecto al liquen no erosivo, la media hasta alcanzar la mejoría, para el grupo casos (n=9) fue de 93 días (DS±139). Para los pacientes del grupo control la media

fue de 36 días (DS±11,79). No se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos ($p=0,38$). (Tabla 21).

Evolución de los pacientes con liquen bucal.

Los pacientes con liquen bucal concurren a controles mensuales y se realizó un control final. Los datos se resumen en la tabla 22.

Control final en pacientes con liquen erosivo.

Se realizó control final a 27 pacientes con liquen erosivo. 14 del grupo casos y 13 del grupo control.

No hubo diferencia significativa en el número de días hasta el control final entre ambos grupos, con el test de Student con corrección de Welch ($p=0,53$). Con el test de Fisher no hubo diferencia significativa en cuanto a la persistencia de las lesiones estudiadas ($p=0,59$).

Tanto el número de lesiones curadas como el número de lesiones nuevas no resultó en diferencia significativa entre ambos grupos. Test exacto de Fisher ($p=1$).

El empeoramiento de las lesiones estudiadas tampoco tuvo diferencia significativa entre los grupos. Test exacto de Fisher ($p=0,32$).

Respecto a la mejoría del dolor no hubo diferencias significativas entre los grupos ($p=0,44$) y en la ausencia del dolor en el control final no hubo diferencia significativa tampoco. Test exacto de Fisher ($p=0,70$).

Se consideró que la respuesta fue buena en 12 de 14 (85%) pacientes con liquen erosivo del grupo casos y en 9 de 13 (69%) del grupo control ($p=0,64$). La respuesta fue mala en el 14% del grupo casos y en el 23% del grupo control ($p=0,38$).

Se realizó tratamiento nuevo en 28,6% de los pacientes del grupo casos y en 53,8% de los pacientes del grupo control ($p=0,25$).

El tiempo de tratamiento no demostró diferencias significativas al comparar ambos grupos ($p=0,53$).

Control final en pacientes con liquen no erosivo.

No se encontraron diferencias significativas en los días transcurridos desde la primera consulta hasta el control final, con el test de Student con corrección de Welch ($p=0,16$). Lo mismo aconteció cuando se compararon los tiempos de tratamiento ($p=0,37$).

En la mejoría de las lesiones no hubo diferencia significativa entre los grupos, como tampoco la hubo en la mejoría de los síntomas ($p=1.00$).

Respecto a la implementación de nuevos tratamientos, no se encontraron diferencias significativas ($p=0.42$).

Scores: No se encontraron diferencias significativas entre el grupo casos y el control, tanto para las formas erosivas ($p=0.33$), como para las no erosivas ($p=0.52$).

LIQUEN BUCAL. Control final				
LPB n= 34	CASOS n= 18		CONTROLES n=16	
	Erosivos 14	No Erosivos 4	Erosivos 13	No Erosivos 3
Días 1º consulta	164 (DS±70.8)	165.5 (DS±62.9)	145.7 (DS±77.9)	97 (DS±45)
Características lesiones				
Lesión previa	11 (78.6%)	3 (75%)	12 (92.3%)	3 (100%)
Lesión mejor	6 (42.9%)	2 (50%)	8 (61.5%)	1 (33.3%)
Igual	-	-	-	-
Peor	1 (7.1%)	-	3 (23.1%)	2 (66.6%)
curada	5 (35.7%)	2 (50%)	5 (38.5%)	-
Nuevas lesiones	5 (35.7%)	1 (25%)	5 (38.5%)	2 (66.6%)
Síntomas				
Mejor	5 (35,7%)	3 (75%)	7 (53.8%)	2(66.6%)
Ausente	7 (50%)	3 (75%)	5 (38.5%)	1 (33%)
Respuesta				
buena	12 (85%)	3 (75%)	9 (69%)	1(33%)
regular	-	1	1	1 (33%)
Mala	2 (14%)	-	3 (23%)	1(33%)
Nuevo tratamiento	4 (28.6%)	2 (50%)	7(53.8%)	3 (100%)
Alta	9 (64.3%)	3 (75%)	8(61,5%)	1(33%)
Nº control x (DS)	4.4 (DS±2.01)	6.67 (DS±3.2)	3.3 (DS±1.43)	5 (DS±1.73)
Tiempo de tratamiento	145.4 (DS±78.3)	125.3 (DS±82.5)	125.9 (DS±81.7)	171.6 (DS±27.5)
Scores	17.3(DS±1.97) (n=13)	16.5(n=DS±0.7) (n=2)	20.2(DS±2,06) (n=4)	17(DS±1) (n=4)

Tabla 22: Pacientes con liquen, control final de la evolución.

Recaída en pacientes con LPB.

Hubo recaída en el 30% del grupo casos y en el 30% del grupo control. En todos los pacientes la principal causa estuvo relacionada con la falta de higiene oral, complicaciones (micosis, la más frecuente) y la persistencia de trauma local y hábito tabáquico. La distribución según los tipos clínicos y grupos se observa en la tabla 23.

	CASOS n=8 (30 %)		CONTROLES n=8 (30 %)	
LIQUEN n=52	Erosivos	No Erosivos	Erosivos	No Erosivos
RECAIDA n=16 (30%)	6/17 (35%)	2/9 (22%)	6/21 (28%)	2/5 (40%)

Tabla 23: Recaída en pacientes con LPB.

Recaídas de pacientes con liquen erosivo.

Se evaluó con el test exacto de Fisher, a dos colas, y no se encontró diferencia significativa entre casos y controles ($p= 0.73$).

Recaída en pacientes con liquen no erosivo.

Se evaluó con el test exacto de Fisher, a dos colas, y no se encontró diferencia significativa ($p= 0.58$).

Determinación de AST y valoración del daño oxidativo a través de la MDA en pacientes con liquen bucal

En este estudio se compararon los niveles séricos de AST (mmol/L) y MDA (mmol/L) en los pacientes con liquen bucal y en controles normales.

Se realizó análisis comparativo de las determinaciones de AST y MDA, antes y después del tratamiento en pacientes con liquen erosivo y no erosivo en los grupos casos y en los grupos controles. (Tablas 24 y 25).

Pacientes con liquen erosivo.

	Casos n:14	Controles n:9	Sanos n:16	
Inicial				
AST	1,50 DS±0,42	1,87 DS±0,47	1,18 DS±0,22	
MDA	1,38 DS±0,60	2,12 DS±1,32	1,81 DS±0,40	
	Grupo Casos n:14	Grupo Controles n:9		
Final				
AST	1,46 DS± 0,42	1,81 DS±0,54		
MDA	1,18 DS±0,87	1,98 DS±1,44		

Tabla 24: Liquen erosivo. Determinaciones de AST y MDA al inicio y final de los tratamientos. Medias y desviaciones standard.

No se encontraron diferencias significativas en las determinaciones de AST comparando con ANOVA a los cuatro grupos de pacientes: casos y controles al inicio y al final del tratamiento ($p=0,08$). Para las determinaciones de MDA sérico, con el mismo test, tampoco hubo diferencia ($p=0,11$). Tampoco se encontraron diferencias significativas al comparar a los grupos en estudio con muestras extraídas de controles sanos.

Pacientes con liquen no erosivo.

	Casos n: 5	Controles n: 4	Sanos n:16	
Inicial				
AST	1,60 DS±0,83	1,70 DS±0,58	1,18 DS±0,22	
MDA n6	1,40 DS±0,85	1,95 DS±1,36	1,81 DS±0,40	
	Grupo casos n:5	Grupo controles n:4		
Final				
AST	1,78DS± 0,49	1,50 DS± 0,48		
MDA n6	1,51 DS± 0,39	1,91 DS±1,06		

Tabla 25: Liquen no erosivo. Determinaciones de AST y MDA al inicio y final de los tratamientos. Medias y desviaciones standard.

No se encontraron diferencias significativas en las determinaciones de AST comparando con ANOVA ($p=0,91$). Para las determinaciones de MDA sérico, con

el mismo test, tampoco hubo diferencia ($p=0,72$). Tampoco se hallaron diferencias significativas al comparar a los grupos en estudio con muestras extraídas de controles sanos.

Con esto se deduce que en nuestros pacientes con líquen tanto erosivo como no erosivo, no hay diferencias significativas en sus valores de AST y MDA cuando se los compara con controles sanos. El tratamiento con antocianinas no produce alteración de los niveles séricos de AST ni de MDA, al igual que el tratamiento con CP local para el LPB tanto en las formas erosivas como en las no erosivas.

PACIENTES CON LIQUEN BUCAL. ESTUDIO MORFOMÉTRICO.

Se realizó toma fotográfica de las lesiones bucales para efectuar luego un estudio morfométrico en un analizador de imágenes (Image Pro plus), comparando las imágenes iniciales con las del control de mejoría, de los pacientes con líquen erosivo y no erosivo, tanto en los grupos experimentales con antocianina y también en los de los grupos de pacientes controles que reciben CP.

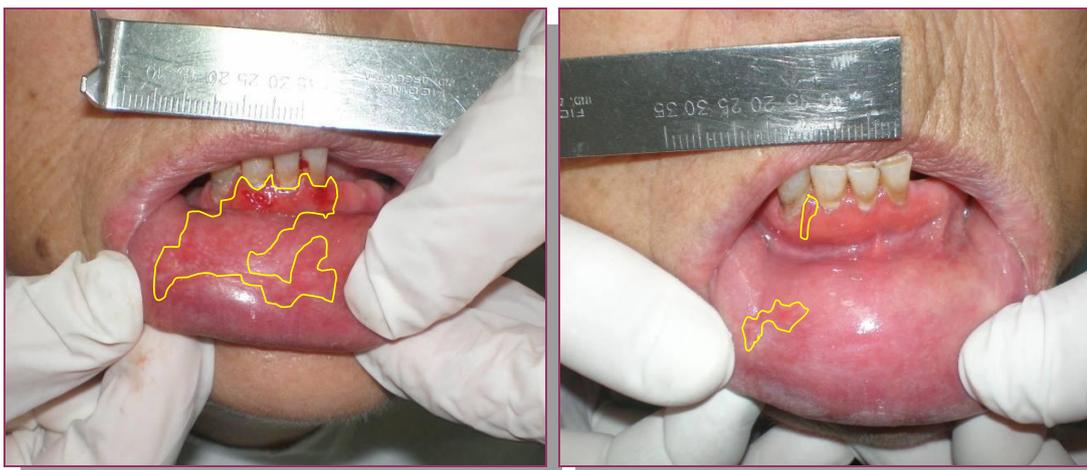
Se incluyeron 38 pacientes con líquen bucal erosivo: 17 en el grupo con tratamiento experimental y 21 pacientes en el grupo control.

En el grupo de pacientes con líquen bucal no erosivo se incluyeron 14 pacientes: 9 en el grupo con tratamiento experimental y 5 pacientes en el grupo control.

Se estudiaron en total 52 pacientes con líquen bucal.

Morfometría en pacientes con líquen erosivo.

En las Figuras nº 22 y 23, con las lesiones de la paciente nº 1, con líquen erosivo del grupo casos, se ejemplifican las tomas fotográficas y la selección de áreas medidas en este grupo de pacientes. Los datos obtenidos en las mediciones se ordenaron según los grupos y se observan en las tablas: 26, 27, 28 y 29.



Figuras nº 22 y 23: Fotos de áreas afectadas medidas. Paciente 1 del grupo liquen erosivo con tratamiento experimental. Fecha de inicio: 18-12-06 y evolución: 16-01-07.

La comparación de las áreas medidas al inicio en el grupo caso versus controles con el test de Mann-Whitney, no dio diferencia significativa ($p=0.49$).

LIQUEN EROSIVO ÁREAS MEDIDAS. GRUPO CASOS.					
CASOS	FECHA INICIO	ÁREA INICIO	FECHA MEJORÍA	ÁREA MEJORÍA	PORCENTAJE DE MEJORIA
1	18/12/06	1,7679654	16/01/07	0,1696849	90,40%
2	31/08/09	0,1419381	14/09/09	0	100,00%
3	23/11/09	2,9071125	21/12/09	0,5917384	79,65%
4	23/02/11	16,84899	6/05/11	4,256694	74,74%
5	19/08/10	3,855381	2/09/10	0	100,00%
6	2/08/10	8,48934	9/05/11	1,098746	87,06%
7	6/09/07	1,8137412	11/10/07	0,3939587	78,28%
8	6/02/07	0,2561452	19/02/07	0,0198277	92,26%
9	26/10/09	1,1225	5/11/09	0,1271779	88,67%
10	13/11/08	26,69657	11/12/08	12,45422	53,35%
11	29/07/09	3,685324	8/09/09	0,9290665	74,79%
12	24/09/09	7,862044	13/10/09	1,232135	84,33%
13	22/12/08	0,2027559	19/02/09	0,091792	54,73%
14	1/09/08	0,4868276	22/01/09	0,349132	28,28%
15	21/08/08	2,693908	11/09/08	0	100,00%
16	9/08/07	1,927768	6/09/07	0,0530158	97,25%
17	26/04/07	2,221976	10/05/07	0,2705205	87,83%

Tabla 26: Superficies de las áreas afectadas y porcentaje de mejoría en los pacientes con liquen erosivo del grupo casos.

Análisis estadístico: analizando la medición de área afectada al inicio versus el área afectada en el control clínico de mejoría, para el grupo casos de liquen erosivo,

con el test de Wilcoxon para muestras pareadas, se encontró el valor de $p < 0.0003$, considerado extremadamente significativo. (Figura nº 24).

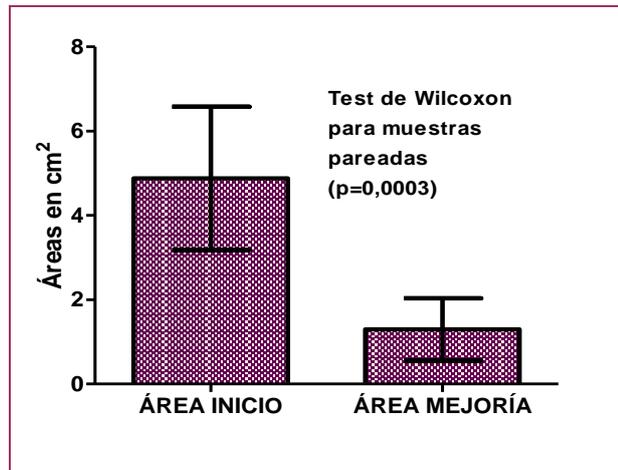


Figura nº 24: Liquen erosivo áreas medidas en el grupo casos al inicio y mejoría. Test de Wilcoxon para muestras pareadas.

LIQUEN EROSIVO ÁREAS MEDIDAS. GRUPO CONTROL					
CONTROLES	FECHA INICIO	ÁREA INICIO	FECHA MEJORÍA	ÁREA MEJORÍA	PORCENTAJE DE MEJORÍA
1	11/11/08	1,027277	18/12/08	0,1621009	84,22%
2	19/11/08	12,57216	30/01/09	3,813805	69,66%
3	5/03/07	0,6828904	30/03/07	0,3648334	46,58%
4	8/04/09	0,3108621	20/04/09	0,5576809	-79,40%
5	3/03/11	0,1724597	28/03/11	0	100,00%
6	28/01/10	0,1577957	17/06/10	0	100,00%
7	5/10/09	12,73963	19/10/09	1,617654	87,30%
8	22/07/10	0,2008812	9/09/10	0,1296833	35,44%
9	14/10/10	15,27682	29/10/10	15,95812	-4,46%
10	21/01/11	6,665225	4/02/11	0	100,00%
11	13/08/07	0,4559819	6/09/07	0,0212103	95,35%
12	4/12/08	11,25934	18/12/08	10,340531	8,16%
13	29/10/07	2,523462	15/11/07	0,8117248	67,83%
14	15/11/07	2,22264	6/03/08	3,569924	-60,62%
15	13/03/08	0,9870581	17/04/08	0,2821496	71,42%
16	19/11/07	1,346657	17/01/08	1,30708	2,94%
17	20/04/09	8,0009028	4/05/09	1,2386076	84,52%
18	11/10/07	2,854775	14/02/08	1,087392	61,91%
19	22/12/09	0,5137617	15/03/10	0,3113988	39,39%
20	15/04/08	1,564966	21/05/08	0,9837283	37,14%
21	23/07/09	1,2993205	26/10/09	0,4283993	67,03%

Tabla 27: Porcentaje de mejoría en los pacientes con liquen erosivo del grupo control.

Análisis estadístico: analizando la medición de área afectada al inicio versus área afectada en el control clínico de mejoría, con el test de Wilcoxon para muestras pareadas, para el grupo control de liquen erosivo: el valor de $p=0,0035$, considerado muy significativo. (Figura nº 25)

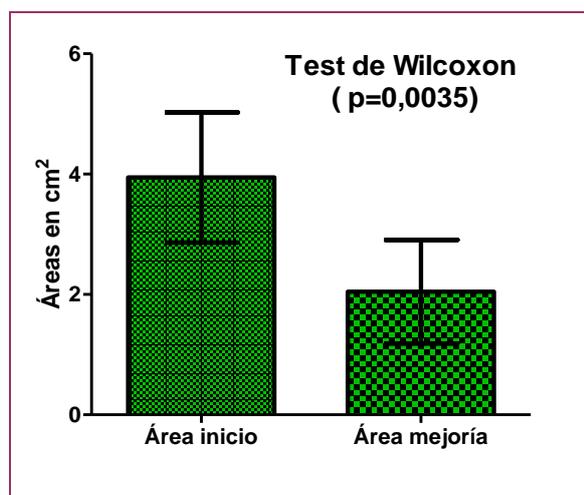


Figura nº 25: Liquen erosivo, áreas medidas en el grupo control al inicio y mejoría. Test de Wilcoxon para muestras pareadas.

Comparando los porcentajes de mejoría de las áreas medidas con el test de Mann-Whitney, a dos colas la diferencia fue significativa ($p=0.02$), siendo mayor el porcentaje de mejoría para el grupo casos. (Figura nº 26).

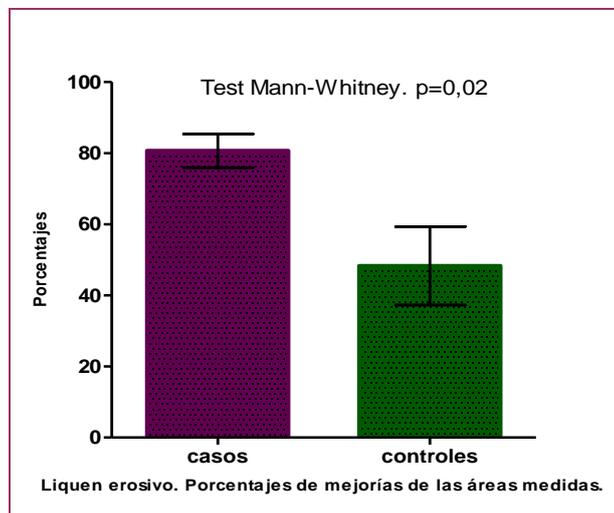


Figura nº 26: Liquen erosivo. Porcentaje de mejoría de las áreas medidas. A: casos. B: controles ($p=0,022$).

Pacientes con liquen no erosivo

Se midieron las áreas afectadas al inicio y en el control de mejoría clínica de los pacientes con liquen no erosivo, tanto en los del grupo caso como en los pacientes del grupo control. En las Figuras nº 27 y 28, con las lesiones de la paciente nº 4, con liquen no erosivo del grupo control, se ejemplifica.



Figuras nº 27 y 28: Fotos de áreas afectadas medidas. Paciente 4 del grupo liquen no erosivo con tratamiento control. Fecha de inicio: 20-12-10 y evolución: 24-01-11.

Las tablas siguientes muestran las medidas obtenidas y las fechas de las mediciones.

LIQUEN NO EROSIVO ÁREAS MEDIDAS					
CASOS	FECHA INICIO	ÁREA INICIO	FECHA MEJORÍA	ÁREA MEJORÍA	PORCENTAJE DE MEJORIA
1	29/11/10	17,29119	7/04/10	1,420237	91,79 %
2	18/12/06	1,7273565	16/01/07	0,7899807	54,27 %
3	10/04/08	5,056685	8/05/08	3,099983	38,70 %
4	10/02/11	0,3293575	3/03/11	0,2920802	11,32 %
5	13/11/08	1,3732073	10/12/08	0,4361917	68,24 %
6	18/09/07	1,57579	25/10/07	0,62035	60,63 %
7	29/04/10	0,6413303	8/08/11	0,3911531	39,01 %
7	18/10/10	4,960471	24/01/11	1,868476	62,33 %
9	18/10/11	2,64782	10/11/11	1,476103	44,25 %

Tabla 28: Superficies de las áreas afectadas y porcentaje de mejoría en los pacientes con liquen no erosivo del grupo casos.

LIQUEN NO EROSIVO ÁREAS MEDIDAS					
CONTROLES	FECHA INICIO	ÁREA INICIO	FECHA MEJORÍA	ÁREA MEJORÍA	PORCENTAJE DE MEJORÍA
1	14/09/09	26,101435	29/10/09	1,22501	95,31 %
2	11/10/07	1,938971	22/11/07	0,9755708	49,69 %
3	14/09/09	6,213268	29/10/09	0,1039345	98,33 %
4	20/12/10	2,197988	24/01/11	7,275645	-231,01 %
5	19/07/10	10,09516	5/08/10	7,145246	29,22 %

Tabla 29: Superficies de las áreas afectadas y porcentaje de mejoría en los pacientes con liquen no erosivo del grupo control.

En los pacientes con liquen no erosivo se compararon las áreas medidas al inicio en los pacientes del grupo casos con los del grupo control con el test de t con corrección de Welch y no se encontró diferencia significativa ($p=0,31$).

Tanto con el test de Student para muestras pareadas; casos inicio comparado con casos mejoría ($p=0,13$) y controles inicio comparado con controles mejoría ($p=0,30$); como con el análisis de la varianza (ANOVA) no se pudo demostrar

diferencia significativa entre las mediciones de áreas afectadas al inicio y al final del tratamiento tanto en los casos como en los controles ($p=0.07$). (Figura nº 29).

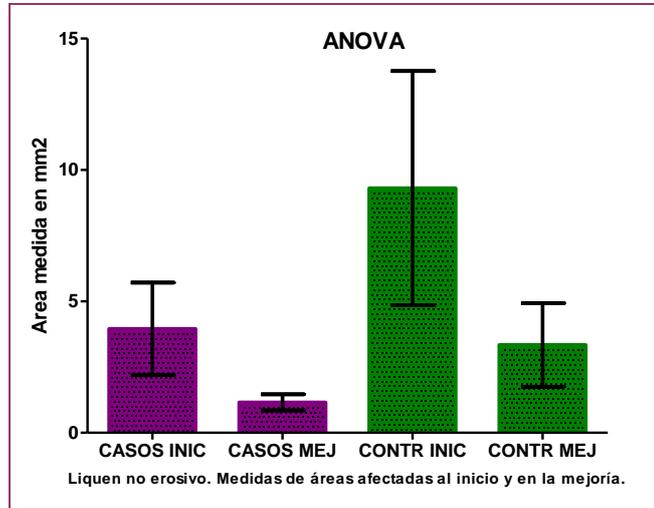


Figura nº 29: Áreas medidas en pacientes con liquen no erosivo.

PACIENTES CON SINDROME DE ARDOR BUCAL

Del grupo de pacientes con estomatodinia se estudiaron cinco pacientes con tratamiento con antocianas y tres pacientes con tratamiento con vitamina E. En ambos grupos se realizó atención odontológica e interconsultas con psiquiatría y fonoaudiología. Los controles se realizaron una vez por mes. Los datos obtenidos se observan en las tablas 30 y 31.

Pacientes con síndrome de ardor bucal. Inicio

SME. DE ARDOR BUCAL	CASOS (n 5)	CONTROLES (n 3)
Edad \bar{X}	63.2(DS±4.26)	61.6(DS±10.2)
Sexo MUJERES	100%	100%
TABAQUISMO	40%	33%
Cigarrillos: paquetes-año	3	34
KARNOFSKY	94(DS 8.94)	100%
Malnutrición	20%	0
COMÓRBIDAS	100%	100%
HTA	20%	66%
DEPRESION	40%	33%
HIPOTIROIDISMO	20%	0
Trat sme. ardor bucal previo	40%	20%
TRAUMA LOCAL:	20%	33%
TRAT. ODONTOLOGICO	80%	66%
DESCONTAMINACION	40%	66%
DROGAS	nistatina clorhexidina	nistatina clorhexidina
SME. DE ARDOR BUCAL	CASOS	CONTROLES
CLÍNICA INICIO		
dolor 1-10	100%	100%
ardor / disfagia / disgeusia /	7.4(DS±2.96)	9 (DS±1)
Inicio síntomas	92.5 DÍAS(DS ±65)	110 (DS±14.1)
SCORE	18.3 (DS±1.15)	17

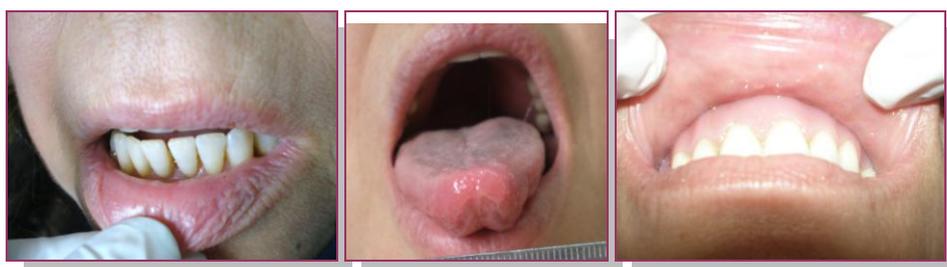
Tabla 30. Pacientes con síndrome de ardor bucal. Inicio

Pacientes con síndrome de ardor bucal. Control de mejoría.

SME. DE ARDOR BUCAL	CASOS (n 3)	CONTROLES (n 3)
Tiempo en días desde 1º consulta	103.6 (DS±6.5)	71 (DS±31.1)
SCORE	18	19(DS±1.41)
Síntomas mejor	100%	33%
Síntoma igual		
Síntoma peor		66%
TRATAMIENTO COMPLETO	100%	66.7%
Impresión respuesta		
BUENA	SI	
REGULAR		SI
MALA		
TRATAMIENTO COMPLETO	100 %	
Nuevo tratamiento		33%
CONTINUAN MISMO TRATAMIENTO	100%	66%
Adherencia	100%	33%

Tabla 31. Pacientes con síndrome de ardor bucal: Control de mejoría

Tal como se observa el comparar la evolución del síntoma (ardor) en las tablas 30 y 31, el ardor había mejorado en los pacientes del grupo casos de un modo más evidente que en los controles. Se observa que la impresión de la respuesta con antocianinas fue buena y con vitamina E local fue regular. El análisis estadístico de los datos obtenido en ambos grupos no arrojó diferencias significativas entre los grupos, tanto en las edades y sexo de las muestras, como en los resultados evolutivos con cualquiera de los dos tratamientos.



Figuras nº 30, 31 y 32: indentaciones en labio inferior y superior y eritema en la punta de la lengua. El ardor de la paciente en todas estas zonas es muy marcado.

PACIENTES CON MUCOSITIS

Se estudiaron cinco pacientes del grupo casos y uno del grupo control. Los datos que pudieron compararse intergrupos, como sexo, tabaquismo, dolor al inicio y final del tratamiento, no dieron diferencia estadística. La mejoría alcanzada en el grupo casos no resultó de significancia estadística cuando se la comparó con el dolor al inicio. (Tablas 32 y 33).

MUCOSITIS: INICIO	CASOS (n 5)	CONTROLES (n 1)
Edad \bar{X}	50.4 (DS \pm 21.7)	16
Sexo	80% mujeres	MUJER
Tabaquismo	20%	0
Cigarrillos: Paquete- año	10	
Índice de Karnofsky	60 (DS \pm 7.07)	80%
Malnutrición	20%	0
COMÓRBIDAS	20%	100%
Malnutrición	20%	0
Linfoma		100%
Tratamientos previos	80%	
Local	100%	
Medicamentos recibidos	Sol Fisiol,Al (OH)3, nistatina, Vit. E, difenhidramina	
Duración de tratamiento	5meses ciclos 7 días	
Respuesta	regular	
ODONTOLOGIA		
TRAT. ODONTOLOGICO	60%	
DESCONTAMINACION	40%	
DROGAS	20%	

CLINICA

MUCOSITIS: INICIO	CASOS	CONTROLES
Dolor		
1-10	7.75(DS \pm 1.70)	5
Días desde el inicio	4 días(DS \pm 3)	2
Score	23.7(DS \pm 5.12)	16

Tabla 32. Pacientes con mucositis: Inicio

PACIENTES CON MUCOSITIS. CONTROL DE MEJORÍA.

MUCOSITIS: MEJORÍA	CASOS	CONTROL
Tiempo desde 1º consulta	5.4(DS 2.88)	
Mejor	33%	
Peor	66%	
Igual		100%
dolor	4.2(DS \pm 3.7)	5
SCORE	22.2 (DS \pm 6.8)	16
Síntomas mejor	80%	0

Tabla 33. Mucositis: Control de mejoría.



Figuras n° 33, 34 y 35: pacientes con mucositis. Los dos primeros pacientes en el día del inicio, con mucositis grado IV, úlceras orales extensas e imposibilidad de ingerir líquidos. La tercera paciente, tuvo una mucositis grado II y se encuentra en el control de mejoría. Ha recibido tratamiento con antocianinas.

PACIENTES CON AFTAS

Todos los pacientes incluidos presentaban aftas menores. Se estudiaron en el grupo casos seis pacientes y en los controles nueve pacientes. Los datos analizados, que comprenden: epidemiología y antecedentes personales; examen e índices odontológicos y; síntomas, lesiones y evolución; son los de la siguiente tabla.

PACIENTES CON AFTAS		
AFTAS	CASOS (n 6)	CONTROLES (n 9)
Edad promedio	46.1 (DS± 21.3)	28.4 (DS±10.3)
Sexo MUJERES	5 (83.3%)	6 (66.7%)
Escolaridad:	14.3 (DS±9.3)	15 (DS±3.2)
Procedencia: urbano	100%	100
Empleado:	100%	100
Clase social:		
Media	100%	93.5%
Baja		6.5%
Estado civil:		
Pareja/casado	67.7%	62.5%
Soltero	33.3%	37.5
Vive Solo	0	0
TABAQUISMO	50%	0
Cigarrillos: paquete-año	4.66	0
Alcohol ml	0	0
Mate	66.7%	44.4%
Café	33.3%	77.8%
Té	50%	55.6%
Otros: LECHE:	33.3%	44.4%
KARNOFSKY	96.6(DS±8.1)	98.8(DS±3.3)
Malnutrición	0	3 (33.3)
Índice masa corporal \bar{X}	25	24.4
COMÓRBIDAS	16.7%	44.4%
HTA	16.7%	-
ASMA	-	11.1%
Tratamientos previos	50%	44.4%
Local	100%	100%
Medicamentos	Bencidamina difenhidramina	Nistatina corticoides Aciclovir anestésico
Duración	>6meses dte. 7 días	7dias
Respuesta	regular	regular

Tabla 34: Pacientes con aftas: epidemiología y antecedentes personales.

AFTAS: ODONTOLOGÍA		
AFTAS	CASOS n 6	CONTROLES n 9
THO	100%	77.7%
C:	3.2 (DS±3.9)	22 (DS±2.3)
P:	15 (DS±12.2)	0.8 (DS±1.5)
O:	3 (DS±2.1)	2.5 (DS±2.07)
D:	16 (DS±12.11)	22.6 (DS±11.2)
INDICE LOE:	1.6 (DS±1.2)	1.3 (DS±0-2)
O LEARY:	61.98 (DS±25.9)	55.4 (DS±38.2)
Caries	2	4 (DS±44.4)
Macropentrantes	0	0
amelodentinarias	100%	100%
Prótesis:	3 (1 completa sup.)	0
Adaptada	2	
TRAUMA LOCAL:	2	5
TRAT. ODONTOLOGICO	1	6
DESCONTAMINACION	no	4
DROGAS	no	nistatina

Tabla 34: (Continuación) Examen e índices odontológicos

AFTAS: CLINICA		
AFTAS	CASOS n 6	CONTROLES n 9
dolor	100%	100%
1-10	7.2 (DS±2.1)	7.6 (DS±2.25)
ardor / disfagia / disgeusia / xerostomía	Ardor1	1ardor 1disfagia
Múltiple	3	6
Promedio de lesiones	2 (DS±1)	3.6
SCORE primera visita	20 (DS±4.6)	18.7 (DS±1,25)
LESIONES		
MYugal I	0	2
MYugal D	0	0
Labio sup	1	4
Labio inf	2	7
Lengua Dorso	0	1
Lengua Vientre	1	0
Leng latD	1	2
Leng latI	0	1
Punta	0	0
Piso	1	0
Paladar	0	1
Encías sup	0	0
Encías inf	0	0
Demora en consult	13 (DS±15.7)	7.1 (DS±2.6)
EVOLUCION DIAS	2.5 (DS±4.6)	5(DS±2.6)
SCORE	21.5 (DS±2.6)	18.7 (DS±1,25)
AFTAS CONTROL DE MEJORÍA		
AFTAS MEJORÍA	Casos n 6	Controles aftas n 9
Tiempo en días	7.1 (DS±1.7)	13.3 (DS±10.1)
Mejor	3	5
Peor	1	1
Cura total	2	3
dolor	2.2 (DS±4.3)	0.6 (DS±1.3)

Tabla 34. (Continuación) Pacientes con aftas. Síntomas, lesiones y evolución.

En el análisis comparativo entre los grupos casos y controles no se encontraron diferencias significativas al analizar las variables epidemiológicas, los antecedentes personales, los tratamientos recibidos y los índices odontológicos. Respecto a los síntomas, lesiones y la evolución hasta alcanzar la mejoría con sendos tratamientos, tampoco hubo diferencia estadística significativa ($p=NS$). Sobre la

base de estos resultados se deduce que la muestra fue elegida correctamente ya que no se demostraron diferencias significativas cuando ambos grupos, casos y controles, iniciaron los respectivos tratamientos. El no hallar diferencias significativas entre ambos grupos al terminar el tratamiento avala la utilidad del tratamiento con antocianinas en estos pacientes, especialmente al considerar que el corticoide tópico utilizado para tratar al grupo control es el de mayor potencia conocido hasta la fecha y por lo tanto sus efectos colaterales se evitarían en los pacientes tratados con antocianinas.

En estos pacientes se evaluó también el daño oxidativo a través de la determinación de MDA y el estado oxidativo sistémico a través de la determinación de AST. Los datos comparados se expresan en las tres siguientes tablas.

Pacientes con aftas	CASOS		CASOS	
	MDA nmol/L		TAS mmol/L	
	INICIO	MEJORIA	INICIO	MEJORIA
1	0,84	0,58	1.26	1.03
2	1,08	0,74	1.40	1.19
3	1,51	0,83	1.45	1.26
4	1,65	2,4	1,25	1,6

Tabla35. Pacientes con aftas: determinación de MDA y AST en el grupo casos.

En los pacientes con aftas del grupo casos con el test de student no se encontró diferencia significativa al comparar los valores del inicio con los de la mejoría tanto para MDA ($p= 0,69$) Como para AST ($p=0,65$)

Pacientes con aftas	CONTROLES		CONTROLES	
	MDA nmol/L		TAS mmol/L	
	INICIO	MEJORIA	INICIO	MEJORIA
1	1,97	1,78	1.03	1.06
2	2,06	2,4	1,13	1,09
3	2,4	2,58	1,14	1,22
4	1,89	1,46	1,21	0,93
5	0,83	0,48	1,41	1,62

Tabla36. Pacientes con aftas: determinación de MDA y AST en el grupo controles.

Lo mismo se verificó en los pacientes con aftas del grupo control con el test de student no se encontró diferencia significativa al comparar los valores del inicio con los de la mejoría tanto para MDA ($p= 0,58$) Como para AST ($p>0,99$)

Además se compararon los valores de MAD y AST de todos los pacientes con aftas tanto en el inicio como en la mejoría, versus los valores obtenidos en controles sanos

	Aftas MDA	Sanos MDA	Aftas AST	Sanos AST
	n:9	n:16	n:9	n:18
Inicio				
Media	1,58	1,81	1,25	1,18
DS	$\pm 0,56$	$\pm 0,40$	0,14	0,21
	Aftas MDA	Sanos MDA	Aftas AST	Sanos AST
	n:9	n:16	n:9	n:18
Final				
Media	1,47	1,81	1,22	1,18
DS	0,84	$\pm 0,40$	0,24	0,21

Tabla37. Pacientes con aftas: determinaciones de MDA y AST comparadas con los valores de los controles sanos, al inicio y en la mejoría.

No se encontraron diferencias significativas al comparar con test de student los valores de MDA de los pacientes con aftas versus los controles sanos tanto al inicio ($p=0.30$) como en la mejoría ($p= 0,28$). Tampoco se encontraron diferencias significativas al comparar con el test de student los valores de AST de los pacientes con aftas versus los controles sanos al inicio ($p=0,32$) y en la mejoría ($p=0,67$).

Basándose en estos hallazgos, en nuestros pacientes no se encontró impacto sistémico en el daño oxidativo reflejado en suero por MAD, ni en el estado oxidativo medido a través de AST. Esto tampoco fue modificado por el uso de antocianinas locales ni de clobetasol local.

Resultados de la Citología exfoliativa

En los extendidos celulares se realizó tinción de Papanicolaou y se determinaron los índices de diferenciación celular. Se compararon los índices de maduración previos al tratamiento, en el control de mejoría y en el momento del alta. (Figuras nº 36 y 37, ambas de pacientes con LPB).

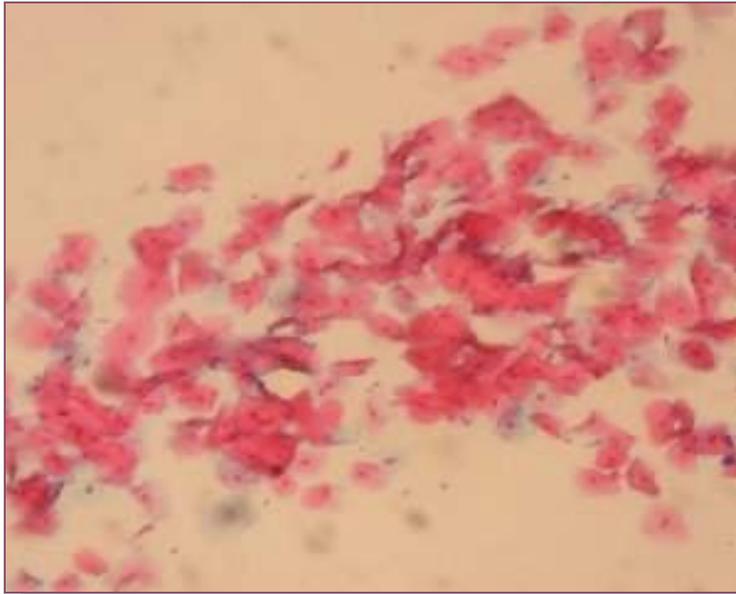


Figura n°36. Foto de citología exfoliativa de mucosa yugal, teñida con Papanicolaou donde se observan células superficiales con cariopícnosis (desde X 400).

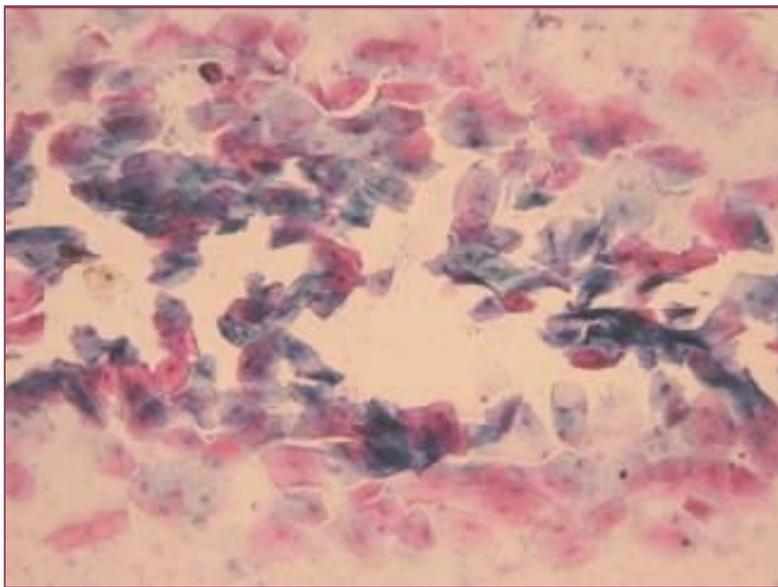


Figura n°37 Citología exfoliativa de mucosa yugal con presencia de células epiteliales más profundas con coloración anfófila y cianófila (desde X 400).

Nota de abreviaturas: Tablas de citologías: PAC: pacientes, E: escamas, CP: cariopícnóticas, EOS: intermedias eosinófilas, ANF: intermedias anfófilas, CIAN: cianófilas. IQ: índice de queratinización, IE: índice de eosinofilia, I CAR: índice de cariopícnosis, IAN: índice de anfofilia, I CIAN: índice de cianofilia.

Citologías de pacientes con liquen bucal

CITOLOGÍAS DEL GRUPO LIQUEN EROSIVO. GRUPO CASOS.

Se evaluaron 14 pacientes: dos extendidos de cada uno al inicio, en la mejoría y en el alta. En las tablas 38, 39 y 40 están los datos de los pacientes del grupo casos con liquen erosivo.

CITOLOGÍAS DE PACIENTES CON LIQUEN EROSIVO, CASOS. INICIO.											
PAC	E	CP	EOS	ANF	CIAN	T	I Q	I E	I. CAR	I AN	I CIAN
1A	144	129	66	7	1	347	41,50	97,69	37,18	2,02	0,29
1B	8	13				21	38,10	100,00	61,90	0,00	0,00
2A	5	189				194	2,58	100,00	97,42	0,00	0,00
2B		65				65	0,00	100,00	100,00	0,00	0,00
3A	8	2				10	80,00	100,00	20,00	0,00	0,00
3B	34	217		4		255	13,33	98,43	85,10	1,57	0,00
4A	34	64				98	34,69	100,00	65,31	0,00	0,00
4B	3	5				8	37,50	100,00	62,50	0,00	0,00
5A	72	185				257	28,02	100,00	71,98	0,00	0,00
5B	11	215		12		238	4,62	94,96	90,34	5,04	0,00
6A	33	0	76	3	12	124	26,61	87,90	0,00	2,42	9,68
6B		123				123	0,00	100,00	100,00	0,00	0,00
7A	61	253				314	19,43	100,00	80,57	0,00	0,00
7B	96	102		126	77	401	23,94	49,38	25,44	31,42	19,20
8A	23	287				310	7,42	100,00	92,58	0,00	0,00
8B		176				176	0,00	100,00	100,00	0,00	0,00
9A	9	196		41		246	3,66	83,33	79,67	16,67	0,00
9B	27	164		11		202	13,37	94,55	81,19	5,45	0,00
10A	99	46				145	68,28	100,00	31,72	0,00	0,00
10B	66	129	59	46		300	22,00	84,67	43,00	15,33	0,00
11A	24	1	0	0	0	25	96,00	100,00	4,00	0,00	0,00
11B	16	86	1	4		107	14,95	96,26	80,37	3,74	0,00
12A	102	12				114	89,47	100,00	10,53	0,00	0,00
12B	19	3	0	0	0	22	86,36	100,00	13,64	0,00	0,00
13A	15	35				50	30,00	100,00	70,00	0,00	0,00
13B	21	58	0	33	1	113	18,58	69,91	51,33	29,20	0,88
14A		126				126	0,00	100,00	100,00	0,00	0,00
14B	197	115				312	63,14	100,00	36,86	0,00	0,00

Tabla 38. Número de células contadas e índices citológicos de los pacientes del grupo liquen erosivo casos: inicio.

CITOLOGÍAS DE PACIENTES CON LIQUEN EROSIVO. CASOS. MEJORÍA.											
PAC	E	CP	EOS	ANF	CIAN	T	I Q	I E	I. CAR	I AN	I CIAN
1A	146	35				181	80,66	100,00	19,34	0,00	0,00
1B	6	1	309	9	12	337	1,78	93,77	0,30	2,67	3,56
2A		39				39	0,00	100,00	100,00	0,00	0,00
2B	0	0	0	0		0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3A	55	300				355	15,49	100,00	84,51	0,00	0,00
3B	17	169		7	12	205	8,29	90,73	82,44	3,41	5,85
4A	100	8				108	92,59	100,00	7,41	0,00	0,00
4B	28	83				111	25,23	100,00	74,77	0,00	0,00
5A	15	298		59		372	4,03	84,14	80,11	15,86	0,00
5B		144		128	44	316	0,00	45,57	45,57	40,51	13,92
6A	66	10	210	22	0	308	21,43	92,86	3,25	7,14	0,00
6B	73	127	17	5		222	32,88	97,75	57,21	2,25	0,00
7A	240	43		19		302	79,47	93,71	14,24	6,29	0,00
7B	217	46		12		275	78,91	95,64	16,73	4,36	0,00
8A	13	89				102	12,75	100,00	87,25	0,00	0,00
8B		300		14		314	0,00	95,54	95,54	4,46	0,00
9A	31	235		45		311	9,97	85,53	75,56	14,47	0,00
9B	51	250		6		307	16,61	98,05	81,43	1,95	
10A	45	300				345	13,04	100,00	86,96	0,00	0,00
10B		330				330	0,00	100,00	100,00	0,00	0,00
11A	5	58		6		69	7,25	91,30	84,06	8,70	0,00
11B	48	185		10		243	19,75	95,88	76,13	4,12	0,00
12A	5	95		3		103	4,85	97,09	92,23	2,91	0,00
12B	10	306	0	0	1	317	3,15	99,68	96,53	0,00	0,32
13A	0	42	0	23	0	65	0,00	64,62	64,62	35,38	0,00
13B	7	142	3	1		153	4,58	99,35	92,81	0,65	0,00
14A	28	112				140	20,00	100,00	80,00	0,00	0,00
14B		8				8	0,00	100,00	100,00	0,00	0,00

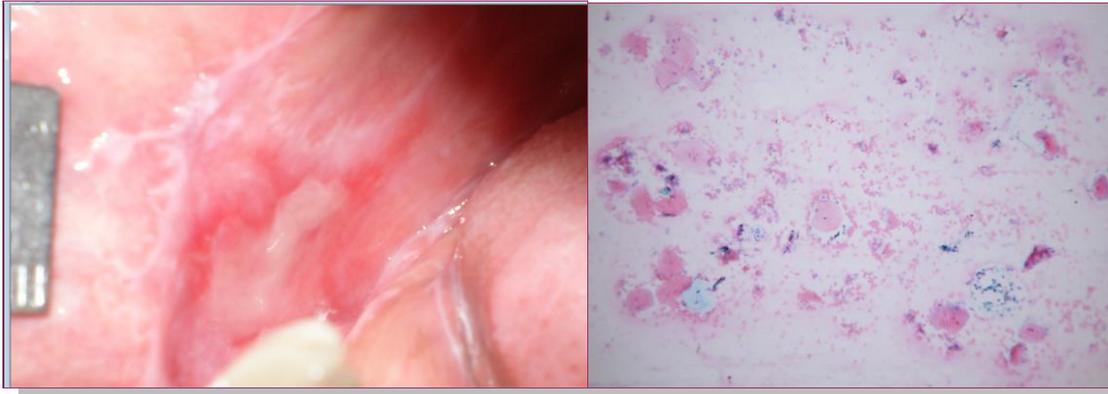
Tabla 39. Número de células contadas e índices citológicos de los pacientes del grupo liquen erosivo casos: control de mejoría.

CITOLOGÍAS DE PACIENTES CON LIQUEN EROSIVO. CASOS. ALTA.											
PAC	E	CP	EOS	ANF	CIAN	T	I Q	I E	I. CAR	I AN	I CIAN
1A	78	214		12	6	310	25,16	94,19	69,03	3,87	1,94
1B	85	189		12		286	29,72	95,80	66,08	4,20	0,00
2A	7	296	11			314	2,23	100,00	94,27	0,00	0,00
2B		100		28		128	0,00	78,13	78,13	21,88	0,00
3A		21				21	0,00	100,00	100,00	0,00	0,00
3B		330				330	0,00	100,00	100,00	0,00	0,00
4A											
4B											
5A		339		3	31	373	0,00	90,88	90,88	0,80	8,31
5B	19	254		33		306	6,21	89,22	83,01	10,78	0,00
6A	191	114				305	62,62	100,00	37,38	0,00	0,00
6B											
7A											
7B											
8A	6	146		175		327	1,83	46,48	44,65	53,52	0,00
8B	2		122	190	3	317	0,63	39,12	0,00	59,94	0,95
9A	19	310				329	5,78	100,00	94,22	0,00	0,00
9B	12	300				312	3,85	100,00	96,15	0,00	0,00
10A	19	64	66	26		175	10,86	85,14	36,57	14,86	0,00
10B	42	295				337	12,46	100,00	87,54	0,00	0,00
11A	8	72				80	10,00	100,00	90,00	0,00	0,00
11B											
12A	7	84		20		111	6,31	81,98	75,68	18,02	0,00
12B	14	103				117	11,97	100,00	88,03	0,00	0,00
13A	42	43				85	49,41	100,00	50,59	0,00	0,00
13B	3	0	42	98	2	145	2,07	31,03	0,00	67,59	1,38
14A	17	29	123	0	0	169	10,06	100,00	17,16	0,00	0,00
14B	136	53				189	71,96	100,00	28,04	0,00	0,00

Tabla 40. Número de células contadas e índices citológicos de los pacientes del grupo liquen erosivo casos: control de alta.

En el grupo casos de los pacientes con liquen erosivo, comparando las muestras pareadas el índice de eosinofilia ($p=0,55$), de cariopcnosis ($p=0,73$) y el de anofilia ($p=0,19$) no dieron diferencia significativa, entre el inicio, el control de mejoría y el control de alta.

En las figuras 38 a 43 se observa le evolución clínica de una paciente con LPB erosivo, grupo casos y sus respectivas citologías exfoliativas.



Figuras n° 38 y 39: Foto clínica de la mucosa yugal derecha de la paciente BA, con liquen erosivo (grupo casos) el día del inicio del tratamiento. (Fecha: 09-08-2007). En su correspondiente citología exfoliativa (12A del control de inicio) se observan células intermedias cianófilas, anfófilas y eosinófilas, abundantes eritrocitos y leucocitos. (Microfotografía desde x400).

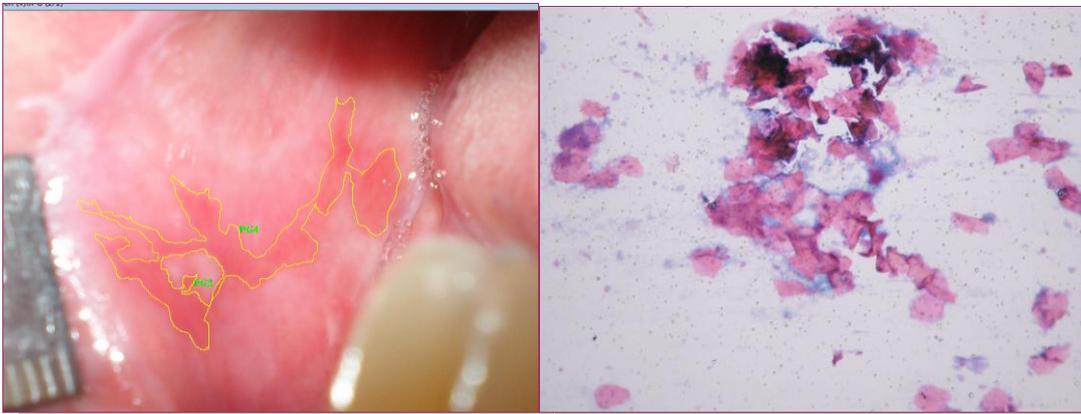


Figura n° 40 y 41: Foto clínica correspondiente a la mejoría de la paciente BA del grupo casos con liquen erosivo, 28 días después de la anterior. En la citología exfoliativa (12B del control de mejoría) predominan cúmulos de células superficiales picnóticas. (Microfotografía desde x 400).

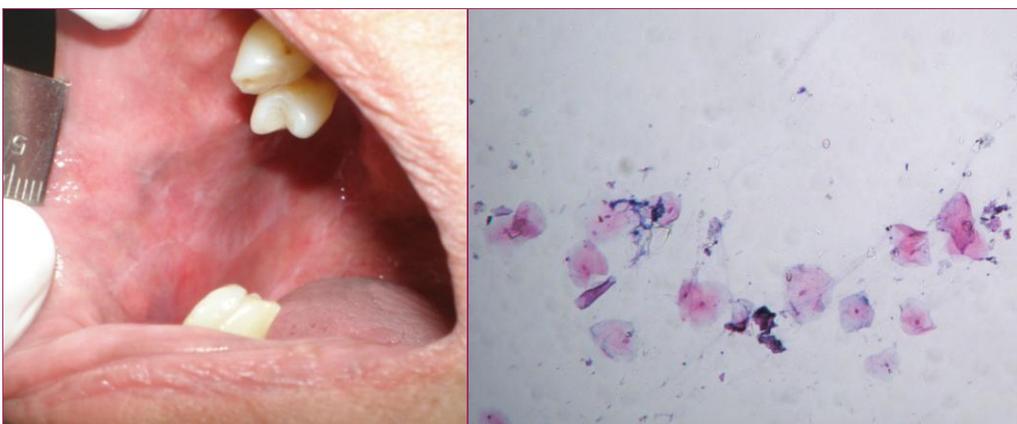


Figura n° 42 y 43: Foto clínica correspondiente al alta de la paciente BA del grupo casos con liquen erosivo, (Fecha: 09 06 08). En la citología exfoliativa (13B del control de alta) predominan células superficiales picnóticas, intermedias anfófilas y presencia de leucocitos. (Microfotografía desde x 400).

CITOLOGÍAS DEL GRUPO LIQUEN EROSIVO CONTROLES: INICIO.

Los resultados de las citologías exfoliativas, de los pacientes con liquen erosivo, del grupo control, se compararon en el momento del inicio, en el control de mejoría y en el alta. Se obtuvieron dos extendidos por paciente en cada consulta. Los resultados se expresan en las tablas 41, 42 y 43.

CITOLOGÍAS DE PACIENTES CON LIQUEN EROSIVO. CONTROLES. INICIO.											
PAC	E	CP	EOS	ANF	CIAN	T	I Q	I E	I. CAR	I AN	I CIAN
1A	30	244		29		303	9,90	90,43	80,53	9,57	0,00
1B	33	304		5		342	9,65	98,54	88,89	1,46	0,00
2A		50				50	0,00	100,00	100,00	0,00	0,00
2B		39				39	0,00	100,00	100,00	0,00	0,00
3A		295		35		330	0,00	89,39	89,39	10,61	0,00
3B	120	66				186	64,52	100,00	35,48	0,00	0,00
4A	133	94	2	6	0	235	56,60	97,45	40,00	2,55	0,00
4B	10	330				340	2,94	100,00	97,06	0,00	0,00
5A		154			16	170	0,00	90,59	90,59	0,00	9,41
5B	48	269				317	15,14	100,00	84,86	0,00	0,00
6A	10	298				308	3,25	100,00	96,75	0,00	0,00
6B	3	76	0	5	3	87	3,45	90,80	87,36	5,75	3,45
7A	1	9				10	10,00	100,00	90,00	0,00	0,00
7B	7	0	89	70	84	250	2,80	38,40	0,00	28,00	33,60
8A	56	45		13		114	49,12	88,60	39,47	11,40	0,00
8B					83	83	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
9A					5	5	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
9B	18	295				313	5,75	100,00	94,25	0,00	0,00
10A	68	237				305	22,30	100,00	77,70	0,00	0,00
10B		350				350	0,00	100,00	100,00	0,00	0,00
11A	4	175				179	2,23	100,00	97,77	0,00	0,00
11B	300	22				322	93,17	100,00	6,83	0,00	0,00
12A	8	184		56		248	3,23	77,42	74,19	22,58	0,00
12B	4	23				27	14,81	100,00	85,19	0,00	0,00
13A	13	145		3		161	8,07	98,14	90,06	1,86	0,00
13B	18	93	70	31	0	212	8,49	85,38	43,87	14,62	0,00
14A	28	328				356	7,87	100,00	92,13	0,00	0,00
14B	4	330				334	1,20	100,00	98,80	0,00	0,00

Tabla 41. Número de células contadas e índices citológicos de los pacientes del grupo liquen erosivo controles: inicio.

CITOLOGÍAS DEL GRUPO LIQUEN EROSIVO CONTROLES: CONTROL DE MEJORÍA.

CITOLOGÍAS DE PACIENTES CON LIQUEN EROSIVO. CONTROLES. MEJORIA.											
PAC	E	CP	EOS	ANF	CIAN	T	I Q	I E	I. CAR	I AN	I CIAN
1A	218	82		4	3	307	71,01	97,72	26,71	1,30	0,98
1B	22	300				322	6,83	100,00	93,17	0,00	0,00
2A		91				91	0,00	100,00	100,00	0,00	0,00
2B	35	64				99	35,35	100,00	64,65	0,00	0,00
3A	104	227				331	31,42	100,00	68,58	0,00	0,00
3B	204	144				348	58,62	100,00	41,38	0,00	0,00
4A	60	211	0	32	8	311	19,29	87,14	67,85	10,29	2,57
4B		350				350	0,00	100,00	100,00	0,00	0,00
5A	9	163		77	54	303	2,97	56,77	53,80	25,41	17,82
5B	36	35	183	6	0	260	13,85	97,69	13,46	2,31	0,00
6A	52	265				317	16,40	100,00	83,60	0,00	0,00
6B	4	300				304	1,32	100,00	98,68	0,00	0,00
7A	13	177		1	1	192	6,77	98,96	92,19	0,52	0,52
7B	15	54	0	0	0	69	21,74	100,00	78,26	0,00	0,00
8A	128	105				233	54,94	100,00	45,06	0,00	0,00
8B	163	168		12		343	47,52	96,50	48,98	3,50	0,00
9A	49	61	18	115	21	264	18,56	48,48	23,11	43,56	7,95
9B	150	93	35	57		335	44,78	82,99	27,76	17,01	0,00
10A	20	20				40	50,00	100,00	50,00	0,00	0,00
10B	9	86		220		315	2,86	30,16	27,30	69,84	0,00
11A	7	300				307	2,28	100,00	97,72	0,00	0,00
11B	9	298				307	2,93	100,00	97,07	0,00	0,00
12A	76	66		55	1	198	38,38	71,72	33,33	27,78	0,51
12B		32		4		36	0,00	88,89	88,89	11,11	0,00
13A	90	236	13			339	26,55	100,00	69,62	0,00	0,00
13B	15	0	68	78	28	189	7,94	43,92	0,00	41,27	14,81
14A	55	300				355	15,49	100,00	84,51	0,00	0,00
14B	17	169		7	12	205	8,29	90,73	82,44	3,41	5,85

Tabla 42. Número de células contadas e índices citológicos de los pacientes del grupo liquen erosivo controles: control de mejoría

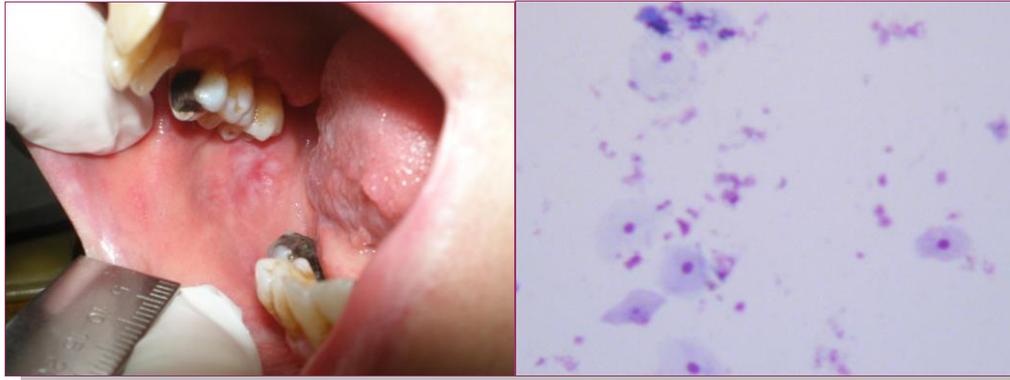
CITOLOGÍAS DEL GRUPO LIQUEN EROSIVO CONTROLES: CONTROL DE ALTA.

CITOLOGÍAS DE PACIENTES CON LIQUEN EROSIVO. CONTROLES. ALTA.											
PAC	E	CP	EOS	ANF	CIAN	T	I Q	I E	I. CAR	I AN	I CIAN
1A	14	276				290	4,83	100,00	95,17	0,00	0,00
1B	7	305				312	2,24	100,00	97,76	0,00	0,00
2A	211	45				256	82,42	100,00	17,58	0,00	0,00
2B	300	4				304	98,68	100,00	1,32	0,00	0,00
3A	58	308				366	15,85	100,00	84,15	0,00	0,00
3B		300		10	10	320	0,00	93,75	93,75	3,13	3,13
4A	43	228		101		372	11,56	72,85	61,29	27,15	0,00
4B	29	140	4	24	0	197	14,72	87,82	71,07	12,18	0,00
5A	43	288		4		335	12,84	98,81	85,97	1,19	0,00
6B					64	64	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
7A		11				11	0,00	100,00	100,00	0,00	0,00
7B	10					10	100,00	100,00	0,00	0,00	0,00
8A	14	92		16	12	134	10,45	79,10	68,66	11,94	8,96
9B	2	320		4		326	0,61	98,77	98,16	1,23	
10A	17	305		4		326	5,21	98,77	93,56	1,23	
10B		55		10		65	0,00	84,62	84,62	15,38	
11A	14	69				83	16,87	100,00	83,13	0,00	0,00

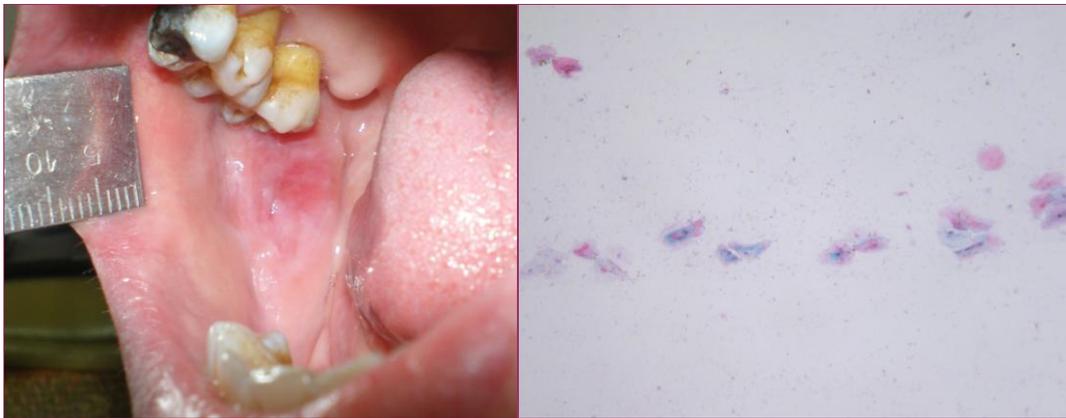
Tabla 43. Número de células contadas e índices citológicos de los pacientes del grupo liquen erosivo controles: control de alta.

En el grupo control de los pacientes con liquen erosivo, se realizó análisis para muestra pareadas. Comparando los datos de inicio y mejoría, los índices de eosinofilia ($p=0.92$), cariopicnosis ($p= 0.24$) y el de anfofilia ($P=0.22$) no dieron diferencias significativas.

En las figuras 44 a 49 se observa le evolución clínica de una paciente con LPB erosivo, grupo control y sus respectivas citologías exfoliativas.



Figuras nº 44 y 45: Foto clínica de la mucosa yugal derecha de la paciente LO, con liquen erosivo (grupo control) el día del inicio del tratamiento. (Fecha: 19-11-2007). En su correspondiente citología exfoliativa (8B del control de inicio) se observan células intermedias cianófilas, y eritrocitos. (Microfotografía desde x400).



Figuras nº 46 y 47: Foto clínica correspondiente a la mejoría de la paciente LO, con liquen erosivo (grupo control). Se ha realizado la extracción de un molar inferior con caries y amalgama (Fecha: 17-01-2008). En su correspondiente citología exfoliativa (8B del control de mejoría) se observan células intermedias cianófilas, anfófilas y eosinófilas. (Microfotografía desde x400).



Figuras nº 48 y 49: Foto clínica correspondiente al alta de la paciente LO, con liquen erosivo (grupo control) (Fecha: 21-04-2008). Se ha reemplazado la amalgama de la pieza del sector superior derecho observándose un material provisorio en el momento de la iconografía. En su correspondiente citología exfoliativa (7A del control de alta) se observan células cariopícnóticas. (Microfotografía desde x400).

En estos pacientes con liquen erosivo al realizar el análisis de la citología exfoliativa, aparentemente se encuentra una evolución, tanto en los casos como en los controles, observándose mayor cantidad de glóbulos rojos y de células intermedias profundas, anfófilas, al inicio. En el momento de la mejoría y del alta se observan más células superficiales eosinófilas y cariopicnóticas con ausencia de los eritrocitos, al haber remitido la erosión. A pesar de esto el análisis estadístico del conteo de las células de los extendidos con la determinación de los índices citológicos, revela que no hay diferencias significativas, entre los momentos evolutivos con el tratamiento de uso habitual con corticoide tópico de altísima potencia (CP) y el uso de antocianinas de la uva, con el beneficio de carecer este tratamiento experimental de los efectos tóxicos conocidos de los corticoides.

CITOLOGÍAS DEL GRUPO LIQUEN NO EROSIVO CASOS: INICIO.

En estos pacientes también se compararon los extendidos citológicos obtenidos al inicio, en la mejoría y en momento del alta. Los datos se observan en las tablas 44, 45 y 46.

CITOLOGÍAS DE PACIENTES CON LIQUEN NO EROSIVO. CASOS. INICIO.											
PAC	E	CP	EOS	ANF	CIAN	T	I Q	I E	I. CAR	I AN	I CIAN
1A	142	58		21		221	64,25	90,50	26,24	9,50	0,00
1B	23	282		27	5	337	6,82	90,50	83,68	8,01	1,48
2A	2	5	107	75	2	191	1,05	59,69	2,62	39,27	1,05
2B	98	348				446	21,97	100,00	78,03	0,00	0,00
3A	14	10	298	8	0	330	4,24	97,58	3,03	2,42	0,00
3B	316	33				349	90,54	100,00	9,46	0,00	0,00
4A		50				50	0,00	100,00	100,00	0,00	0,00
4B	34	263		23		320	10,63	92,81	82,19	7,19	0,00

Tabla 44. Número de células contadas e índices citológicos de los pacientes del grupo liquen no erosivos casos: inicio.

CITOLOGÍAS DEL GRUPO LIQUEN NO EROSIVO CASOS: MEJORÍA.

CITOLOGÍAS DE PACIENTES CON LIQUEN NO EROSIVO. CASOS. MEJORIA.											
PAC	E	CP	EOS	ANF	CIAN	T	I Q	I E	I. CAR	I AN	I CIAN
1A	10	19				29	34,48	100,00	65,52	0,00	0,00
1B	11	329	40			380	2,89	100,00	86,58	0,00	0,00
2A	4	300	8	10	0	322	1,24	96,89	93,17	3,11	0,00
2B	42	150	128			320	13,13	100,00	46,88	0,00	0,00
3A	5	0	168	206	4	383	1,31	45,17	0,00	53,79	1,04
3B	8	325				333	2,40	100,00	97,60	0,00	0,00
4A	12	71		220	1	304	3,95	27,30	23,36	72,37	0,33
4B	51	250		6		307	16,61	98,05	81,43	1,95	0,00

Tabla 45. Número de células contadas e índices citológicos de los pacientes del grupo liquen no erosivos casos: control de mejoría.

CITOLOGÍAS DEL GRUPO LIQUEN EROSIVO CASOS: ALTA.

CITOLOGÍAS DE PACIENTES CON LIQUEN NO EROSIVO. CASOS. ALTA.											
PAC	E	CP	EOS	ANF	CIAN	T	I Q	I E	I. CAR	I AN	I CIAN
1A		33		18		51	0	64,71	64,71	35,29	0
1B	63	165	0	3	0	231	27,27	98,70	71,43	1,299	0
2A	23	98				121	19,01	100,00	80,99	0	0
2B		269		48	1	318	0	84,59	84,59	15,09	0,31

Tabla 46. Número de células contadas e índices citológicos de los pacientes del grupo liquen no erosivos casos: control de alta.

En el grupo casos de los pacientes con liquen no erosivo, comparando las muestras pareadas el índice de eosinofilia ($p=0,55$), de cariopicnosis ($p=0,52$) y el de anfofilia ($p=0,53$) no dieron diferencia significativa, entre el inicio y el control de mejoría.

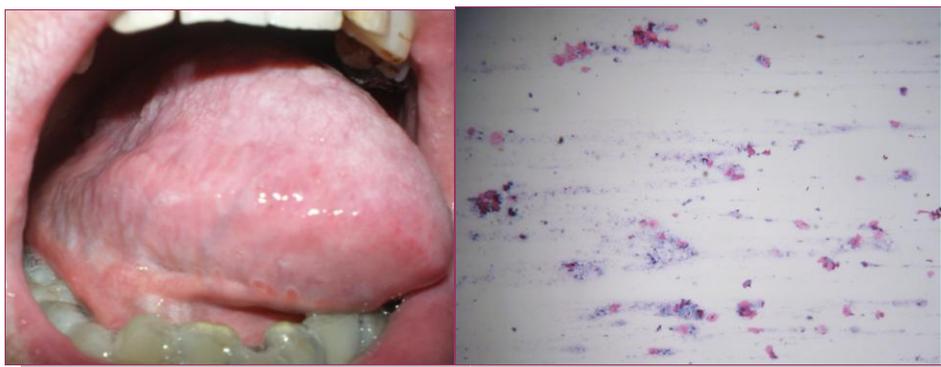
En las figuras 50 a 55 se observa la evolución clínica de un paciente con LPB no erosivo del grupo casos y los extendidos citológicos de los días de inicio, mejoría y alta.



Figuras n° 50 y 51: Foto clínica de la lengua, borde derecho del paciente DH, con liquen no erosivo (grupo casos) el día del inicio del tratamiento. Se observan lesiones queratósicas en borde y dorso de lengua (Fecha: 18-09-2007). En su correspondiente citología exfoliativa (1A del control de inicio) se observan predominantemente células superficiales cariopícnóticas y escamas, escasas anfófilas y leucocitos. (Microfotografía desde x100).



Figuras n° 52 y 53: Foto clínica correspondiente a la mejoría del paciente DH, con liquen no erosivo (grupo casos). (Fecha: 25-10-2007). Han disminuído marcadamente las lesiones de liquen queratósico. En su correspondiente citología exfoliativa (1B del control de mejoría) se observan células superficiales cariopícnóticas predominantemente. (Microfotografía desde x400).



Figuras n° 54 y 55: Foto clínica correspondiente al alta del paciente DH, con liquen no erosivo (grupo casos) (Fecha: 18-06-2008). El borde de lengua permanece sano. En su correspondiente citología exfoliativa (1B del control de alta) se observan células cariopícnóticas. (Microfotografía desde x100).

CITOLOGÍAS DEL GRUPO LIQUEN NO EROSIVO CONTROLES. INICIO.

Los datos obtenidos en el momento del inicio, mejoría y alta en los extendidos citológicos de estos pacientes, se confrontaron con análisis estadístico y se expresan en las tablas 47, 48 y 49.

CITOLOGÍAS DE PACIENTES CON LIQUEN NO EROSIVO. CONTROLES. INICIO.											
PAC	E	CP	EOS	ANF	CIAN	T	I Q	I E	I. CAR	I AN	I CIAN
1A											
2A	32	305				337	9,49	100,00	90,504	0,00	0
2B	4	320				324	1,23	100,00	98,765	0,00	0
3A	20	300				320	6,25	100,00	93,750	0,00	0
3C	8	165		1		174	4,59	99,42	94,828	0,57	0

Tabla 47. Número de células contadas e índices citológicos de los pacientes del grupo liquen no erosivo controles: inicio.

CITOLOGÍAS DEL GRUPO LIQUEN NO EROSIVO CONTROLES. MEJORIA.

CITOLOGÍAS DE PACIENTES CON LIQUEN NO EROSIVO. CONTROLES. MEJORIA.											
PAC	E	CP	EOS	ANF	CIAN	T	I Q	I E	I. CAR	I AN	I CIAN
1A											
2A	34	312				346	9,83	100,00	90,17	0,00	0
2B	13	188		18		219	5,94	91,78	85,84	8,22	0
3A	3	240				243	1,23	100,00	98,77	0,00	0
3C	64	19		136	4	223	28,70	37,22	8,52	60,99	1,79

Tabla 48. Número de células contadas e índices citológicos de los pacientes del grupo liquen no erosivo controles: control de mejoría.

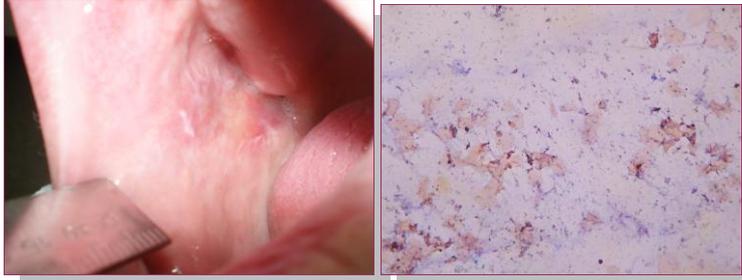
CITOLOGÍAS DEL GRUPO LIQUEN NO EROSIVO CONTROLES. ALTA.

CITOLOGÍAS DE PACIENTES CON LIQUEN NO EROSIVO. CONTROLES. ALTA.											
PAC	E	CP	EOS	ANF	CIAN	T	I Q	I E	I. CAR	I AN	I CIAN
1A											
2A	10	365				375	2,67	100,00	97,33	0,00	
2B	10	300				310	3,23	100,00	96,77	0,00	
3A		209		100		309	0,00	67,64	67,64	32,36	0
3C	18	186	110	7		321	5,61	97,82	57,94	2,18	

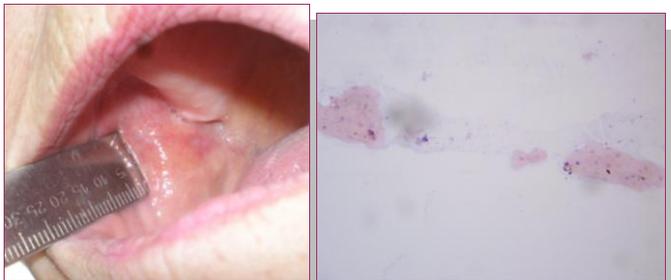
Tabla 49. Número de células contadas e índices citológicos de los pacientes del grupo liquen no erosivo controles: control de alta.

En el grupo casos de los pacientes con liquen no erosivo, comparando las muestras pareadas el índice de eosinofilia ($p=0,27$), de cariopicnosis ($p=0,43$) y el de anofilia ($p=0,27$) no dieron diferencia significativa, entre el inicio, el control de mejoría y el control de alta.

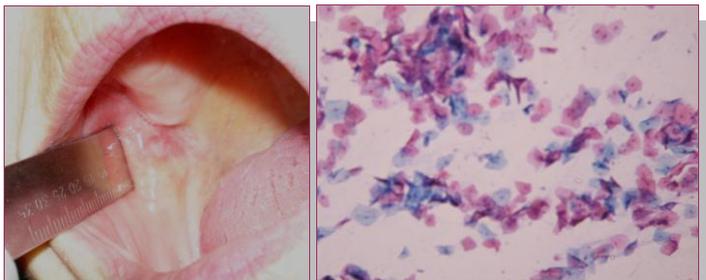
En las figuras 56 a 61 se observa la evolución clínica de un paciente con LPB no erosivo del grupo casos y los extendidos citológicos de los días de inicio, mejoría y alta.



Figuras nº 56 y 57: Foto clínica de la paciente GU, con liquen no erosivo (grupo control) el día del inicio del tratamiento. Placa racemosa y eritema en mucosa yugal derecha. En su correspondiente citología exfoliativa (3A del control de inicio) se observan predominantemente células superficiales cariopícnóticas y abundantes gérmenes. (Microfotografía desde x100).



Figuras nº 58 y 59: Foto clínica correspondiente a la mejoría de la paciente GU, con liquen no erosivo (grupo control). (Fecha: 01-11-2007). Las lesiones clínicas están presentes pero mejoradas. En su correspondiente citología exfoliativa (3A del control de mejoría) Se observan células superficiales cariopícnóticas predominantemente. (Microfotografía desde x400).



Figuras nº 60 y 61: Foto clínica correspondiente al alta de la paciente GU, con liquen no erosivo (grupo control) (Fecha: 10-04-2008). Persiste la placa en la mucosa yugal derecha y los síntomas se presentan como ardor esporádico. En su correspondiente citología exfoliativa (T3A del control de alta) se observan células cariopícnóticas y anfófilas. (Microfotografía desde x400).

En los pacientes con liquen no erosivo desde la citología no se pudo comprobar que existieran diferencias evolutivas con sendos tratamientos; es decir que

realizar el tratamiento habitual a los pacientes, con sus conocidos efectos colaterales, no presentó ventajas con respecto al tratamiento con las antocianinas.

Citologías de pacientes con síndrome de ardor bucal

En estos pacientes se compararon los extendidos citológicos en el momento del inicio y de la mejoría, tanto en el grupo casos (tablas 50 y 51) como en el grupo control (tablas 52 y 53).

CITOLOGÍAS DEL GRUPO SÍNDROME DE ARDOR BUCAL. CASOS INICIO.

SÍNDROME DE ARDOR BUCAL. CASOS INICIO											
PA C	E	CP	EO S	AN F	CIAN	T	I Q	I E	I. CAR	I AN	I CIAN
1	13 6	42				17 8	76,4	100	23,6	0	0
1 B	11	11				22	50	100	50	0	0
2		32				32	0	100	100	0	0
2B	59	41		43	0	14 3	41,26	69,93	28,67	30,07	
3	24	16				40	60	100	40	0	0
3B	30	23		16		69	43,48	76,81	33,33	23,19	0
4	36 9	13 2				50 1	73,65	100	26,35	0	0
4B	32	22 6	45	8	0	31 1	10,29	97,43	72,67	2,57	0

Tabla 50. Número de células contadas e índices citológicos de los pacientes del grupo síndrome de ardor bucal: Casos. Inicio.

En las figuras 62 a 69 se observan fotografías clínicas de pacientes con síndrome de ardor bucal y el extendido citológico del día respectivo.



Figuras n° 62 y 63: Foto clínica de la paciente SS con síndrome de ardor bucal en el momento del inicio. Se observa eritema y depapilación en la punta de la lengua y la paciente siente intenso

ardor. En su citología (1 del grupo síndrome de ardor bucal casos inicio) se observan escamas y células en cariopincosis (desde 100 X).

CITOLOGÍAS DEL GRUPO SÍNDROME DE ARDOR BUCAL. CASOS MEJORIA.

SÍNDROME DE ARDOR BUCAL. CASOS MEJORIA											
Nº	E	CP	EOS	ANF	CIAN	T	I Q	I E	I. CAR	I AN	I CIAN
1	77	42				119	64,71	100	35,29	0	0
1B	56	32	0	9	0	97	57,73	90,72	32,99	9,28	0
2		98		4		102	0	96,08	96,08	3,92	0
2B	130	49		11		190	68,42	94,21	25,79	5,79	0
3	16	57		6		79	20,25	92,41	72,15	7,59	0
3B	90	96				186	48,39	100	51,61	0	0
4	41	90				131	31,3	100	68,7	0	0
4B	1	17	0	5	2	25	4	72	68	20	8

Tabla 51. Número de células contadas e índices citológicos de los pacientes del grupo síndrome de ardor bucal: Casos. Mejoría.



Figuras n° 64 y 65: Foto clínica de la paciente SS con síndrome de ardor bucal en el control de mejoría. Ha disminuído el eritema y la paciente refiere mejoría del ardor. En su citología (1 del grupo síndrome de ardor bucal casos mejoría) se observan escamas y células en cariopincosis (desde 100 X).

La comparación estadística para pruebas pareadas en los pacientes con síndrome de ardor bucal del grupo casos, no dio diferencia significativa para el índice de eosinofilia como tampoco para el de anfofilia.

CITOLOGÍAS DEL GRUPO SÍNDROME DE ARDOR BUCAL. CONTROLES INICIO.

SÍNDROME DE ARDOR BUCAL. CONTROLES INICIO											
PAC	E	CP	EOS	ANF	CIAN	T	I Q	I E	I. CAR	I ANF	I CIAN
1		37				37	0	100	100	0	0
1B	26	56		17		99	26,26	82,83	56,57	17,17	0
2	13	0	31	8	1	53	24,53	83,02	0	15,09	1,89
2B	9	16				25	36	100	64	0	0
3	13	201	2	64	14	294	4,42	73,47	68,37	21,77	4,76
3B	104	196				300	34,67	100	65,33	0	0
4		98		4		102	0	96,08	96,08	3,92	0
4B	130	49		11		190	68,4211	94,21	25,789	5,7894737	0

Tabla 52. Número de células contadas e índices citológicos de los pacientes del grupo síndrome de ardor bucal: controles inicio.



Figuras n° 66 y 67: Paciente TF el día del inicio de la terapia con vitamina E local. Eritema e indentaciones en labio inferior y la paciente refiere ardor en la boca. Corresponde al extendido 4, del grupo controles inicio de pacientes con estomatodinia, se observan células intermedias eosinófilos y algunas anfófilas (desde x400).

CITOLOGÍAS DEL GRUPO SÍNDROME DE ARDOR BUCAL. CONTROLES MEJORÍA

SÍNDROME DE ARDOR BUCAL. CONTROLES MEJORÍA											
PAC	E	CP	EOS	ANF	CIAN	T	I Q	I E	I. CAR	I ANF	I CIAN
1		350				350	0	100	100	0	0
1B		164		172	2	338	0	48,52	48,52	50,89	0,59
2	42	50	5	4	0	101	41,58	96,04	49,5	3,96	0
2B	111	26				137	81,02	100	18,98	0	0
3	74	49				123	60,16	100	39,84	0	0
3B	146	126		7		279	52,33	97,49	45,16	2,51	0
4	68	167				235	28,94	100	71,06	0	0
4B	35	8		3		46	76,1	93,48	17,39	6,52	0

Tabla 53. Número de células contadas e índices citológicos de los pacientes del grupo síndrome de ardor bucal: controles mejoría.



Figuras n° 68 y 69: Paciente TF el día del control de mejoría. Ha disminuido el ardor y el eritema, persisten las indentaciones. Corresponde al extendido 4, del grupo controles mejoría.

grupo controles mejoría de pacientes con estomatodinia, se observan células cariopícnóticas predominantemente. (desdex100).

La comparación estadística para pruebas pareadas en los pacientes con síndrome de ardor bucal del grupo control, no dio diferencia significativa para los índices citológicos.

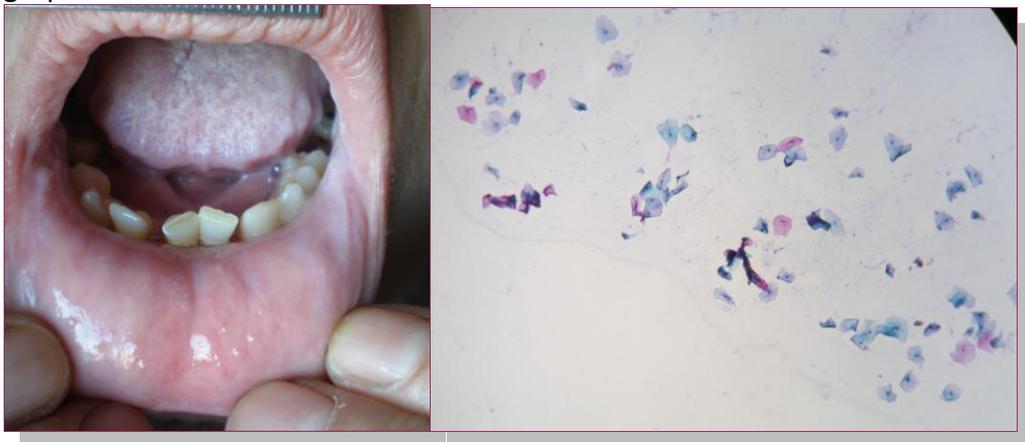
Citologías de pacientes con mucositis

Se realizaron dos extendidos por cada paciente en el inicio y en el control evolutivo y se obtuvieron las tablas 54 y 55, para el grupo casos; y las tablas 56 y 57 para el grupo control. (Figuras 70 a 77 fotos clínicas y citologías respectivas.)

CITOLOGÍAS DEL GRUPO MUCOSITIS CASOS INICIO.

MUCOSITIS CASOS INICIO											
PAC	E	CP	EOS	ANF	CIAN	T	I Q	I E	I. CAR	I AN	I CIAN
1A		17		60	249	326	0	5,21	5,21	18,40	76,38
1B		165		4		169	0	97,63	97,63	2,37	0
2A		154		108	38	300	0,00	51,33	51,33	36	12,67
2B	18	198	9	8	0	233	7,73	96,57	84,98	3,43	0
3A	198	35				233	84,98	100	15,02	0	0
3B	34	13				47	72,34	100	27,66	0	0
4A	19	125	46		6	196	9,69	96,94	63,78	0	3,06
4B		90		94	17	201	0,00	44,78	44,78	46,77	8,46
5A	246	65				311	79,10	100	20,90	0,00	0
5B	117	194		15		326	35,89	95,40	59,51	4,60	0
6A	18	300		20		338	5,33	94,08	88,76	5,92	0
6B	14	297				311	4,50	100	95,50	0,00	0

Tabla 54. Número de células contadas e índices citológicos de los pacientes del grupo mucositis casos: inicio.



Figuras n° 70 y 71: paciente GL con mucositis grado I. Se observa edema marcado de la mucosa y la paciente consultó por intenso dolor (grado 8 de la escala

analógica). En la citología correspondiente, 1 A del inicio, se ve un marcado predominio de las células intermedias cianófilas.



Figuras n° 72 y 73: paciente GA con mucositis grado I. Se observa edema en la mucosa y el paciente presenta marcado dolor (grado 7 de la escala analógica). En la citología citología correspondiente, 2B del inicio, predominan las células en cariopincosis (superficiales)

CITOLOGÍAS DEL GRUPO MUCOSITIS CASOS CONTROL EVOLUTIVO.

MUCOSITIS CASOS CONTROL EVOLUTIVO											
PAC	E	CP	EOS	ANF	CIAN	T	I Q	I E	I. CAR	I ANF	I CIAN
1A	3	40	168	40	79	330	0,91	63,94	12,12	12,12	23,94
1B	12	89	172	35	8	316	3,8	86,39	28,16	11,08	2,53
2A	124	36				160	77,5	100	22,5	0	0
2B	4	147		10		161	2,484	93,79	91,3	6,21	0
3A	113	205				318	35,53	100	64,47	0	0
3B	20	312	3	13		348	5,747	96,26	89,66	3,74	0
4A	2	54	59	77	113	305	0,656	37,71	17,7	25,25	37,05
4B	61	224	2	21		308	19,81	93,18	72,73	6,82	0
5A	177	151		1		329	53,8	99,7	45,9	0,3	0
5B	2	273		42	82	399	0,501	68,92	68,42	10,53	20,55
6A	5	30	4	149	167	355	1,408	10,99	8,45	41,97	47,04
6B		130				130	0	100	100	0	0

Tabla 55. Número de células contadas e índices citológicos de los pacientes del grupo mucositis casos: control evolutivo.



Figuras n° 74 y 75: la misma paciente GL 72 horas después de haber iniciado el tratamiento con antocianinas. No hay edema y la paciente refiere disminución marcada del dolor (grado 3 de la escala analógica). En la citología predominan las células intermedias eosinófilas y se observan algunas anfófilas (más superficiales que las del frotis de inicio)



Figuras n° 76 y 77: paciente GA seis días después de iniciado el tratamiento con antocianinas, no hay edema y el paciente no tiene dolor (grado 0 de la escala analógica). En la citología exfoliativa correspondiente 3B predominan escamas y células en cariopincosis.

CITOLOGÍAS DEL GRUPO MUCOSITIS CONTROLES INICIO.

MUCOSITIS CONTROLES INICIO											
PAC	E	CP	EOS	ANF	CIAN	T	I Q	I E	I. CAR	I ANF	I CIAN
1A	44	200		61		305	14,43	80	65,57	20	0
1B	1	122		22	36	181	0,55	67,96	67,4	12,15	19,89

Tabla 56. Número de células contadas e índices citológicos de los pacientes del grupo mucositis controles: inicio.

CITOLOGÍAS DEL GRUPO MUCOSITIS CONTROLES EVOLUCIÓN.

MUCOSITIS CONTROLES EVOLUCIÓN											
PAC	E	CP	EOS	ANF	CIAN	T	I Q	I E	I. CAR	I ANF	I CIAN
1A	17	295		9		321	5,3	97,2	91,9	2,8	0
1B			306	45		351	0	87,18	0	12,82	0

Tabla 57. Número de células contadas e índices citológicos de los pacientes del grupo mucositis controles: evolución.

No se encontró diferencia significativa en los índices de queratinización, eosinofilia, cianofilia en el grupo casos entre el inicio y el control de mejoría. Los índices del grupo controles no pudieron someterse a análisis estadístico por el escaso número de valores obtenidos.

Citologías de pacientes con aftas

Los resultados de los extendidos obtenidos en el inicio y mejoría, se exponen en las tablas 58 y 59, grupo casos; y tablas 60 y 61, grupo control. En las figuras 78 a 81 se observan fotografías clínicas de pacientes con aftas y sus citologías respectivas.

CITOLOGÍAS DEL GRUPO AFTAS CASOS INICIO.

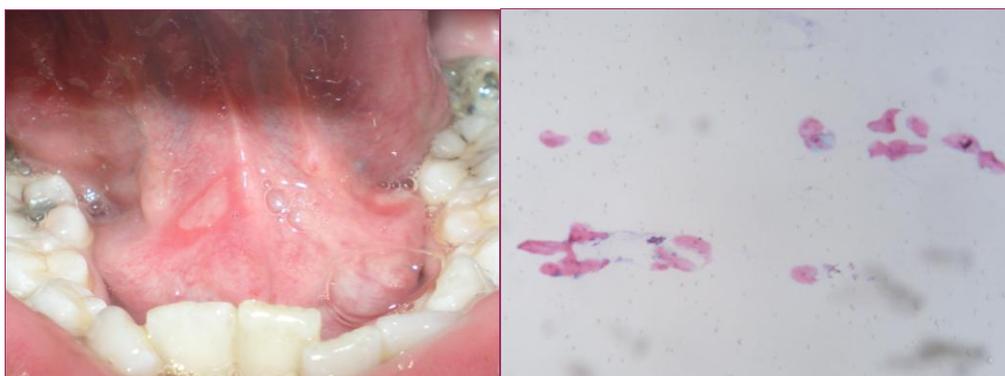
AFTAS CASOS INICIO											
PAC	E	CP	EOS	ANF	CIAN	T	I Q	I E	I. CAR	I ANF	I CIAN
1	174	3		2		179	97,2	98,9	1,7	1,1	0
1B	1	1	1	1	1	5	20	60	20	20	20
2	7					7	100	100	0	0	0
2B	4	112		30	18	164	2,4	70,7	68,3	18,3	11
3	60	260				320	18,8	100	81,3	0	0
3B		61			15	76	0	80,3	80,3	0	19,7
4	300					300	100	100	0	0	0
4B	40	73		12		125	32	90,4	58,4	9,6	0
5		340		7		347	0	98	98	2	0
5B		70	232			302	0	100	23,2	0	0

Tabla 58. Número de células contadas e índices citológicos de los pacientes del grupo aftas casos inicio.

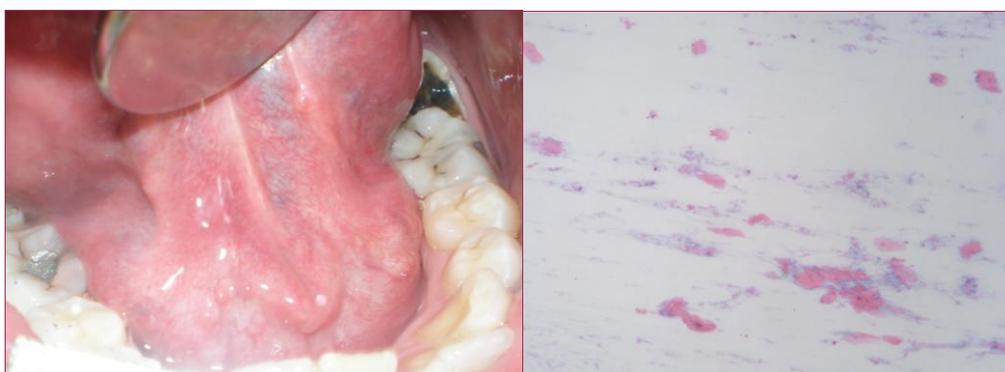
CITOLOGÍAS DEL GRUPO AFTAS CASOS MEJORÍA.

AFTAS CASOS MEJORÍA											
PAC	E	CP	EOS	ANF	CIAN	T	I Q	I E	I. CAR	I ANF	I CIAN
1	0	285	0	0	39	324	0	87,96	87,96	0	12,04
1B	6	245		48	23	322	1,86	77,95	76,09	14,91	7,14
2	18					18	100	100	0	0	0
2B		80				80	0	100	100	0	0
3	75	77				152	49,34	100	50,66	0	0
3B				87		87	0	0	0	100	0
4		9				9	0	100	100	0	0
4B		165		4		169	0	97,63	97,63	2,37	0
5	41	176				217	18,89	100	81,11	0	0
5B	2	230	73	10		315	0,63	96,83	73,02	3,17	0

Tabla 59. Número de células contadas e índices citológicos de los pacientes del grupo aftas casos mejoría.



Figuras nº 78 y 79: Foto clínica de aftas en el piso de boca del paciente MR, grupo casos, el día del inicio del tratamiento con antocianinas. Citología 4B de afta del mismo paciente: se observan escamas, células en cariopincosis y células intermedias anfófilas. (Microfotografía desde x100)



Figuras nº 80 y 81: Foto clínica del paciente MR, seis días después, en el control de mejoría. La epitelización es completa. Citología 4B del paciente en el momento de

la mejoría. Se observan células en cariopincosis predominantes, gérmenes y glóbulos blancos. (Microfotografía desde x100)

CITOLOGÍAS DEL GRUPO AFTAS CONTROLES INICIO.

AFTAS CONTROLES INICIO											
PAC	E	CP	EOS	ANF	CIAN	T	I Q	I EOS	I. CAR	I AN	I CIAN
1	0	285	0	0	39	324	0	87,96	87,96	0	12,04
1B	6	245		48	23	322	1,86	77,95	76,09	14,91	7,14
2	94	14				108	87,04	100	12,96	0	0
2B	14		236	52		302	4,64	82,78	0	17,22	0
3		222		11	8	241	0	92,12	92,12	4,56	3,32
4	23					23	100	100	0	0	0
4B	4	77		12		93	4,3	87,1	82,8	12,9	0
5	269	156				425	63,29	100	36,71	0	0
5B	68	8				76	89,47	100	10,53	0	0
6	38	9				47	80,85	100	19,15	0	0
7	230	71				301	76,41	100	23,59	0	0
7B			190	58	16	264	0	71,97	0	21,97	6,06
8	5					5	100	100	0	0	0
8B		278				278	0	100	100	0	0

Tabla 60. Número de células contadas e índices citológicos de los pacientes del grupo aftas controles: inicio.

CONTROLES MEJORÍA.

AFTAS CONTROLES MEJORIA											
PAC	E	CP	EOS	ANF	CIAN	T	I Q	I EOS	I. CAR	I AN	I CIAN
1	2		86	199	22	309	0,65	28,48	0	64,4	7,12
1B		333				333	0	100	100	0	0
2	7	186				193	3,63	100	96,37	0	0
2B	24	254		16		294	8,16	94,56	86,39	5,44	0
3	24	109		203		336	7,14	39,58	32,44	60,42	0
4		224		46	17	287	0	78,05	78,05	16,03	5,92
4B		144				144	0	100	100	0	0
5	236	96				332	71,08	100	28,92	0	0
5B	22	162	154	99		437	5,03	77,35	37,07	22,65	0
6	8	300				308	2,6	100	97,4	0	0
7	87	128				215	40,47	100	59,53	0	0
7B	30		177	27	11	245	12,24	84,49	0	11,02	4,49
8		300				300	0	100	100	0	0
8B	4			300		304	1,32	1,32	0	98,68	0

Tabla 61. Número de células contadas e índices citológicos de los pacientes del grupo aftas controles: mejoría.

La comparación del grupo control de las aftas para muestras pareadas no dio diferencias significativas para los índices de eosinofilia y cianofilia.

Resultados de la determinación de CK.

(CK1, 13 y 14)

Resultados en las biopsias de liquen bucal:

Se inmunomarcaron 4 preparados de mucosa de controles normales y 33 de pacientes con LPB.

Los controles se tomaron de mucosa no queratinizada normal, de la periferia de mucocelos extraídos de la mucosa de labio inferior. En estos se observaron los patrones habituales de marcación de la mucosa no queratinizada normal (Figura nº 82).

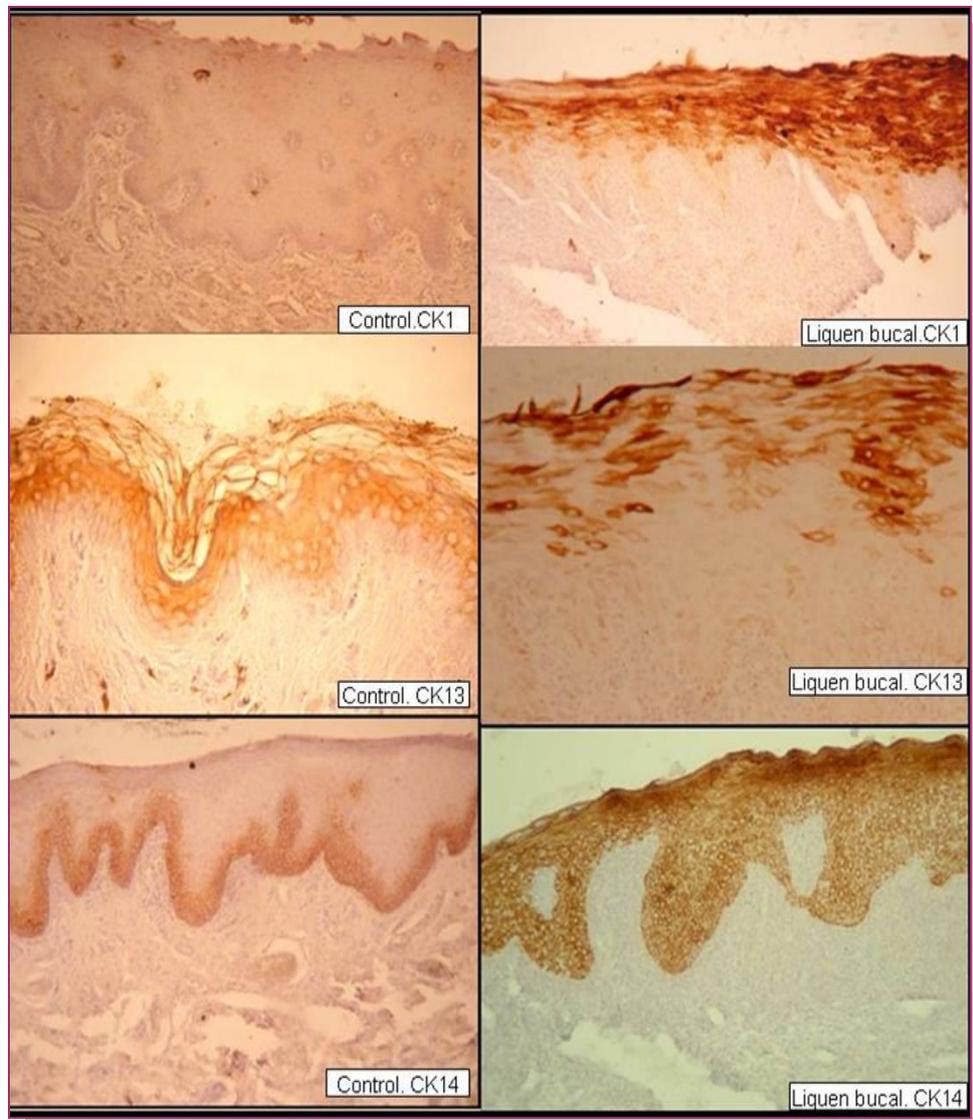


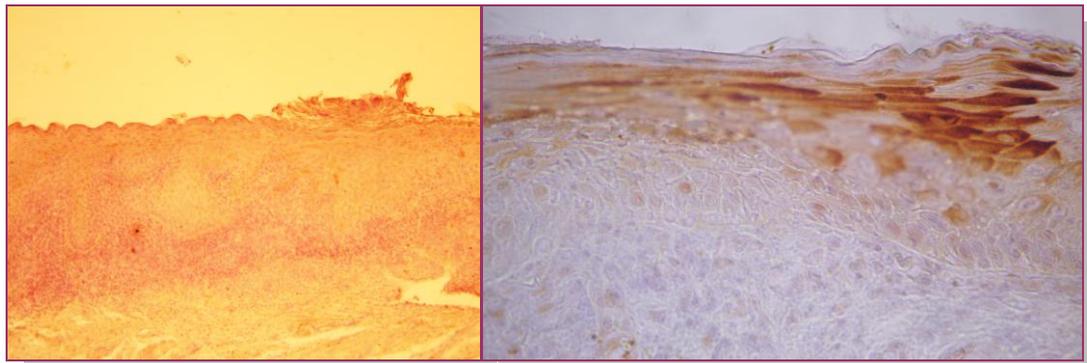
Figura nº 82. Fotos tisulares de la expresión de CK en liquen bucal y controles. (Desde x100).

Expresión de CK1 en liquen bucal.

Con CK1 marcaron 31 preparados: cinco de ellos fueron positivos para la capa basal y veinte lo fueron para las capas suprabasales. (Tabla 62, figuras 83 y 84).

Expresión de CK1 en liquen bucal			
MUCOSA	n=31	CK1	
		Basal	Suprabasal
Queratinizada	3	1	2
No queratinizada	25	3	15
Dorso lengua	3	1	3
Totales	31	5 (16%)	20(64%)

Tabla 62. Expresión de tisular de CK1 en biopsias de pacientes con LPB.



Figuras nº 83 y 84: Expresión de CK1 en todas las capas del epitelio, inclusive en la basal, en mucosa yugal de paciente con liquen erosivo. En el segundo de estos ejemplos, hay expresión de CK1 en un paciente con liquen erosivo en cara ventral de lengua: en capa basal, se acentúa en el estrato intermedio y vuelve a expresarse en la superficie.

En seis de estos pacientes las biopsias fueron tomadas de mucosa queratinizada (MQ), tres de paladar duro y tres de superficie dorsal de lengua (SDL). Las veinticinco muestras restantes teñidas con anti CK1 fueron de lesiones de liquen de mucosa bucal no queratinizada (MNQ).

En dos de los tres pacientes a quienes se les realizó biopsia de la mucosa queratinizada de paladar, CK1 fue positiva en la capas suprabasales y en uno también en la basal. El hallazgo fue similar en las tres biopsias realizadas en SDL, donde la expresión de CK1 fue positiva en la capa basal en uno de los tres pacientes y en las suprabasales en los tres.

La expresión de CK1 y CK14 fue negativa en una paciente con biopsia de MQ y positiva para CK13. Esto sugiere un cambio en el patrón de queratinización.

En condiciones normales, no se espera la expresión de CK1 en MNQ. En nuestros pacientes CK1 fue positiva en 15 muestras y negativa en 10. De los pacientes que expresaron CK1 en MNQ, 3 lo hicieron en la capa basal y suprabasal y 15 en los estratos suprabasales solamente.

Relación de la expresión de CK1 con el hábito de fumar y la ingesta de drogas.

Cuatro de los pacientes en quienes se estudió MNQ fumaban tabaco y CK1 fue positiva en todos los casos en las capas suprabasales y en 2 también en las basales. En el grupo de MNQ de no fumadores (n= 21) CK1 fue positiva en el estrato suprabasal de 10 pacientes. Las drogas ingeridas por estos pacientes incluyen: enalapril, benzodiazepinas, antiinflamatorios no esteroides, T4, calcio y alendronatos. El test exacto de Fisher no dio correlación significativa en la marcación de CK1 entre los que ingerían drogas o no, ni en relación con el número de drogas ingeridas o respecto al hábito de fumar.

Relación de la expresión de CK1 con los hallazgos histopatológicos.

Se realizó comparación de la expresión de la CK1 suprabasal en las 25 biopsias de MNQ con los hallazgos histopatológicos. Se excluyeron de esta prueba a las biopsias de MQ, debido a que esta expresión es normal en ellas.

Se examinó la presencia de hiperqueratosis/ paraqueratosis, vacuolización de la capa basal del epitelio, infiltrado en banda, necrosis de los queratinocitos, incontinencia de pigmento, displasia, exocitosis y presencia de crestas interpapilares en dientes de sierra. A cada uno de estos parámetros se lo graduó en: 0= ausente, 1= leve, 2=moderado y 3= grave. (Tablas 63 y 64).

Abreviaturas utilizadas en las tablas de las variables histopatológicas relacionadas con la expresión de CK: PAC: paciente. HQ/PQ: hiperqueratosis/ paraqueratosis, VAC: vacuolización de la capa basal del epitelio, INF BD: infiltrado en banda, NEC Q: necrosis de los queratinocitos, INC PIG: incontinencia de pigmento, DISPL: displasia, EXOC: exocitosis, D SIER: dientes de sierra. GRADOS: 0= ausente, 1= leve, 2=moderado y 3= grave.

CK1 POSITIVA EN ESTRATOS SUPRABASALES MNQ								
PAC	HQ/PQ	VAC	INF BD	NEC Q	INC PIG	DISPL	EXOC	D SIER
1	1	1	2	0	0	3	1	1
2	1	3	3	1	0	2	2	0
3	1	1	3	1	0	1	1	1
4	2	1	2	1	0	2	1	1
5	1	2	2	1	1	1	1	1
6	2	3	2	0	3	1	1	1
7	2	1	2	1	0	1	1	2
8	2	1	2	1	0	1	3	3
9	1	1	2	0	0	2	1	1
10	1	2	3	1	0	2	1	0
11	2	2	2	0	2	2	2	0
12	2	3	2	3	0	1	1	1
13	1	3	2	0	0	2	2	2
14	2	2	2	1	0	3	2	1
15	2	1	3	1	0	0	1	3

Tabla 63. Expresión de CK1 en MNQ y relación con los hallazgos histopatológicos.

CK1 NEGATIVA EN ESTRATOS SUPRABASALES MNQ								
PAC	HQ/PQ	VAC	INF BD	NEC Q	INC PIG	DISPL	EXOC	D SIER
1	1	2	2	0	0	1	1	1
2	0	3	3	0	0	2	2	0
3	1	3	3	0	0	2	2	0
4	1	2	1	1	0	1	1	1
5	1	3	3	0	0	1	2	1
6	3	1	1	1	0	1	1	1
7	2	1	3	0	0	2	1	0
8	1	1	1	1	0	1	1	1
9	1	1	3	0	0	2	1	0
10	1	2	3	1	0	2	2	1

Tabla 64. Expresión ausente de CK1 en MNQ y hallazgos histopatológicos.

Se realizó análisis estadístico, comparación de medias, de los datos obtenidos y no se encontró diferencia estadística significativa en el grado de los hallazgos histológicos entre los pacientes que expresaban la CK1 en estratos suprabasales y los que no la expresaban. (Tabla 65).

CK1 SUPRABASAL n=25								
	HQ/PQ	VAC	INF BD	NEC Q	INC PIG	DISPL	EXOC	D SIER
Dif. de Medias	p=0,25	p=0,78	p=0,65	p=0,13	no comparable	p=0,71	p=0,88	p=0,05

Tabla 65. Relación entre la expresión y ausencia de CK1 en estratos suprabasales con el grado de afectación tisular, en MNQ de pacientes con LPB.

Expresión de CK13 en liquen bucal

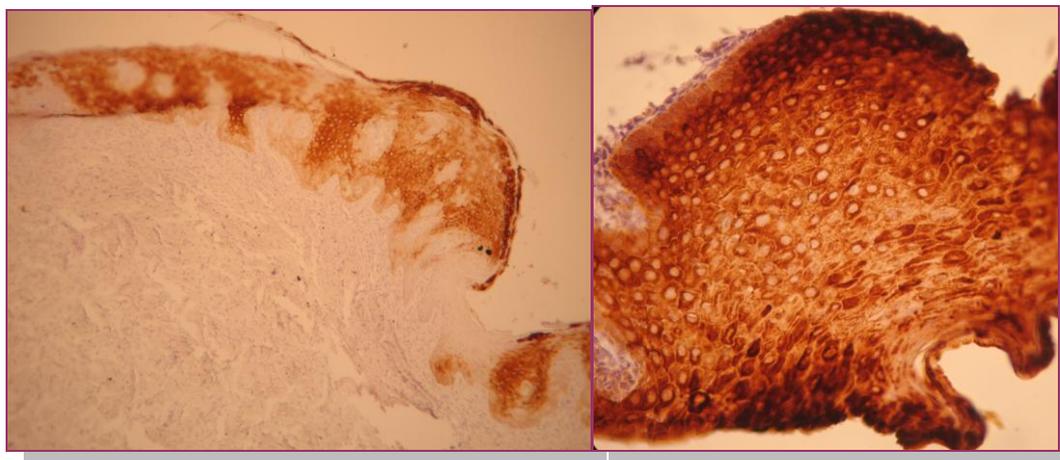
De 31 biopsias teñidas para CK13, trece fueron positivos en la capa basal y los 31 fueron positivos en las capas suprabasales, dos de ellos en forma focal. (Tabla 66).

Expresión de CK13 en liquen bucal			
MUCOSA	n=31	CK13	
		Basal	Suprabasal
Queratinizada	3	2	3
No queratinizada	25	9	25
Dorso lengua	3	2	3
Totales	31	13(42%)	31 (100%)

Tabla 66. Expresión de tisular de CK13 en biopsias de pacientes con LPB.

En MQ de paladar CK13 se expresó en 2 de 3 muestras en la capa basal y en todas las muestras en los estratos suprabasales. Idénticas cifras se obtuvieron en mucosa de dorso de lengua: 2 /3 en la capa basal y las tres muestras positivas para CK13 en estratos suprabasales. No es de esperar que CK13 se exprese en MQ, o sea que el patrón está alterado en estos pacientes con liquen bucal.

Además CK13 fue negativa en la basal de 18 muestras de MNQ y positiva en 9. Esto tampoco es normal ya que en el proceso de queratinización normal, CK 13 no se expresa en la basal. En las 25 biopsias de MNQ inmunomarcadas con CK13, la expresión fue positiva en los estratos suprabasales en todas las muestras; como es de esperar en la queratinización normal de estos epitelios. (Figuras n° 85 y 86).



Figuras n° 85 y 86: Expresión de CK 13 en lesión de mucosa queratinizada de paladar duro en paciente con liquen erosivo. En el patrón normal de queratinización esta CK no se expresa en este epitelio. La segunda imagen muestra expresión alterada de CK13 en estrato basal y normal en suprabasal en epitelio no queratinizado de mucosa bucal, en paciente con liquen erosivo.

Relación de la expresión de CK13 con el hábito de fumar y la ingesta de drogas.

No se encontró relación entre la expresión de CK13 tanto en capas suprabasales como en la basal, con el número de drogas ingeridas por los pacientes; ni con la ingesta de tabaco, analizando los datos con el test de Fisher.

Relación de la expresión de CK13 en la capa basal con los hallazgos histopatológicos.

Se realizó comparación de la expresión y la ausencia de la CK13 en las 31 biopsias en que fue positiva en la capa basal, con los hallazgos histopatológicos. Se incluyeron de esta prueba a las biopsias de MQ y MNQ, debido a que esta expresión es anormal en todas ellas. (Tablas 67 y 68).

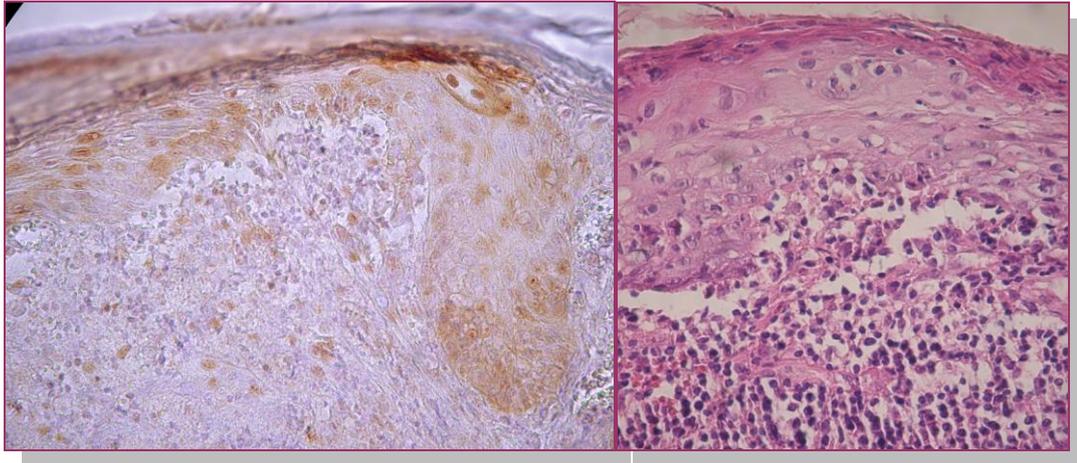
CK13 POSITIVA EN ESTRATO BASAL DE PACIENTES CON LIQUEN BUCAL (N=13)								
PAC	HQ/PQ	VAC	INF BD	NEC Q	INC PIG	DISPL	EXOC	D SIER
1	2	1	2	0	0	2	2	1
2	0	1	3	4	0	2	3	0
3	1	3	3	1	0	2	2	0
4	0	3	3	0	0	2	2	0
5	1	1	3	0	0	2	1	0
6	2	1	2	2	0	1	1	1
7	2	3	2	0	3	1	1	1
8	2	2	2	1	0	3	2	1
9	1	3	3	0	0	2	2	0
10	1	3	2	0	0	2	2	2
11	1	1	1	0	0	2	2	1
12	1	3	3	0	0	1	2	1
13	2	3	2	1	0	1	2	1

Tabla 67. Expresión de CK13 en capa basal y relación con los hallazgos histopatológicos.

CK13 NEGATIVA EN ESTRATO BASAL DE PACIENTES CON LIQUEN BUCAL (N=18)								
PAC	HQ/PQ	VAC	INF BD	NEC Q	INC PIG	DISPL	EXOC	D SIER
1	1	2	3	1	2	2	0	1
2	1	2	2	0	0	1	1	1
3	1	1	2	0	0	3	1	1
4	2	0	1	1	0	1	0	1
5	1	1	2	0	0	2	2	1
6	1	1	3	1	0	1	1	1
7	2	1	2	1	0	2	1	1
8	1	2	2	1	1	1	1	1
9	2	1	2	1	0	1	1	2
10	1	2	1	1	0	1	1	1
11	2	1	2	1	0	1	3	3
12	1	1	2	0	0	2	1	1
13	2	2	2	0	2	2	2	0
14	3	1	1	1	0	1	1	1
15	2	3	2	3	0	1	1	1
16	2	1	3	0	0	2	1	0
17	1	1	1	1	0	1	1	1
18	2	1	3	1	0	0	1	3

Tabla 68. Expresión ausente de CK13 en capa basal y relación con los hallazgos histopatológicos.

Al comparar los grados de afectación tisular, en los pacientes con CK13 positiva en la capa basal del epitelio, con los que no la expresan, se encontró diferencia significativa en la vacuolización de la capa basal (test de Mann Whitney: $p=0,023$) y el grado de exocitosis (Test t con corrección de Welch: $p=0,0025$), siendo mayor la afectación en los pacientes que expresaban CK13 en la basal en ambos casos. Estos hallazgos se encuentran ejemplificados en las siguientes figuras. (Tabla 69).



Figuras nº 85 y 86: Expresión de CK 13 en la capa basal del lesión de liquen erosivo de una paciente del grupo casos. En la histopatología de la misma paciente se encuentra marcada vacuolización de la capa basal del epitelio.

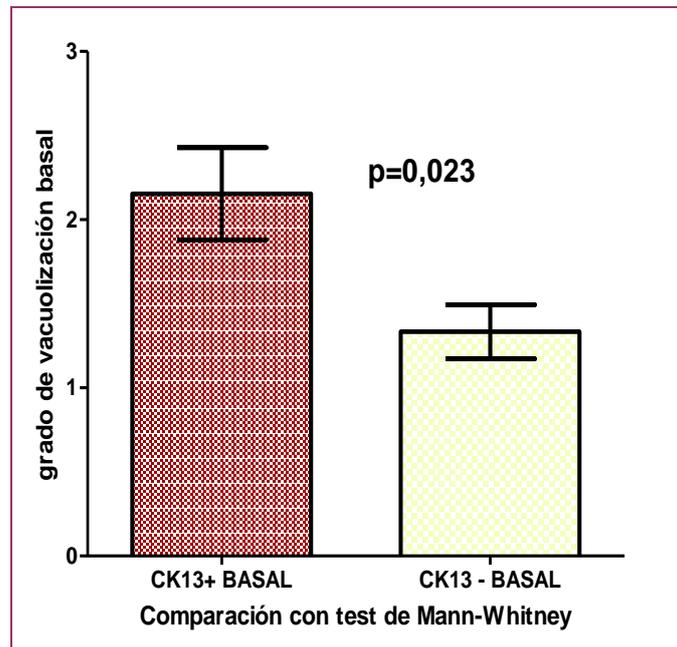
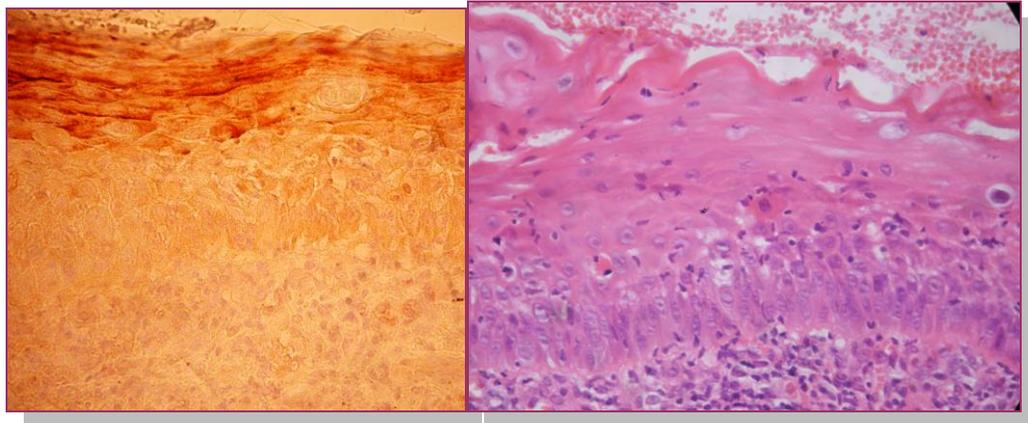


Figura nº 87. Expresión de CK13 en la capa basal y su relación con el grado de vacuolización.



Figuras nº 88 y 89: Expresión de CK 13 en la capa basal del lesión de liquen erosivo de un paciente del grupo casos. En la histopatología del mismo paciente se encuentra marcada exocitosis de linfocitos a través del epitelio.

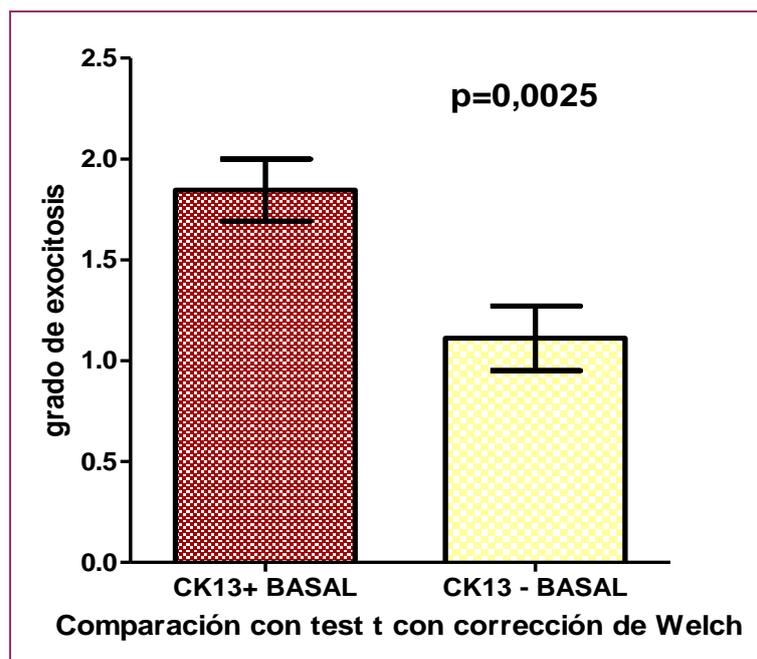


Figura nº 90. Expresión de CK13 en la capa basal y su relación con el grado de exocitosis.

CK13+ BASAL (13/31). Significancia en hallazgos histológicos.								
	HQ/PQ	VAC	INF BD	NEC Q	INC PIG	DISPL	EXOC	D SIER
Comp de medias	p=0,42	p=0,023	p=0,30	p=0,27	p=0,76	p=0,16	p=0,0025	p=0,11

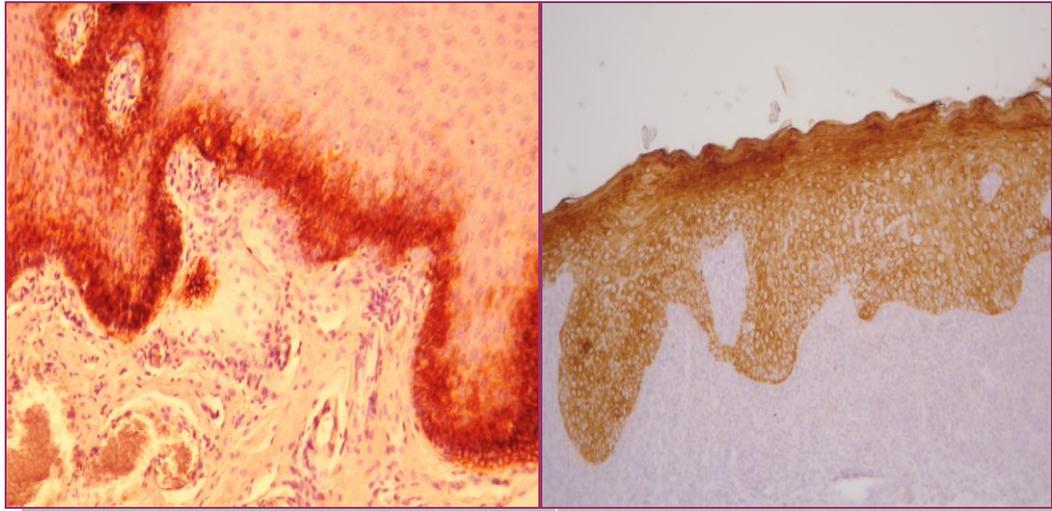
Tabla 69. Expresión de CK13 en capa basal y significancia estadística en los hallazgos histopatológicos.

Expresión de CK14 en liquen bucal

Treinta y dos preparados se inmunomarcaron para CK14, 31 de ellos fueron positivos en la capa basal y 30 en las suprabasales, en tres de ellos la intensidad fue mayor en las capas suprabasales que en la basal. (Tabla 70, figuras 91 y 92).

Expresión de CK14 en liquen bucal		
CK14 (n:32)		
Mucosa	Basal	Suprabasal
Queratinizada	2	2
No queratinizada	26	25
Dorso lengua	3	3
Totales	31 (97%)	30 (94%)

Tabla 70. Expresión de tisular de CK14 en biopsias de pacientes con LPB.



Figuras n° 91 y 92: Expresión de CK 14 en la capa basal de epitelio bucal normal, utilizado como control (desde x400). En la segunda imagen se observa la expresión de CK 14, en todas las capas del epitelio, en liquen erosivo de una paciente del grupo casos, lesión de mucosa yugal (desde x 100).

La tabla siguiente (tabla 71), muestra los datos recopilados respecto a la expresión de CK1, CK13 y CK14 en las biopsias de los pacientes con LPB antes del inicio de los tratamientos, y su relación con el número de drogas ingeridas y tabaco.

Nota: abreviaturas de la tabla 68. Suprab: suprabasal, 0 Sin expresión, + expresión baja, ++ expresión moderada, +++expresión intensa, - la expresión de CK no se obtuvo por problemas técnicos. KM: mucosa queratinizada, DST: superficie dorsal de lengua, NKM: mucosa no queratinizada, T: tabaco, n: número de drogas ingeridas.

EXPRESIÓN DE CK1, CK13 Y CK14 EN BIOPSIAS DE LIQUEN BUCAL.								
	Sitio	Drogas (n)	CK1		CK13		CK14	
			Basal	Suprab	Basal	Suprab	Basal	Suprab
1	MQ	1	0	0	0-+	+++	0	0
2	MQ	0	+	++	0-+	+----	++	+++
3	MQ	1	0	++	0	+++	+++	+++
4	SDL	T, 3	+	+	+	0-++	+	++
5	MNQ	1	0	0	0	0-+	++	0-+
6	SDL	3	0	+	++	++	+++	+++
7	MNK	T, 0	0	++	0	+++	+++	+++
8	SDL	5	0	+++	0	+----	+++	+++
9	MNQ	2	-	-	0	+++	++	0
10	MNQ	2	+	0-+	+	0-+	+	+++
11	MNQ	2	0	0	+	+++	+++	++
12	MNQ	4	0	++	0	0-++	+	+++
13	MNQ	2	0	++++	0	+++	++	++
14	MNQ	T,3	++	+++	0	+++	-	-
15	MNQ	4	0	+++	+	+++	++	+++
16	MNQ	0	0	0	-	-	++	++
17	MNQ	6	0	+++	0	++	+	+++
18	MNQ	2	0	0	++	0-+	+++	+++
19	MNQ	2	0	0	0	+++	+++	+++
20	MNQ	1	0	0	0-+	+++	+++	+++
21	MNQ	1	0	++	0	++	+++	++
22	MNQ	T, 5	0	++++	0	++	+++	+++
23	MNQ	3	0	0-+	-	-	+++	+++
24	MNQ	T,2	0	0-+	0	++	+++	+++
25	MNQ	3	0	0	0	+++	+++	+++

Tabla 71. Expresión de CK1, CK13 y CK14; relación con drogas y tabaco en biopsias de LPB.

EXPRESIÓN DE CK1, CK13 Y CK14 EN BIOPSIAS DE LIQUEN BUCAL.								
	Sitio	Drogas (n)	CK1		CK13		CK14	
			Basal	Suprab	Basal	Suprab	Basal	Suprab
26	MNQ	3	0	0-++	0	+----	+++---	+----
27	MNQ	3	0	0	0	+	++	++
28	MNQ	0	0	0	0	+++	+++---	+++---
29	MNQ	5	0	0	+	+++	++	+
30	MNQ	0	0	++	+	+++	+++	++
31	MNQ	2	+	+++	0-+	+++	++	++
32	MNQ	3	0	+++	0	0-+++	++	++
33	MNQ	T,0	-	-	0-+	0-+	++	++

Tabla 71 (Continuación). Expresión de CK1, CK13 y CK14; relación con drogas y tabaco en biopsias de LPB.

Comparación de la expresión de CK1, CK13 y CK14 en biopsias de liquen bucal en formas erosivas y no erosivas.

No se encontró diferencia significativa en la expresión de las CK cuando se comparó a los pacientes que tenían liquen erosivo, con los que tenían formas no erosivas de la misma patología. (Tabla 72).

LIQUEN BUCAL (n:33)	LIQUEN EROSIVO (n:21)	LIQUEN NO EROSIVO (n:12)	Test de exacto de Fisher
CK1 basal	3/19	2/12	(p=1)
CK1 suprabasal	10/19	10/12	(p=0,63)
CK13 basal	8/19	5/12	(p=1)
CK13 suprabasal	19/19	12/12	
CK14 basal	21/21	10/11	(p=0,34)
CK14 suprabasal	20/21	10/11	(p=1)

Tabla 72. Comparación de la expresión de CK1, CK13 y CK14 en biopsias de liquen bucal en formas erosivas y no erosivas.

Síntesis de resultados de la expresión de CK.

La expresión tisular de las tres CK se encontró alterada en los pacientes con liquen bucal. La CK1 se expresó en la capa basal en el 16% y en la capa suprabasal en el 64% de los pacientes. La expresión de CK13 se observó en la capa basal de 13 pacientes (42%), situación que no hemos encontrado descrita en la literatura. La CK14 se expresó en EL 97% de las muestras en la capa basal y en el 94% en las capas suprabasales. No hubo diferencias significativas en la expresión de CK1, 13 y 14, en cuanto a las formas clínicas de liquen bucal, ingesta de drogas o tabaco. Se encontró diferencia significativa en el grado de vacuolización de la capa basal y el grado de exocitosis, siendo mayor el grado de afectación en los pacientes donde se expresa la CK13 en la capa basal del epitelio. (Tabla 73).

Expresión de CK en liquen bucal							
MUCOSA	n=33	CK1(n:31)		CK13 (n:31)		CK14 (n:32)	
		Basal	Suprabasal	Basal	Suprabasal	Basal	Suprabasal
Queratinizada	3	1	2	2	3	2	2
No queratinizada	27	3	15	9	25	26	25
Dorso lengua	3	1	3	2	3	3	3
Totales	33	5 (16%)	20 (64%)	13 (42%)	31(100%)	31 (97%)	30 (94%)

Tabla 73. Expresión de CK 1, CK13 y CK14 en liquen bucal.

EXPRESIÓN DE CK1, CK13 Y CK14 EN CITOLOGÍAS EXFOLIATIVAS DE LIQUEN BUCAL

Se realizó determinación por inmunocitoquímica de la expresión de CK13 y CK14 en los extendidos celulares exfoliados de las zonas de lesiones bucales antes del tratamiento en el control de mejoría y en el momento del alta. (Las tablas 74, 75 y 76 corresponden al grupo caso y las tablas 77, 78 y 79 al grupo control). (Figuras: 93 a 97).

NOTA: no se subdividió en líquen erosivo y no erosivo porque el porcentaje acotado de células exfoliadas que expresaban CK, no se correspondía con los hallazgos histológicos del inicio.

Liquen grupo casos. Inicio.

LIQUEN CASOS. INICIO						
PAC	CK13+	N° total de células	%CK13+	CK14+	N° total de células	%CK14+
1	64	176	36,36	38	126	30,16
2	175	530	33,02	16	179	8,94
3	7	347	2,02	40	295	13,56
4	0	94	0,00	8	42	19,05
5	2	162	1,23	14	121	11,57
6	6	60	10,00	0	26	0,00
7	63	422	14,93	20	255	7,84
8	11	453	2,43	6	216	2,78
9	0	0	0,00	0	35	0,00
10	2	61	3,28	0	63	0,00
11	21	159	13,21	2	60	3,33

Tabla 74. Expresión de CK13 y CK14 en extendidos citológicos de pacientes con liquen del grupo casos: INICIO.

Liquen grupo casos. Control de mejoría.

LIQUEN CASOS. MEJORÍA						
PAC	CK13+	N° total de células	%CK13+	CK14+	N° total de células	%CK14+
1	30	340	8,82	14	128	10,94
2	2	88	2,27	15	73	20,55
3	47	512	9,18	13	277	4,69
4	0	0	0,00	0	0	0,00
5	3	403	0,74	5	415	1,20
6	0	24	0,00	2	47	4,26
7	5	305	1,64	0	481	0,00
8	0	284	0,00	0	125	0,00
9	0	428	0,00	8	89	8,99
10	0	5	0,00	0	23	0,00
11	0	274	0,00	0	170	0,00
12	94	225	41,78	0	300	0,00
13	31	320	9,69	49	300	16,33

Tabla 75. Expresión de CK13 y CK14 en extendidos citológicos de pacientes con liquen del grupo casos: MEJORÍA.

Liquen grupo casos. Control de alta.

LIQUEN CASOS. ALTA						
PAC	CK13+	N° total de células	%CK13+	CK14+	N° total de células	%CK14+
1	6	106	5,66	1	101	0,99
2	0	0	0,00	0	0	0,00
3	12	204	5,88	0	0	0,00
4	142	570	24,91	330	625	52,80
5	0	0	0,00	0	0	0,00
6	10	24	41,67	11	69	15,94
7	3	117	2,56	0	44	0,00
8	6	55	10,91	133	465	28,60
9	23	248	9,27	0	199	0,00
10	3	466	0,64	11	430	2,56
11	12	198	6,06		300	0,00
12	3	303	0,99	15	315	4,76
13	71	300	23,67	54	300	18,00

Tabla 76. Expresión de CK13 y CK14 en extendidos citológicos de pacientes con liquen del grupo casos. ALTA

Se comparó la expresión de CK14, ya que se considera que es la que se encuentra más alterada en las capas suprabasales por los hallazgos en su expresión histológica vistos anteriormente. No se encontró diferencia significativa en su expresión comparando los datos al inicio, en el control de mejoría y en el control al alta.

Liquen grupo controles. INICIO.

LIQUEN CONTROLES. INICIO						
PAC	CK13+	N° total de células	%CK13+	CK14+	N° total de células	%CK14+
1	0	0	0	0	5	0
2	93	435	21,38	43	364	11,81
3	8	376	2,13	18	338	5,33
4	39	389	10,03	241	241	100
5	0	161	0	0	25	0

Tabla 77. Expresión de CK13 y CK14 en extendidos citológicos de pacientes con liquen del grupo controles. INICIO.

Liquen grupo controles. MEJORÍA

LIQUEN CONTROLES. MEJORÍA						
PAC	CK13+	N° total de células	%CK13+	CK14+	N° total de células	%CK14+
1	0	302	0	0	283	0
2	23	231	9,96	132	383	34,46
3	5	347	1,44	0	68	0
4	0	0	0	0	0	0
5	6	66	9,09	1	80	1,25
6	0	260	0	12	577	2,08
7	12	357	3,36	2	72	2,78
8	0	0	0,00	0	10	0
9	3	216	1,39	0	300	0

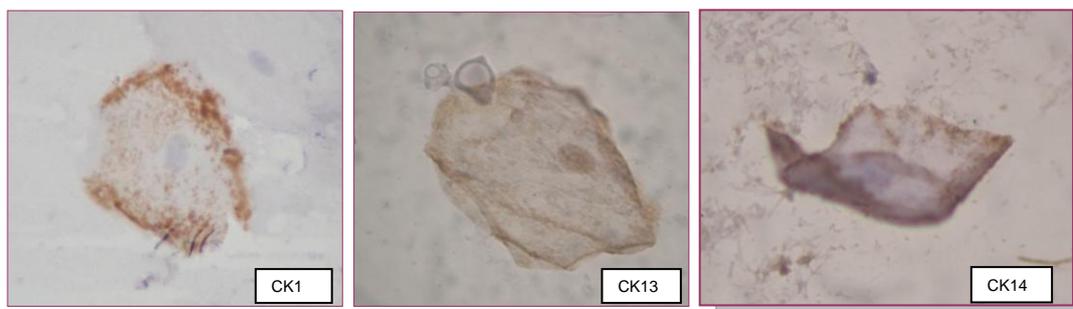
Tabla 78. Expresión de CK13 y CK14 en extendidos citológicos de pacientes con liquen del grupo controles. MEJORÍA

Liquen grupo controles. ALTA

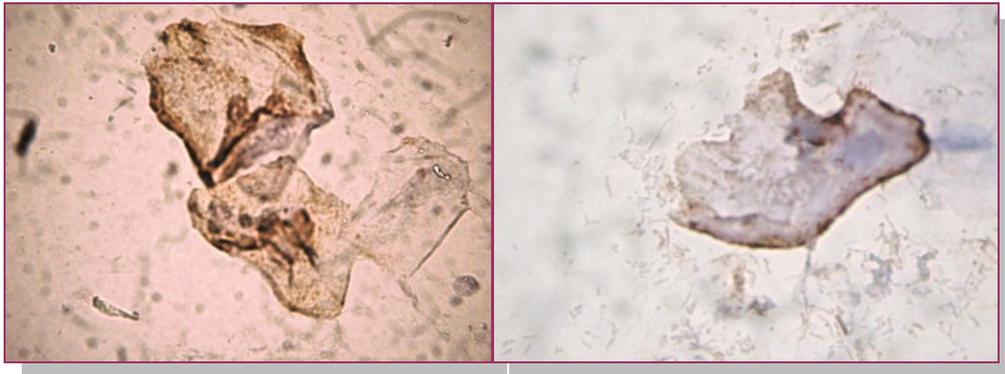
LIQUEN CONTROLES. ALTA						
PAC	CK13+	N° total de células	% CK13+	CK14+	N° total de células	%CK14+
1	313	461	67,90	17	192	8,85
2	5	305	1,64	0	222	0
3	8	353	2,27	84	382	21,99
4	0	136		0	34	0
5	0	210		0	240	0
6	15	89	16,85	8	45	17,78
7	4	304	1,32	0	300	0

Tabla 79. Expresión de CK13 y CK14 en extendidos citológicos de pacientes con liquen del grupo controles. ALTA.

Al comparar la expresión de CK14 en el grupo control no se observó diferencia significativa entre el inicio, la mejoría y al alta.



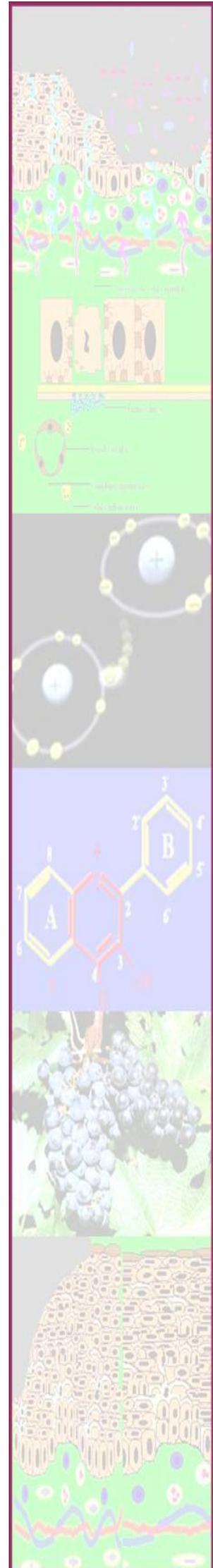
Figuras nº 93, 94 y 95: Expresión de CK1, CK13 y CK 14 en extendidos de liquen bucal. (Desde x1000).



Figuras nº 96 y 97: En la primera se observa expresión de CK13 en paciente con liquen erosivo mucosa yugal. En la segunda expresión de CK14 en célula superficial del epitelio de un paciente con liquen.

La determinación tisular de CK demostró hallazgos interesantes, tales como la alteración de los patrones de expresión en todas las capas epiteliales de las tres CK estudiadas. Esto no se correspondió con los hallazgos en la inmunohistoquímica aplicada a los extendidos citológicos. Según estos resultados no puede recomendarse esta técnica para seguimiento de los pacientes. Esto es debido a la discrepancia en el porcentaje de células teñidas en tejido, con el escaso número de células en las que se pudo ver la expresión de las CK, en los extendidos.

VI DISCUSIÓN





La inflamación es una respuesta del huésped que se activa por medio de señales de peligro exógenas⁸⁷ a través de patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs)⁸⁸ y endógenas a través de patrones moleculares asociados a daño (DAMPs).⁸⁹ Las DAMPs son moléculas preformadas, normalmente con una función intracelular bien definida, pero que son liberadas o expuestas, en respuesta al daño o al estrés. Estas moléculas pueden gatillar receptores que reconocen a estos patrones (PRRs receptores que reconocen patrones moleculares) induciendo respuestas efectoras que pueden señalar o propagar una alarma. (Figura nº 98)

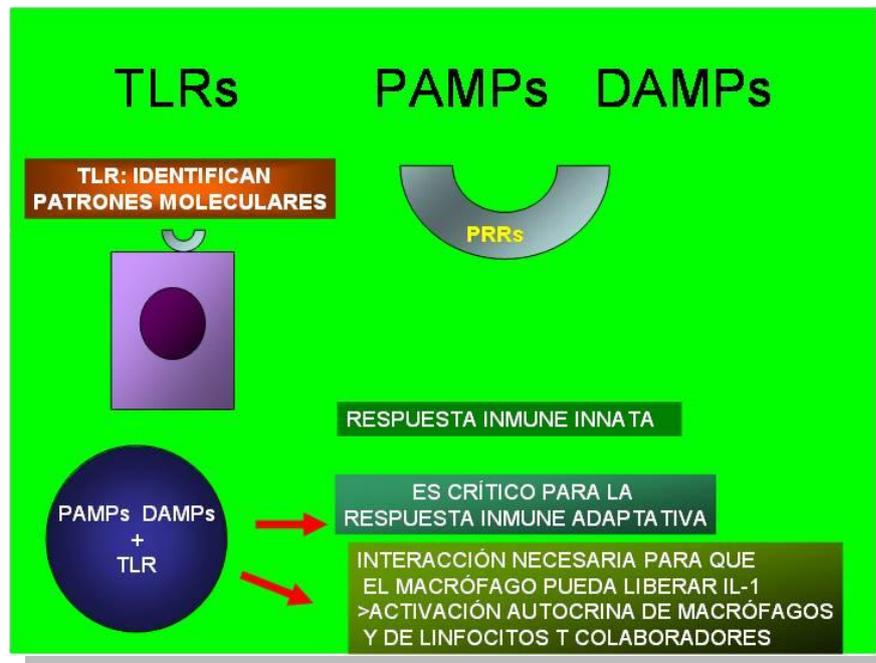


Figura nº 98. Receptores y señales de la respuesta inmune innata.

Ejemplos prominentes de estos PRRs son las familias de receptores NOD y TLR.^{90 91}

Un refinado ajuste de estos eventos es esencial para alcanzar la reparación tisular, que es la meta ideal de la inflamación. De cualquier modo las consecuencias de la inflamación pueden persistir como alteraciones tisulares estructurales y funcionales tisulares y a esto se lo reconoce como proceso inflamatorio crónico.

Este es el mecanismo fisiopatogénico descrito en las patologías orales que comprende este trabajo. (Figura nº 99)

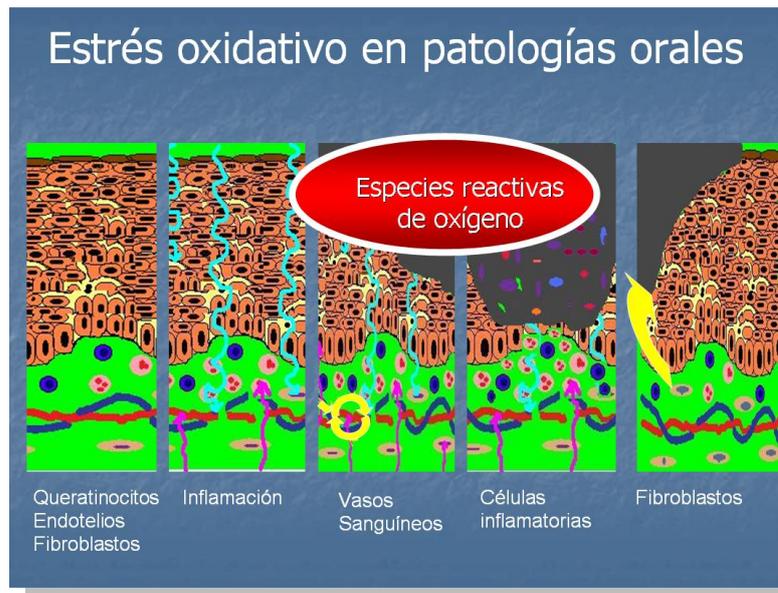


Figura nº 99. Daño oxidativo en diferentes niveles tisulares, por exceso de ROS, con acumulación de citoquinas proinflamatorias en las patologías orales.¹⁶

Numerosos compuestos antioxidantes de la dieta, presentes en frutas, vegetales y especias han sido aislados y evaluados durante los años recientes por su potencial terapéutico. Estos compuestos incluyen polifenoles flavonoides y no flavonoides, que poseen efectos beneficiosos en una variedad de alimentos. (Figura nº 100)

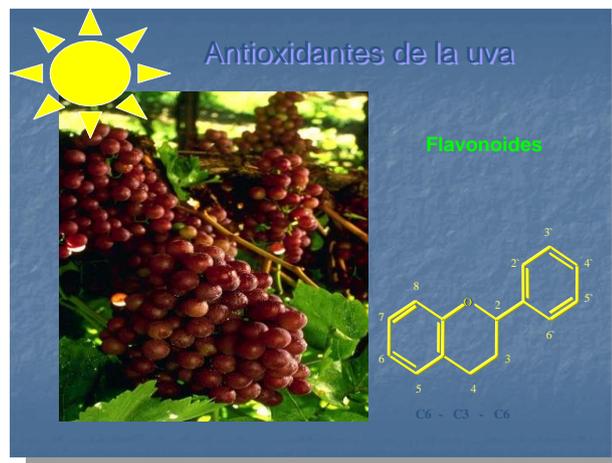


Figura nº 100. Antioxidantes de la uva. Numerosos flavonoides reaccionan con los ROS, impidiendo de ese modo las degradaciones debidas a su intensa reactividad. La capacidad antioxidante de un flavonoide depende de su estructura.

La noción de que estos productos tienen efectos promotores de la salud emergió al observar que su ingesta estaba relacionada con disminución en la incidencia de cáncer y de enfermedades cardiovasculares, neurológicas, respiratorias y relacionadas con el envejecimiento. La exposición del organismo a un medio ambiente estresante altera la sobrevivencia celular e incrementa el riesgo de desarrollar enfermedades crónicas. Los polifenoles afrontan la protección contra varios tóxicos inducidos por el estrés a través de la modulación de cascadas intracelulares que inhiben la síntesis de moléculas inflamatorias, la formación de radicales libres, el daño nuclear e inducen la expresión de enzimas antioxidantes. Estas respuestas tienen el potencial de incrementar la expectativa de vida. Dentro de los componentes más investigados se encuentran la curcumina, el resveratrol y los flavonoides.⁹² Los fitoquímicos naturales no sólo han ganado un reconocimiento significativo para el manejo potencial de condiciones clínicas sino que se evalúan como agentes profilácticos efectivos dado que pueden actuar sobre dianas celulares específicas y múltiples moléculas. A las plantas se las considera fuente abundante de fitoquímicos altamente efectivos que ofrecen potencial inhibiendo el proceso de carcinogénesis a través de la sobre-regulación de genes citoprotectores que codifican enzimas detoxicantes de carcinógenos y enzimas antioxidantes. Una visión hacia el mecanismo interno de la quimiopreención encierra la inducción del arresto del ciclo celular y la apoptosis o la inhibición de los caminos de las señales de transducción principalmente el factor nuclear-kappaB (NF-κB), las quinasas proteicas activadas por mitógenos (MAPK), la ciclo oxigenasa-2 (COX-2), y las metaloproteinasas 1-3, entre otras expresiones moleculares. (Figura nº 101)

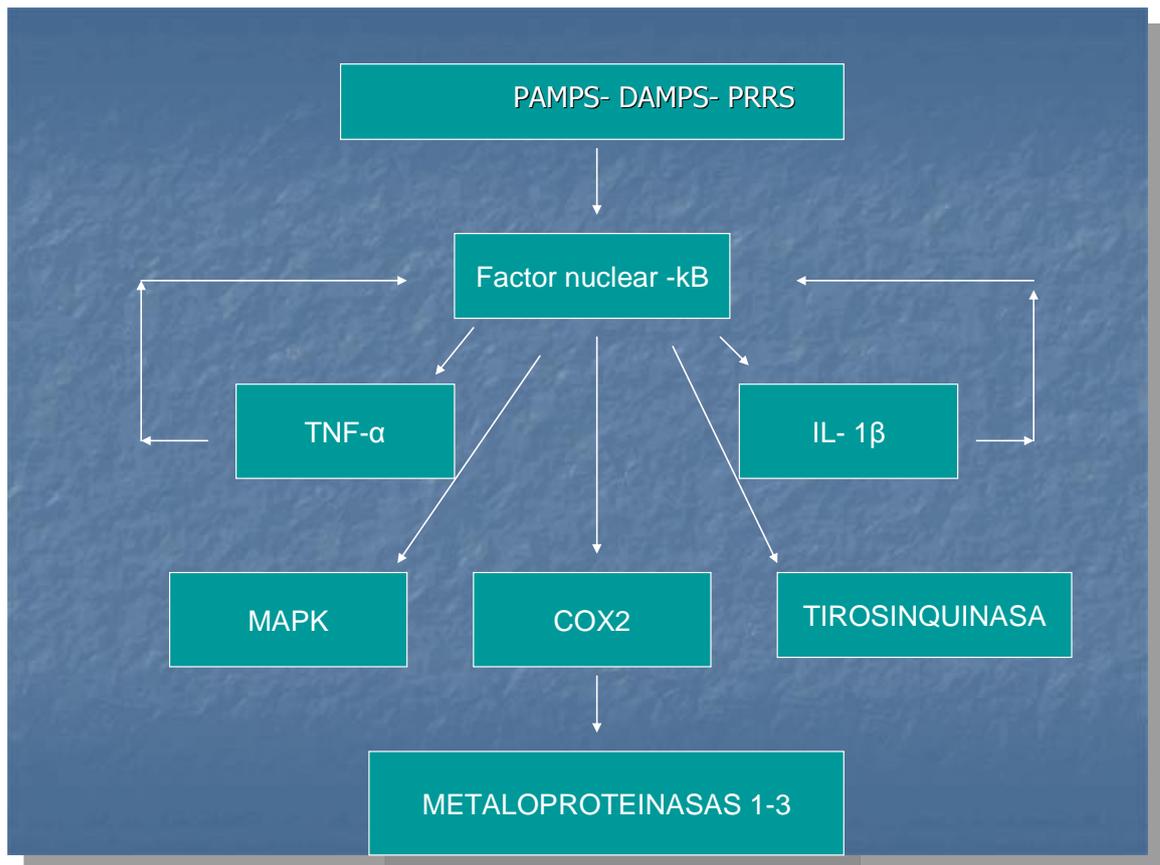


Figura nº 101. Las señales de transducción: PAMPS y DAMPS actúan sobre receptores PRRS y se desencadena a través del factor NF-κB la respuesta inflamatoria que activa interleuquinas como la IL1 β y el TNF-α, que retroalimentan al factor nuclear y se activan principalmente las quinasas proteicas MAPK, COX-2, tirosinquinasa y finalmente las metaloproteinasas.¹⁶

Sobre las bases de esta evidencia científica se ideó este trabajo dirigido a tratar patologías de la mucosa oral, donde se ha sido demostrada la presencia de la inflamación, con la consecuente formación de ROS, con una sustancia natural de efectos antioxidantes previamente expuestos y que a la vez reúne antecedentes probados de no tener efectos tóxicos.

Factores epidemiológicos sistémicos en los pacientes incluidos en este trabajo y consideraciones sobre la terapia de elección:

El mayor número de pacientes incluidos en este trabajo fueron los grupos con liquen bucal. De estos pacientes se analizaron los datos epidemiológicos de: casos, 25 pacientes y controles: 23 pacientes (total 48 pacientes). Entre los datos de mayor relevancia se observó que la edad promedio fue de 61,6 años y que padecían de otras

enfermedades concomitantes el 87,5 % de los pacientes. Las patologías acompañantes más frecuentes fueron la hipertensión arterial, la depresión, la diabetes mellitus y el hipotiroidismo. El 100% de estos pacientes con comorbilidades recibían tratamiento y el 71% lo hacían con tres o más fármacos. Esto plantea que al manifestarse una patología que compromete la mucosa bucal, y al agregar un medicamento local para realizar su tratamiento, debería considerarse una droga que no incremente el riesgo de los pacientes referido a sus patologías previas. Hasta el momento actual los corticoides locales son de elección, pero su absorción a través de la mucosa ha sido evidenciada alcanzándose con dosis terapéuticas incluso la inhibición del eje hipotálamo hipofiso adrenal (HHA). Esto ha sido demostrado en un trabajo de sesenta y dos pacientes con LPB o reacciones liquenoides; los pacientes tenían lesiones severas y fueron tratados con clobetasol de modo local tres veces por día.⁹³

Dado los conocidos efectos sistémicos de los corticoides tanto incrementando la tensión arterial, actuando en el sistema nervioso central pudiendo inducir incluso psicosis, aumentando las glucemias, e interviniendo en la regulación de los metabolismos, es de considerar que otra medicación, que tuviera los mismos efectos terapéuticos locales, o aún algo menores, pero que no dañara la salud de los pacientes, sería de gran utilidad.

Este razonamiento adquiere aún más relevancia cuando se aprecia que varias de estas patologías bucales, no sólo el liquen bucal, son de curso crónico. Las aftas, donde también se emplean corticoides locales para el tratamiento, evolucionan en brotes recidivantes a lo largo de la vida de los pacientes.

En los pacientes con liquen bucal de este trabajo, no se observaron diferencias significativas entre grupos al inicio del tratamiento, ni al comparar los valores de inicio y mejoría con respecto a las glucemias, colesterolemias y trigliceridemias. Por lo tanto en los pacientes estudiados, el tratamiento local de las lesiones de la boca, no arrojó efectos sistémicos significativos sobre glúcidos y lípidos. Tampoco se registraron en ninguno de los grupos efectos colaterales que determinaran la suspensión de los tratamientos.

Relación de tratamientos conocidos con cáncer bucal

Se originaron expectativas de una terapia local que reemplazara a los corticoides, al surgir el tacrolimus, cuyo efecto terapéutico es inferior a los corticoides, pero no tiene los efectos colaterales de los mismos. Sin embargo se ha descrito en esta droga un rol carcinogénico, que conduce a reconsiderar los beneficios de su aplicación,⁴ especialmente al conocerse el potencial premaligno del liquen oral.

Propiedades de las antocianinas favorables para estos pacientes.

Los fitoquímicos fenólicos, que incluyen a las antocianinas, protegen las comunicaciones intercelulares para modular la apoptosis y las cascadas de las señales de transducción. Moléculas disfuncionales a lo largo del camino de estas señales proveen eslabones entre la inflamación y el cáncer, y aún más regulan la angiogénesis tumoral y la invasividad. Por esto las cascadas de señales intracelulares y sus factores interactuantes se han transformado en hitos importantes en el esfuerzo de la quimioprevención del cáncer, donde los fotoquímicos fenólicos resultan promisorios⁹⁴.

Las proantocianidinas, término equivalente a antociano o antocianina, son una fracción glicosilada de un conjunto complejo de bioflavonoides que actúan como antioxidantes, se presentan ampliamente en las frutas, semillas, vegetales, flores, nueces y cortezas. Las semillas y el hollejo de uva tienen un amplio espectro de actividades biológicas, farmacológicas y terapéuticas contra los radicales libres y el estrés oxidativo. Numerosos reportes informan que tienen gran biodisponibilidad y proveen protección contra enfermedades inducidas por los radicales libres como la injuria por isquemia y reperfusión de muchos órganos, edad avanzada y carcinogénesis.^{95 96 97}

Estos antecedentes ubicarían a las antocianinas en un sitio donde no sólo se ha demostrado su falta de toxicidad, sumado al hecho de no ser inmunosupresoras, sino también un efecto quimiopreventivo del cáncer.

Respecto a nuestros pacientes con afecciones inflamatorias bucales, son necesarios estudios adicionales, para poder aseverar que esto ocurre ya que en nuestro trabajo de investigación clínica, se demostró la utilidad del tratamiento con antocianidinas, para el tratamiento del LPB, sobre todo en sus formas erosivas, donde es conocido que son potencialmente malignizables.

Factores odontológicos en nuestros pacientes y consideraciones sobre los tratamientos locales:

Entre otros datos relevantes obtenidos de la epidemiología de nuestros pacientes, se observa que los índices odontológicos muestran caries en 50% y 48% (de los casos y de los controles de pacientes con liquen bucal), pérdida de piezas dentarias con uso de prótesis, en cifras del 60% y 78% para los respectivos grupos. La placa bacteriana estaba presente en 76% de los casos y 83% de los controles y tenían cálculo el 68% y 52% respectivamente.

Este estado odontológico no es el favorable para el uso de corticoides locales al conocerse su efecto inmunosupresor, no sólo sistémico sino local.

Vale decir que sólo considerando el estado bucal de estos pacientes, se justificaría el hecho de buscar un tratamiento local, efectivo, que reemplace a los corticoides.

Es pertinente aclarar en este punto que a los pacientes de este trabajo, se les trataron los focos sépticos odontológicos y se los educó en técnicas de cepillado. Además en los que ingresaron al grupo control se les indicaron corticoide locales (CP) asociado a neomicina y nistatina.

Propiedades antibacterianas y antifúngicas de las antocianinas.

Se ha demostrado que los polifenoles de las plantas tienen efectos antibacterianos⁹⁸⁹⁹¹⁰⁰, antifúngicos¹⁰¹¹⁰² y antivirales¹⁰³¹⁰⁴. También se ha comprobado que las uvas inhiben a las bacterias, especialmente el crecimiento de *Escherichia coli* y que la inhibición aumenta a medida que la proporción de polifenoles aumenta¹⁰⁵¹⁰⁶. Los extractos libres de alcohol de vino tinto y blanco, exhibieron actividad antimicrobiana sobre algunos patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Candida albicans*¹⁰⁷. Estos resultados sugieren que los compuestos polifenólicos contenidos en los vinos tintos eran los responsables de los efectos antimicrobianos¹¹⁰.

Este aspecto activo antibacteriano y antifúngico de las antocianinas, no fue motivo de nuestra investigación. El efecto de esta sustancia utilizada en el grupo casos, se comparó en nuestros pacientes con un grupo control tratado con CP asociado a

neomicina y nistatina. Al momento del inicio los dos grupos no tenían diferencias significativas en los índices odontológicos (caries, presencia de placa bacteriana y cálculo dental entre otros) y los días hasta alcanzar la mejoría y el porcentaje de recaídas fue similar en los grupos casos y los controles (no se encontraron diferencias significativas). Sobre estos datos puede sospecharse que al efecto antiinflamatorio de las antocianinas, podría sumarse este efecto antibacteriano y antifúngico, no investigado en nuestros pacientes; del mismo modo que al grupo control se le habría agregado ese efecto a través de la neomicina y nistatina respectivamente..

Otros factores odontológicos analizados en los pacientes con liquen bucal.

La presencia de amalgamas fue analizada en nuestros pacientes ya que actualmente se la considera como un factor relacionado con el liquen bucal. Esto no se evidenció en ellos. No se encontraron diferencias significativas entre los pacientes con liquen bucal que tenían o no tenían amalgamas, ni respecto a las formas de liquen, vale decir los tipos erosivos no tenían diferencias respecto a los no erosivos, ni en la evolución respecto a la respuesta terapéutica. Como está expresado en los resultados cuatro pacientes se habían extraído las amalgamas para el momento de la mejoría, y esto no resultó ser estadísticamente significativo.

Factores clínicos observados.

Localización de las lesiones y compromiso total de la boca.

Tenían lesiones múltiples el 92% (35/38) de los pacientes con liquen erosivo y el 57% de los pacientes con liquen no erosivo (8/14).

En los pacientes con liquen erosivo (n=38), las lesiones se presentaron con mayor frecuencia en las mucosas yugales, no habiéndose encontrado diferencia significativa entre la derecha (n=24, 63%) y la izquierda (n=26, 68%). Otras localizaciones encontradas fueron: mucosa de labio inferior (n=11, 28%), superior (n=9, 23%), borde izquierdo de lengua (n= 11, 28%), borde derecho de lengua (n=10, 26%); siguiendo paladar y encía inferior (en ambos n=7, 18%), dorso de lengua y encía inferior (en ambos n=6, 15%) y en cara ventral de lengua en cuatro pacientes.

En los pacientes con liquen no erosivo (n=14) 10 pacientes tenían lesiones en mucosa yugal derecha (71%) y nueve en la izquierda (64%), cuatro en dorso de lengua (28%) y

dos en encía superior (14%) y se encontró una lesión (7%) en cada una de las siguientes localizaciones: labio inferior, cara ventral de lengua, bordes derecho e izquierdo de lengua y encía inferior.

Estos datos condujeron a evaluar los puntajes de compromiso total de la cavidad bucal (scores) a lo largo del seguimiento de los pacientes. Se examinó toda la cavidad bucal en cada consulta y se anotaba el grado de compromiso de cada localización, en la tabla para scores (Tabla 6), otorgándole un puntaje a cada lesión. Las sumatorias de estos puntajes obtenidos en cada visita del paciente, se sometieron luego a análisis estadístico. Con esto se demostró que ambos grupos de pacientes con liquen erosivo mejoraban sus scores de modo significativo, tanto con el tratamiento experimental (antocianinas) como con el del grupo control (CP). No hubo diferencia estadística en el número de días hasta alcanzar la mejoría.

Al comparar el compromiso de toda la cavidad bucal en las visitas posteriores, se registró que con las antocianinas había diferencias significativas al analizar la primera consulta (inicio del tratamiento) y las tres consultas posteriores mientras que no se pudo demostrar diferencias significativas en el grupo control entre la primera consulta y las tres posteriores.

Según estos scores de compromiso a lo largo del seguimiento, las antocianinas resultaron de mayor beneficio para el tratamiento de los pacientes con liquen erosivo que el CP asociado a nistatina y neomicina. A este hallazgo lo consideramos de gran importancia porque demuestra con significancia estadística, el buen resultado terapéutico de las antocianinas. Especialmente es para considerar que esto ocurra en los líquenes erosivos ya que se conoce que son potencialmente malignizables y que los corticoides pueden tener un efecto inclusive inmunosupresor en estos pacientes.

Este seguimiento se realizó también en los pacientes con liquen no erosivo y no se encontraron diferencias significativas, a lo largo del seguimiento con el tratamiento experimental y el tratamiento con clobetasol neomicina y nistatina. Vale decir que es de relevancia haber encontrado que el tratamiento con antocianinas tiene el mismo efecto que el realizado con el CP, que es el corticoide de más alta potencia conocido y es el tratamiento *gold standard* internacional.

Mecanismo de acción de las antocianidinas en la inflamación en general y en nuestros pacientes.

Se han publicado recientemente trabajos referidos al efecto a nivel molecular de las antocianinas. En un trabajo realizado con antocianinas extraídas de la semilla de la uva actuando en el edema inducido en oreja de ratas y en artritis en ratones, se determinó el efecto y mecanismo antiinflamatorio de las proantocianidinas. Diez mg/kg. redujeron el contenido de MAD, inhibieron a la β NAG y la actividad de la NOS y disminuyeron el contenido de NO, IL-1 β , INF α y PGE3 en el exudado del edema. El efecto inhibitorio de los indicadores mencionados fue más evidente con las antocianinas que con 2mg/Kg. de dexametasona.¹⁰⁸ La lipoperoxidación inducida por las ROS ha sido implicada en más de cien enfermedades. Se ha demostrado también que el NO, cuyo comportamiento es como ROS, es además un factor clave como mediador inflamatorio.¹⁰⁹ Las antocianinas de semillas de uvas significativamente disminuyeron la peroxidación lipídica de modo similar al que está demostrado *in vitro*.¹¹⁰ La inhibición de la lipoperoxidación y de la formación de NO es uno de los mecanismos de acción de la antocianinas. La inhibición de la formación de las citoquinas IL-1 β , INF α , sugiere que es el modo más importante en que las antocianinas pueden bloquear la inflamación ya que estas citoquinas interactúan luego con la lipoperoxidación, NO, PGE3 y ROS, dando origen por ejemplo a procesos crónicos como la artritis reumatoidea^{111 112}, pero los investigadores sugieren que el punto pivote donde actúan las antocianinas permanece aún desconocido.

Nuestro trabajo de investigación clínica, demostró la utilidad de las antocianinas pero no fue planteado para determinar el mecanismo molecular, que actuó para lograr la mejoría en los pacientes con patologías orales inflamatorias. Nuevas investigaciones serían necesarias para determinar el mecanismo de acción.

Determinación de AST y MDA en pacientes con liquen bucal.

En las determinaciones realizadas a nuestros pacientes no se encontró que el daño oxidativo se reflejara a nivel sistémico a través de la determinación en suero de AST y MDA. No hubo diferencias significativas en los valores registrados al inicio en los pacientes con liquen bucal al compararlo con los valores de individuos sanos, Tampoco

se registró que el tratamiento con antioxidantes locales en la boca, o con CP influyera en estos valores séricos, al momento de la mejoría de los pacientes.

En la bibliografía revisada respecto a la determinación de AST y MDA, hay reportes controversiales. En un estudio publicado en 2010, realizado en pacientes con LPB los niveles de MDA sérico resultaron significativamente más altos en LPB que en los controles. Los niveles de TAS fueron menores en pacientes con LPB (cuando se los comparó con sujetos normales) y los autores concluyen que sus hallazgos demuestran el compromiso de ROS en la patogenia del LPB.¹¹³ Otros autores publicaron un estudio poblacional de 9536 individuos comparados con 62 (58 reticular, 4 atrófico y erosivo) pacientes con liquen bucal. Se dosaron los niveles de antioxidantes séricos por separado (retinol, α -tocoferol, zeaxantina/luteína y criptoxantina, licopeno, α -caroteno and β -caroteno). Entre los casos los niveles séricos de retinol ($2.820 \pm 0.849 \mu\text{mol/l}$) resultaron significativamente más altos que los de los controles ($2.562 \pm 0.735 \mu\text{mol/l}$) ($P < 0.05$). No encontraron diferencias significativas en los niveles de carotenoides estudiados, excepto por un nivel menor de licopeno encontrado en pacientes con liquen atrófico / erosivo.¹¹⁴

Un tercer trabajo muestra el aumento de MDA en saliva, sin diferencia en los AST, en pacientes con liquen oral.¹¹⁵

Ante nuestros resultados podemos deducir que el análisis de las determinaciones séricas no permitió otorgar valor predictivo de las mismas en relación a la evolución de la patología. Tampoco se encontraron variaciones de los niveles séricos de AST y MDA que acompañó la evolución de los pacientes. Con estos marcadores sistémicos, no se pudo comprobar modificación en el estado oxidativo ni del daño oxidativo en los pacientes, incluso en aquellos con manifestaciones severas como formas erosivas múltiples. En quienes se realizó tratamiento local con antocianinas, el efecto antioxidante local no se detectó a nivel sistémico con estos marcadores.

Nuevos estudios con marcadores de daño oxidativo tisular local, tal vez podrían resultar de ayuda.

Estudio morfométrico en pacientes con liquen bucal

En la revisión bibliográfica no hemos encontrado trabajos con medición de las áreas afectadas para estudiar a los pacientes con liquen. Los estudios morfométricos encontrados se refieren a mediciones con microscópicas¹¹⁶.

Esta metodología de trabajo demostró que las áreas afectadas en los pacientes con liquen erosivo mejoraban en un mayor porcentaje en los tratados con antocianinas. No hubo diferencia significativa en las áreas medidas entre los grupos casos y controles al inicio ($p=0,49$). Al comparar las áreas afectadas al inicio con las áreas medidas en el momento de la mejoría en el grupo tratado con antocianina se encontró una marcada mejoría clínica con una diferencia estadística extremadamente significativa ($p<0,0003$). En el grupo control también hubo mejoría clínica, medida a través de las áreas afectadas, siendo la diferencia estadística muy significativa ($p=0,0035$). Se encontró diferencia significativa en los porcentajes de mejoría de las áreas afectadas, siendo mejores las respuestas terapéuticas al tratamiento con antocianinas que las respuestas al uso de CP-nistatina y neomicina ($p=0.02$).

En el grupo de pacientes con formas no erosivas de liquen bucal, se encontró mejoría en los porcentajes de áreas afectadas en todos los pacientes incluidos en los grupos casos y control, salvo en un paciente del grupo control donde hubo empeoramiento del área medida. En el análisis estadístico de estos datos no pudo demostrarse diferencia significativa entre las superficies de las áreas afectadas al inicio y las superficies medidas en el momento de la mejoría. Es de mencionar que el número de pacientes con liquen no erosivo, fue menor que en nuestros pacientes con formas erosivas de la enfermedad, y eso puede haber influido en que a pesar de notar diferencias clínicas, no se hayan notado niveles de significancia estadística.

En los pacientes afectados con síndrome de ardor bucal se incluyen cinco pacientes tratados con antocianinas y tres tratados con vitamina E local. No hubo diferencias en los grupos seleccionados, entre casos y controles al inicio. En el control de mejoría 100% de los pacientes del grupo casos refirió mejoría en este control y 66.7% de los del grupo control refirieron mejoría. La respuesta impresionó como buena en el grupo de los pacientes con tratamiento experimental y regular en los del grupo control. Vale decir que aunque notamos diferencia clínica en nuestros pacientes tratados, tanto en los casos como en los controles, no pudo demostrarse significancia estadística en ninguno de estos grupos.

Respecto a los pacientes con mucositis, se pudo incluir un total de seis pacientes, cinco casos y un control, no pudiendo alcanzarse valores comparables que resulten en conclusiones precisas.

Referido a la citología exfoliativa no pudimos encontrar diferencias cualitativas ni cuantitativas que pudieran contribuir con el diagnóstico o el curso evolutivo de las enfermedades inflamatorias orales,

Por las observaciones realizadas en este trabajo, pensamos que la citología exfoliativa es un método útil para el diagnóstico y seguimiento de los pacientes con otras afecciones orales. Resulta muy útil este método en las virosis orales, por ejemplo en los pacientes con herpes, ya que en caso de pacientes inmunosuprimidos, se suele confirmar el diagnóstico clínico con este método que, disponiendo de un laboratorio para realizar las tinciones, resulta rápido y se puede iniciar de modo inmediato el tratamiento. En otras afecciones infecciosas, especialmente en las que hay que realizar intervención terapéutica inmediata, como las mucormicosis también resulta un medio auxiliar diagnóstico importante, por la celeridad del método. Sin embargo para las patologías estudiadas en este trabajo, o sea las afecciones inflamatorias, no resultó un método definitivo, aún cuando se estudió exhaustivamente de modo cuantitativo. Se eligieron los índices de eosinofilia y anfofilia para las comparaciones porque son los que resultan más representativos del grado de madurez.

En relación con CK, encontramos en las biopsias de los pacientes con LPB que la expresión tisular de las CK1, 13 y 14 están alteradas. Las causas de estas alteraciones no han sido explicadas hasta la fecha. No se encontró con el test exacto de Fisher que esto estuviera asociado con las formas clínicas de la patología, ingesta de drogas o hábito de fumar.

La CK1 se expresó en la capa basal en el 16% y en la capa suprabasal en el 64% de los pacientes de nuestro trabajo. En 1999, Chaiyarit y colaboradores, analizaron la expresión CK1/10 en LPB. Ellos encontraron que la expresión de CK1/10 en las capas basales y suprabasales del epitelio fue significativamente mayor en el LPB que en los fibromas. Se halló una correlación evidente entre la expresión de HSP60 y las CK1/10 en las células basales epiteliales del LPB. Propusieron, estos autores, una hipótesis para la patogénesis del LP: en un individuo genéticamente predispuesto, un hapteno originado en la flora microbiana oral, puede conducir a una respuesta inmune mediada

por célula con un infiltrado subepitelial de linfocitos T. La generación de citoquinas por estas células puede regular positivamente la expresión de HSP60 en los queratinocitos basales adyacentes. Si el individuo está predispuesto a reaccionar a la HSP60 debido a que posee ciertos antígenos HLA como el HLA-Bw57 o el HLA-DR2, entonces una segunda reacción inmune seguirá con el desarrollo de linfocitos T citotóxicos cuyo blanco son los queratinocitos basales causando su destrucción.¹¹⁷ En nuestro estudio no se realizó determinación de HSP60, pero sí de CK1. La expresión de CK1, que estos autores encontraron en correlación directa con HSP60, en nuestros pacientes mostró baja expresión en la capa basal. Esto diverge con el hallazgo de Chaiyarit¹¹⁷ y colaboradores y según lo encontrado en nuestros pacientes no puede sustentar la teoría que la involucra a CK1-HSP60 como pivote en la patogenia, dado que se expresa en sólo 16% de las biopsias nuestros pacientes. Esto coincide con los hallazgos de Bloor y colaboradores, ya que en su casuística CK1/10 se expresaron en sólo 4 de 15 casos, mostrando distribución heterogénea en las capas suprabasales superficiales pero sin expresión en las capas parabasal e inferiores de la espinosa⁷².

Bloor y colaboradores⁷² estudiaron las CK4, 13, 1 y 10 en LPB y en queratosis orales no displásicas. Las queratosis que afectan el epitelio oral, por ejemplo, causada por fricción o por tabaco, se asocian con un patrón de diferenciación alterado, de no queratinizante a para u ortoqueratinizante. La síntesis de CK1 y CK10 estaban aumentadas en el epitelio ortoqueratósico. Según estos autores, es posible que el aumento de la síntesis de CK1 y CK10 en la mucosa oral pueda tener significancia en la protección de la mucosa frente a un mayor daño. Esta teoría, no explica el hallazgo de la expresión de CK1 suprabasal en el 64% de nuestros pacientes con LPB, en mucosa no queratinizada, que normalmente no expresa esta CK. CK1 se expresó en nuestros pacientes con liquen erosivo y no erosivo, sin diferencias estadísticamente significativas entre estas formas clínicas del LPB. Especialmente las formas erosivas, que a la vez fueron las más numerosas de nuestro trabajo, tienen mayor daño de la mucosa, pero no expresan una protección basada en la ortoqueratinización.

En el trabajo de Bloor y colaboradores⁷² reportan que en la mucosa oral paraqueratósica, con o sin infiltrado inflamatorio, la expresión de genes de CK4/13 reflejó el perfil del epitelio oral normal. Sin embargo, este patrón persistió más allá del aumento de expresión de CK1/10. La co-expresión de CK1/10 con las CK4/13 fue

visualizada en el mismo grupo de células. Esta misma co-expresión de CK1 con CK13/14, se encontró en nuestros pacientes.

No está claro por qué hay cierta dominancia de la CK1 sobre la CK10 dentro del par co-expresado, no sólo en las lesiones queratósicas sino también en el epitelio bucal normal. El punto de vista clásico es que en una célula dada debería haber cantidades equimolares de las CK tipo I y tipo II. Se podría sugerir que un exceso de una de las CK del par puede ser compensado por un incremento de otra CK de otro par. Es posible que otra CK, como por ejemplo la CK13, pueda ser una pareja alternativa para los excesos de CK1. Esto explicaría lo que se observa en la figura nº 64, medio derecha (liquen bucal CK13), de nuestra casuística, donde la CK13 está presente con disminución de la marcación en la parte más profunda del estrato espinoso y mayor tinción hacia las porciones más superficiales del mismo.

En nuestros pacientes la expresión de CK13 se observó en la capa basal de 13 pacientes (42%), situación que no hemos encontrado descrita en la literatura. Al comparar la expresión de las CK con el grado de afectación histopatológica, se encontró diferencia significativa en el grado de vacuolización de la capa basal ($p=0,023$) y el grado de exocitosis ($p=0,0025$), siendo mayor el grado de afectación en los pacientes donde se expresa la CK13 en la capa basal del epitelio. Esto no ha sido reportado previamente en la literatura revisada.

En el año 2005, Brunotto y colaboradores⁶⁸ hallaron inmunomarcación positiva para CK14 en los estratos superficiales de la mucosa oral de lesiones de LPB y neoplásicas, por lo que estos autores proponen que la inmunomarcación positiva o la sobreexpresión de esta CK en los estratos epiteliales superficiales deberían ser suficientes indicadores de malignidad como para realizar exámenes posteriores.⁶⁸

Coincidente con nuestros hallazgos respecto a CK14, son los de Jacques y colaboradores; ellos estudiaron en el año 2009. CK 14 en veintitrés biopsias y dio positiva en ambas capas en todas las muestras.⁶⁹

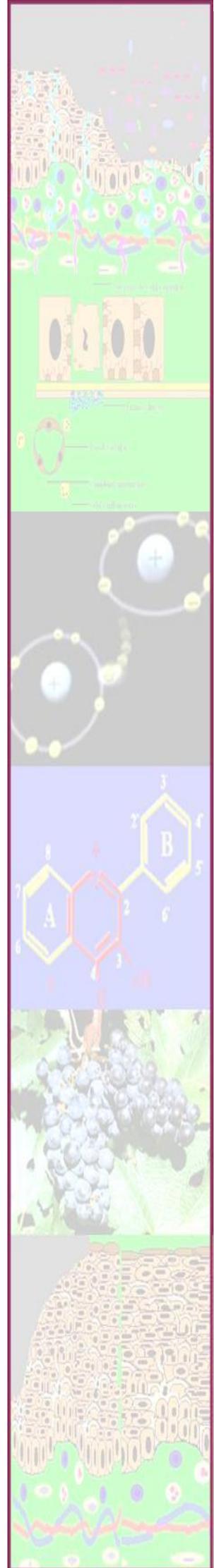
En 2010, Donetti y colaboradores demostraron que el patrón de expresión de CK14 fue similar en los no fumadores y en los fumadores.¹¹⁸ Esto es coincidente con nuestros hallazgos donde no hemos encontrado diferencia significativa en la expresión de CK14 entre fumadores y no fumadores. En el presente trabajo demostramos la presencia de CK14 en la capa suprabasal del epitelio en el 94% de los preparados de LPB. No

coincidimos con Brunotto y colaboradores⁶⁸ en que este hallazgo sea suficiente para pensar que el paciente pueda desarrollar un carcinoma, puesto que, aunque se acepta que el LPB tiene potencial de malignización, esto sería en alrededor del 5% de los pacientes. Tan sólo uno de nuestros pacientes, con liquen erosivo, de esta serie, desarrolló con posterioridad un cáncer sobre sus lesiones de LPB.

De todos estos hallazgos respecto a la expresión tisular de CK en LPB, el que pensábamos de mayor interés para realizar el seguimiento de los pacientes, fue la expresión de la CK14. Esto es porque en los nuestros controles sanos no se encontró en las capas suprabasales del epitelio, tal como refiere la literatura que ocurre en epitelios normales. Si se expresó CK14 en nuestros pacientes con LPB en el 94% de la muestras en la zona suprabasal. Se creyó entonces que en nuestra muestra de pacientes con LPB, se podía analizar la expresión de CK, en células exfoliadas y que en teoría en el control inicial un alto porcentaje de las células de extendido deberían expresar CK 14 y en el control de mejoría podría haber disminuido el porcentaje de expresión de esta CK.

Se realizó la comparación de la expresión de las CK, no sólo de la 14 sino de las tres CK estudiadas y no se encontró diferencia significativa para CK1, 13 o 14 al someter a análisis estadísticos los resultados obtenidos en los extendidos del inicio, control de mejoría y control de alta de los pacientes. Nuevos esfuerzos tratando de encontrar estas moléculas expresadas en las células descamadas del epitelio bucal, basados en el ajuste de esta técnica o en el desarrollo de nuevas técnicas, podrían ayudar a desarrollar este método de seguimiento para estos pacientes.

VII CONCLUSIONES





e evaluaron 52 pacientes con LPB, 38 presentaban formas erosivas de la enfermedad y 14 de tipo no erosivo; 8 pacientes con síndrome de ardor bucal, 6 pacientes con mucositis, y 15 pacientes con aftas. (TOTAL: 81).

No hubo diferencias significativas entre los grupos casos y controles, en la muestra elegida, en las variables evaluadas en esta investigación en las patologías seleccionadas.

A continuación se describen las conclusiones extraídas del análisis de los datos del examen clínico protocolizado, la analítica de rutina y los estudios morfométricos, citológicos, de inmunohistoquímica y las determinaciones de AST y MDA realizadas a los pacientes incorporados al protocolo. Las descripciones se realizan agrupando a los pacientes según sus patologías.

PACIENTES CON LPB

Antecedentes de ingesta de drogas y presencia de amalgamas.

Referido a la ingesta de drogas, el 87,5% de los pacientes tienen comorbilidades e ingieren al menos una droga para su tratamiento. El 71% de los pacientes incorporados a la muestra ingieren tres o más fármacos. Esto adquiere importancia para realizar la elección del tratamiento debido a los efectos colaterales de los corticoides.

Respecto a la presencia de amalgamas, en el total de los pacientes con LPB, de todos los tipos, no hubo diferencia significativa entre los pacientes que tenían amalgamas y los que no tenían amalgamas en el control de inicio, ni entre el número de amalgamas presentes en los pacientes con LPB erosivo versus no erosivos.

Tanto en los pacientes con **liquen erosivo**, como en los pacientes con **liquen no erosivo**, tampoco hubo diferencia con significancia estadística respecto al número de amalgamas entre los casos y los controles al inicio; ni al comparar entre el inicio del tratamiento y el control de mejoría tanto en casos como en controles.

Con estos datos se puede deducir que en nuestros pacientes con LPB la presencia o no de amalgamas, no influyó en el curso de la enfermedad, la diferencia de

medias en los días hasta alcanzar la mejoría no tuvo significancia estadística al comparar a los pacientes que se realizaron la extracción de las amalgamas con los que permanecieron con las mismas restauraciones que al inicio. Esto no descartaría a las amalgamas como desencadenantes o iniciadoras del LPB, sino que una vez desarrollada la patología no se pudo comprobar que la extracción de las amalgamas o la ausencia de las mismas previo al inicio de los tratamientos, influyera en el curso evolutivo referido al número de días que necesitaron los pacientes hasta alcanzar la mejoría.

Compromiso total de la cavidad bucal.

Pacientes con **LPB erosivo**: del análisis de los puntajes de compromiso de la cavidad bucal total (scores), se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos después de realizar los tratamientos. En la evaluación de inicio analizando el número de lesiones entre los pacientes con LPB erosivo del grupo casos versus los pacientes del grupo control, el test de Student con corrección de Welch no dio diferencia significativa.

Los pacientes con LPB erosivo del grupo tratado con antocianinas (CASOS) mostraron diferencia significativa en el análisis de la varianza (ANOVA) al ser evaluadas las lesiones al inicio y en las tres consultas evolutivas posteriores.

Los pacientes con LPB erosivo del grupo control no mostraron diferencias significativas entre la evaluación de inicio y las evoluciones de sus puntuaciones de compromiso total de la cavidad bucal.

Pacientes con **LPB no erosivo**: en el compromiso total de la cavidad bucal no se encontraron diferencias significativas al comparar la puntuación (score) al inicio y en las consultas sucesivas tanto para los pacientes del grupo casos como para los pacientes del grupo control.

Evaluación del dolor

Se encontraron diferencias significativas del dolor entre el inicio y control de mejoría de los pacientes con **LPB erosivo** tanto en los casos como en los controles. Aunque se percibe una tendencia a una mejor respuesta con las antocianinas, no

hubo diferencia significativa en el grado de dolor entre los grupos al inicio ni en el momento de la mejoría entre ambos tratamientos.

Al analizar el grado de dolor en los pacientes del grupo casos con **LPB no erosivo**, la diferencia de las medias entre los grupos, casos al inicio y casos en la mejoría, a dos colas da diferencia significativa.

En la comparación del grado de dolor en los pacientes con **LPB no erosivo**, del grupo control, entre el inicio y la mejoría, no dio diferencia significativa.

Días de tratamiento transcurridos desde el inicio hasta alcanzar la mejoría.

En los pacientes del grupo casos con **LPB erosivo** comparando la media de días para alcanzar la mejoría con los pacientes del grupo control, no hubo diferencia significativa entre los dos grupos.

Tampoco se encontraron diferencias entre los pacientes del grupo casos y los controles con respecto a los días desde inicio de tratamiento hasta alcanzar la mejoría en los pacientes con **LPB no erosivo**.

Recaída

Hubo **recaída** en el 30% del grupo casos y en el 30% del grupo control.

En los pacientes con LPB erosivo no se encontró diferencia significativa entre los grupos casos y control.

Recaída en pacientes con LPB no erosivo: no se encontró diferencia significativa entre los grupos.

En todos los grupos la principal causa estuvo relacionada con la falta de higiene oral, complicaciones (micosis, la más frecuente) y la persistencia de trauma local y hábito tabáquico.

Conclusiones de la determinación de AST y MDA.

En los pacientes con LPB erosivo, no se encontraron diferencias significativas en las determinaciones de AST comparando: casos y controles al inicio y al final del tratamiento. Para las determinaciones de MDA, tampoco hubo diferencia.

En los pacientes con LPB no erosivo tampoco se encontraron diferencias significativas en las determinaciones de AST ni para las determinaciones de MDA.

Tampoco se encontraron diferencias significativas al comparar a los grupos en estudio, erosivos y no erosivos, con muestras extraídas de controles sanos.

Con esto se deduce que no hay diferencias significativas en los pacientes con LPB tanto erosivo como no erosivo, en sus valores de AST y MAD cuando se los compara con controles sanos. El tratamiento con antocianinas no produce alteración de los niveles séricos de AST ni de MAD, al igual que el tratamiento con CP local para el LPB tanto en las formas erosivas como en las no erosivas.

Esto indicaría que el efecto antioxidante de las antocianinas utilizadas de modo local en la mucosa bucal, no se traduce en las determinaciones séricas de antioxidantes totales del paciente, es de suponer con este parámetro que no se absorben cuando se las aplica con la metodología utilizada en este trabajo. El CP, tampoco influiría en los AST al final del tratamiento, cuando se lo utiliza en crema en la boca. La determinación de daño tisular a través del MDA sérico, no reveló diferencias significativas en ninguno de los casos. No se pudo comprobar por lo tanto que el estrés oxidativo descrito en la patogenia de esta enfermedad tenga manifestación sérica sistémica.

Análisis morfométrico

Al comparar las áreas afectadas al inicio con en el control de mejoría, la diferencia morfométrica, de las lesiones de pacientes con **LPB erosivo** que recibieron tratamiento con antocianinas (**casos**) resultó extremadamente significativa ($p < 0.0001$).

Para el grupo control de LPB erosivo también hubo diferencia muy significativa ($p = 0,0022$).

Comparando los porcentajes de mejoría entre casos y controles de pacientes con LPB erosivo, la diferencia fue significativa ($p = 0.02$), siendo mayor el porcentaje de mejoría para el grupo casos.

En los pacientes con LPB no erosivo, no se pudo demostrar diferencia significativa entre las mediciones de áreas afectadas al inicio y al control de mejoría del tratamiento tanto en los casos como en los controles (p=0.07).

LIQUEN EROSIVO	AMALGAMAS	SCORE	DOLOR	DÍAS	RECAIDA	TAS-MAD	ÁREAS
CASOS	PNS	P=0,003	P=0,001				P<0,0001
Casos vrs Controles	PNS	PNS	PNS	PNS	PNS	PNS	p=0.02
CONTROLES	PNS	PNS	P=0,01				p=0.0022
LIQUEN NO EROSIVO							
CASOS	PNS	PNS	p=0,03				
CONTROLES	PNS	PNS	PNS	PNS	PNS	PNS	PNS

Tabla 80: Diferencias estadísticas significativas en los resultados al comparar los grupos.

Control final

Con respecto al control final realizado a los pacientes con LPB erosivo no se encontraron diferencias significativas al tratar a los pacientes con antocianinas respecto a los tratados con CP, respecto al número de días, persistencia de las lesiones, curación o empeoramiento de las mismas. Tampoco hubo diferencias referidas a la mejoría del dolor. Considerando que el número de pacientes que asistieron al control final fue menor que los que se evaluaron en el control de mejoría: pacientes con LPB erosivo, 14 del grupo casos y 13 del grupo control, se puede inferir que este menor número de pacientes pueda haber influido en que la

tendencia a una mejor respuesta con las antocianinas, no alcanzó el nivel de significancia estadística.

Se consideró que la respuesta fue buena en 12 de 14 (85%) pacientes con LPB erosivo del grupo casos y en 9 de 13 (69%) del grupo control. La respuesta fue mala en el 14% del grupo casos y en el 23% del grupo control.

En los pacientes con LPB no erosivo tampoco se encontraron diferencias significativas cuando compararon los tiempos de tratamiento, la mejoría de las lesiones y la mejoría de los síntomas.

PACIENTES CON SÍNDROME DE ARDOR BUCAL, MUCOSITIS Y AFTAS.

No se encontraron diferencias significativas en ninguno de los aspectos evaluados en los pacientes tratados con antocianinas versus los tratados con los tratamientos de primera elección conocidos a la fecha. Esta ausencia de diferencia, podría atribuirse a que la muestra fue de un menor número de pacientes.

En la muestra estudiada, no se observaron efectos colaterales en ninguno de los grupos, tanto con el tratamiento experimental como con los de control. El corticoide local utilizado para comparar el efecto de las antocianinas fue el CP que es el de mayor potencia conocida, en la actualidad, Se administró siempre asociado a neomicina y nistatina. Se demostró en este trabajo que las antocianinas fueron de utilidad para tratar afecciones inflamatorias orales, especialmente el liquen oral y las aftas. En las aftas se encontraron (desde la significación estadística) los mismos resultados que con CP- neomicina- nistatina respecto a la mejoría del dolor y al tiempo transcurrido para alcanzar la mejoría. En los pacientes con liquen no erosivo la mejoría del dolor fue más óptima con las antocianinas (con significancia estadística), el tiempo transcurrido hasta alcanzar la mejoría, la evolución y las recaídas no tuvieron diferencia estadística entre los dos tratamientos. En los pacientes con liquen erosivo: la mejoría del dolor, el tiempo hasta alcanzar la mejoría y el porcentaje de recaídas fue la misma con los dos tratamientos (pNS), La evolución, demostrada tanto con estudios

morfométricos como con score de compromiso bucal total, fue mejor con las antocianinas que con CP neomicina-nistatina, con diferencia estadísticamente significativa.

Se considera favorable el hallazgo de que el tratamiento de estas afecciones con un producto natural, presente en la dieta, como antocianinas, tenga el mismo resultado terapéutico que los tratamientos convencionales, sin los efectos colaterales de algunos de ellos, referidos en la literatura, como los de los corticoides.

Con lo expresado hasta aquí se respondió al:

Primer punto de la formulación del problema a investigar:

1 ¿La utilización local de antioxidantes derivados de la uva, mejoran la evolución de las patologías bucales con estrés oxidativo?

La respuesta es afirmativa: las antocianinas mejoran la evolución de las patologías bucales con estrés oxidativo. Se alcanzan mejores resultados con las antocianinas que con el clobetasol en los scores de compromiso total en las formas de liquen erosivo y también en la mejoría del dolor de las formas de liquen no erosivo. La mejoría es igual que con los corticoides (no tiene diferencia significativa) para los otros parámetros clínicos evaluados en los pacientes con todas las formas clínicas de LPB, y para las aftas. Para los pacientes con síndrome de ardor bucal y mucositis, el número de pacientes analizado fue menor, probablemente por esto los resultados de los tratamientos con antocianinas no dieron diferencias significativas comparados con los que se utilizan actualmente como de primera elección tópica.

Se alcanzó con esto el primero de los objetivos de este trabajo que expresa:

Objetivo 1: Demostrar que los antioxidantes derivados de la uva, mediante el uso local mejoran las patologías orales con estrés oxidativo.

Y se demostró el primer punto de la hipótesis que dice:

Hipótesis 1. El uso local de antioxidantes derivados de la uva, sirve para tratar las patologías orales con estrés oxidativo.

Además se respondió al:

Segundo punto de la formulación del problema a investigar:

2. ¿Es de utilidad el análisis morfométrico para el control evolutivo de los pacientes y de la efectividad del tratamiento?

También **la respuesta es positiva ya que el estudio morfométrico fue de utilidad** para evaluar la evolución de los pacientes y las mediciones de las áreas de las lesiones entre el inicio de los tratamientos y el momento de mejoría clínica, como también para comparar los resultados entre ambos grupos.

Se alcanzó con esto el segundo de los objetivos de este trabajo que expresa:

Objetivo 2: Demostrar la utilidad del estudio morfométrico para evaluar la evolución y la efectividad del tratamiento.

Se demostró el segundo punto de la hipótesis que dice:

Hipótesis 2. El estudio morfométrico es de utilidad para evaluar la respuesta al tratamiento de las patologías orales en cuya patogenia interviene el estrés oxidativo.

Conclusiones de la citología exfoliativa y la determinación de CK:

La citología exfoliativa no mostró hallazgos significativos como para ser utilizada como método de control evolutivo de los pacientes con patologías inflamatorias de la boca.

La expresión tisular de las CK1, 13 y 14 está alterada en los pacientes con LPB, sin existir correlación con las formas clínicas de la patología, ingesta de drogas o hábito de fumar. La CK1 se expresó en la capa basal en el 16% y en la capa suprabasal en el 64% de los pacientes. La expresión de CK13 se observó en la capa

basal de 13 pacientes (42%), situación que no hemos encontrado descrita en la literatura. La CK14 se expresó en EL 97% de las muestras en la capa basal y en el 94% en las capas suprabasales. Nuestro estudio diverge con el de otros autores en que la expresión de CK1 no tiene correlación directa con la presencia de ortoqueratosis y su baja expresión en la capa basal no puede sustentar la teoría que la involucra como pivote en la patogenia. El hallazgo de CK13 en la capa basal sugiere la expresión anticipada de esta proteína, propia de los estratos superiores. La presencia de CK14 en estratos suprabasales, estaría indicando una falla en la diferenciación citológica, mostrando cierto grado de inmadurez en esos niveles. Sin embargo, no sería como sugieren otros autores, un marcador para predecir neoplasia, ya que se expresa en casi todos los LPB, según nuestro estudio, y es conocido que los LPB sufren transformación a espinocelular en un bajo porcentaje. Al comparar la expresión de las CK con el grado de afectación histopatológica, se encontró diferencia significativa en el grado de vacuolización de la capa basal ($p=0,023$) y el grado de exocitosis ($p=0,0025$), siendo mayor el grado de afectación en los pacientes donde se expresa la CK13 en la capa basal del epitelio.

En conclusión, las CK en el LPB no siguen los patrones de queratinización de mucosa queratinizada ni de la no queratinizada.

Tanto la citología exfoliativa con determinación de índices de maduración, como la determinación de CK1, 13 y 14 en extendidos citológicos, resultaron métodos que insumen mucho tiempo de trabajo y los resultados no son significativos para los pacientes con patologías inflamatorias, al menos en los análisis que hemos realizado hasta la fecha. Sin embargo la determinación de CK1, 13 y 14 en tejido reflejó la alteración en la maduración en todos los pacientes con LPB, manifestada a través de la expresión en estratos suprabasales de CK14. Aunque la asociación de la marcación de CK1 con ingesta de fármacos o de tabaco no mostró correlación, pensamos que el número de pacientes incluidos en este estudio fue bajo y se necesitaría un número mayor en la muestra, para establecer conclusiones que puedan apoyar la actual teoría patogénica, que incluye a la

alteración de las CK en su expresión en la capa basal en relación con toma de medicamentos.

Con lo expresado hasta aquí se respondió a:

Tercer y cuarto punto de la formulación del problema a investigar:

3. ¿Se puede evaluar la evolución clínica con citología exfoliativa?

4. ¿Es mejor objetivar con CK la evolución clínica de los pacientes?

Se desarrollaron ambas técnicas y se sometieron los resultados a análisis estadísticos. Se demostró que la respuesta fue negativa. No se pudo evaluar la evolución clínica de nuestros pacientes con estas técnicas complementarias.

Se alcanzaron los objetivos tercero y cuartos de este trabajo que expresan:

Objetivos

3. Verificar si con citología exfoliativa se puede controlar la evolución de los pacientes.

4. Investigar la utilidad de las CK para evaluar la evolución de los pacientes.

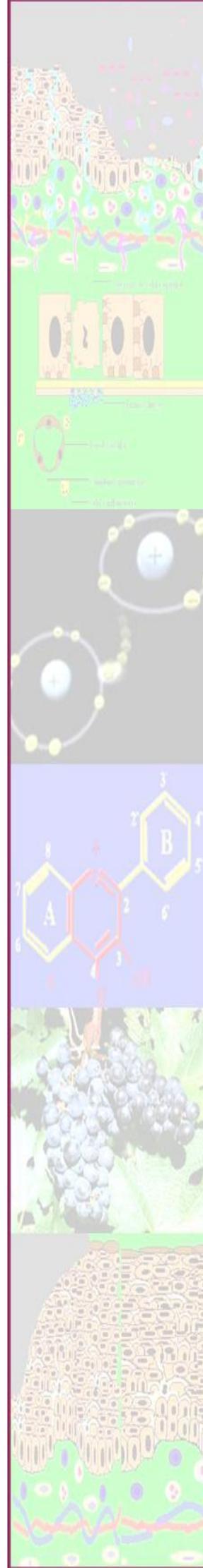
Y aunque no se demostraron el tercer y cuarto puntos de la hipótesis que dicen:

Hipótesis 3. La citología exfoliativa es un método auxiliar para evaluar la evolución de las patologías orales con estrés oxidativo.

4. La determinación de CK es un método eficaz para objetivar la evolución de las patologías orales con estrés oxidativo.

Se realizaron hallazgos en la expresión de CK que no hemos encontrado descriptos previamente, en relación con parámetros clínicos e histopatológicos.

VIII SÍNTESIS DE LA TESIS





Este es un trabajo basado en la investigación clínica, dedicado a tratar de demostrar la utilidad terapéutica de un producto natural, que la humanidad ha utilizado durante siglos en la dieta, para el tratamiento de patologías orales inflamatorias. Se eligió un tratamiento local y una dosis que, aunque fuera ingerida, está probado que no tiene efectos tóxicos. El uso cotidiano en la alimentación es usualmente en dosis más altas que las indicadas en este trabajo.

Esta tesis trata de responder, entre otros aspectos, a la necesidad de muchos pacientes con o sin patologías asociadas a las presentes en la mucosa oral, que hasta la fecha tienen como el mejor tratamiento local, el uso de corticoides. Estas drogas, si bien han demostrado su utilidad, tienen también múltiples efectos colaterales indeseables tanto locales como sistémicos.

Se elaboró un marco teórico reuniendo evidencia científica aportada por la bibliografía, sobre los mecanismos intervinientes en la inflamación. Se analizaron también los aportes recopilados sobre el efecto antagónico que sobre los mismos ejercen sustancias naturales presentes en la dieta como los polifenoles presentes en los vegetales.

Esto condujo a realizar este trabajo cimentado en que los mecanismos fisiopatogénicos descritos en las patologías orales estudiadas en esta tesis incluyen al estrés oxidativo. El estrés oxidativo es causado por un desequilibrio entre la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS) generadas en el metabolismo normal, y en mayor grado en la inflamación; y la capacidad de los tejidos para neutralizar los reactivos intermedios o reparar el daño resultante.

Está demostrado por investigaciones reportadas a la literatura que el estrés oxidativo interviene en la inflamación.

Por otro lado, los polifenoles de las uvas tienen probados antecedentes de ejercer efecto antioxidante *in vitro* y efecto antiinflamatorio *in vivo*. Dentro de los polifenoles de las uvas se encuentran las antocianinas, que son las que dan color a los frutos, entre otras funciones. Estas moléculas son descritas en las publicaciones especializadas, como los antioxidantes más potentes del reino vegetal. Se pensó por lo tanto que ellas podrían tener un efecto terapéutico en las enfermedades inflamatorias de la boca.

Las patologías de la mucosa bucal, que incluye este trabajo y en las que se ha demostrado la presencia de estrés oxidativo en la fisiopatogenia son: liquen plano bucal (LPB), aftas, síndrome de ardor bucal y mucositis. Para poder realizar una comparación precisa, el grupo de los pacientes con LPB fue subdividido en: formas erosivas incluyendo al LPB erosivo y a la forma ampollar y formas no erosivas, abarcando esta última categoría: LPB reticular, queratósico, atrófico y pigmentario. Se estudió el efecto de un tratamiento local con antocianinas extraídas de las uvas, comparándolo con los tratamientos habituales.

Objetivos: El principal objetivo de este trabajo fue comprobar si el uso de antocianinas de las uvas, era de utilidad para realizar tratamiento local en los pacientes con las entidades nosológicas enunciadas. Para alcanzar este objetivo se realizó un seguimiento de los pacientes en su evolución a través del examen clínico protocolizado.

Se utilizaron además de los datos clínicos, el análisis morfométrico, citologías exfoliativas y determinación de citoqueratinas (CK) para estudiar a estos pacientes durante la evolución. Los siguientes objetivos fueron comprobar si estos métodos complementarios aplicados, aportaban algún beneficio para el seguimiento evolutivo de los pacientes.

Metodología: Se incluyeron a los pacientes que tenían LPB con formas erosivas y formas no erosivas, pacientes con aftas, síndrome de ardor bucal y mucositis. Se dividió a los pacientes de cada patología en dos grupos: uno con tratamiento experimental, denominado grupo casos y otro con la terapéutica local de primera elección, denominado grupo control. Se indicó a los pacientes del primer grupo un tratamiento local con antocianinas extraídas de la uva, por su efecto antioxidante y al otro grupo clobetasol propionato (CP) para LPB y aftas, vitamina E para pacientes con síndrome de ardor bucal y solución salina para las mucositis.

Se les realizaron a los pacientes otros cuidados adjuntos de la cavidad bucal tendientes a disminuir la contaminación y el trauma local: tratamiento de los factores que aumentan la inflamación como las deficiencias en la higiene bucal, la infección local, la presencia de caries, fracturas y amalgamas desbordantes, entre otros factores odontológicos. Se recomendó abandonar el hábito de fumar y la ingesta de alcohol. A los pacientes se les realizaron controles clínicos, de

laboratorio bioquímico de rutina, determinación de AST y MDA, estudio morfométrico, estudio citológico en extendidos teñidos con técnica de Papanicolau e inmuno histoquímico de CK 1, 13 y 14. Se compararon con análisis estadísticos los resultados obtenidos intra grupos: en el inicio, mejoría y alta, e inter grupos: casos y controles con la misma patología.

Resultados: De estudiaron en total 81 pacientes, distribuidos en diferentes grupos según sus patologías: con LPB con formas erosivas se incluyeron 17 casos y 21 controles (n=38) y 14 de tipo no erosivo (9 casos y 5 controles); 8 pacientes con síndrome de ardor bucal (5 casos y 3 controles), 6 pacientes con mucositis (5 casos y 1 control), y 15 pacientes con aftas (9 casos y 6 controles).

De los datos epidemiológicos obtenidos de nuestros pacientes se observó que para los pacientes con liquen bucal la edad media en nuestra muestra fue de 61,5 años. El 87,5% tenían enfermedades concomitantes siendo las más frecuentes hipertensión arterial, depresión, diabetes mellitas e hipotiroidismo. Todos estos pacientes con comorbilidades recibían tratamiento y el 71% de ellos lo hacían con tres o más fármacos.

No se observaron efectos clínicos colaterales con los tratamientos con antocianinas. Se monitorearon entre otros parámetros, las glucemias, trigliceridemia y colesterolemia sin registrarse diferencias significativas antes y después de los tratamientos.

Entre los factores odontológicos más relevantes se encontró en nuestros pacientes una alta incidencia de caries, pérdida de piezas dentarias, uso de prótesis, presencia de placa bacteriana y cálculo. Todos estos factores odontológicos no son favorables para el uso de corticoides locales. En nuestros pacientes del grupo control que recibieron corticoide local, el CP se indicó asociado a nistatina y neomicina. Pensamos que esto podría haber colaborado con el tratamiento para que no aparezcan complicaciones locales. Respecto a los pacientes tratados con antocianinas, no se les agregó antimicótico ni antibacteriano, pero esos pigmentos de las uvas tienen descrito efectos antibacterianos y antimicóticos.

Otra de las observaciones clínicas fue que si bien en la literatura se relaciona la patogenia del liquen, en la literatura, con la presencia de amalgamas, observamos

que no se encontraron diferencias significativas entre los pacientes portadores o no de ellas y tampoco se las pudo relacionar con las formas clínicas de la enfermedad. Los pacientes mostraron mejoría clínica con los tratamientos, aún antes de reemplazarse sus amalgamas por otros materiales no metálicos. Pese a este hallazgo, no puede descartarse que las amalgamas estuvieran relacionadas con el inicio del liquen bucal,

La distribución de las lesiones de liquen en la cavidad bucal, coincide en nuestros pacientes con lo referido en la literatura. Estas son múltiples en la mayoría de los pacientes. La mayor frecuencia de presentación es en las mucosas yugales, encontrándose además en mucosas de labios, bordes de lengua, paladar, encía, dorso de lengua y cara ventral de lengua en orden decreciente.

Respecto a las respuestas terapéuticas se encontró que los pacientes la tuvieron en forma favorable con las antocianinas.

Esta fue mejor que con el tratamiento con CP para los pacientes con LPB erosivo oral. Se comprobó en el seguimiento clínico protocolizado, con la mejoría del puntaje de compromiso total de la cavidad bucal y en el estudio morfométrico. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el tiempo de respuesta terapéutica, en la evaluación del dolor, ni en el porcentaje de recaídas entre ambos grupos.

Respecto al tratamiento de otras formas de LPB (no erosivas) hubo mejor respuesta respecto a la mejoría del dolor en el grupo tratado con antocianinas.

En los pacientes con: aftas, síndrome de ardor bucal y mucositis las respuestas no dieron diferencias significativas respecto al tratamiento de primera elección.

Se desea destacar la importancia en el seguimiento de estos pacientes, del examen clínico minucioso de la cavidad bucal, con registro iconográfico de las lesiones para su estudio morfométrico comparativo y el seguimiento con registro de scores de todas las áreas afectadas.

Se encontró de utilidad la evaluación de parámetros tales como el grado de dolor y número de días hasta alcanzar la mejoría.

Los métodos complementarios para el seguimiento, tales como estudio morfométrico de las lesiones y control del compromiso total de la cavidad bucal (scores de compromiso) se apreciaron como beneficiosos.

Otro método auxiliar aplicado fueron las citologías exfoliativas teñidas con técnica de Papanicolau. No se pudo demostrar en nuestros pacientes una relevancia de esta técnica que justificara su uso en el seguimiento de las patologías orales inflamatorias. Como se observa en la figuras de esta tesis, en algunos pacientes los extendidos muestran predominio de las células de los estratos más profundos del epitelio al inicio de la enfermedad, con presencia de glóbulos rojos en las formas erosivas. En los controles evolutivos de mejoría y alta la presencia de células de estratos más superficiales, no resultó en cambios de significancia estadística. No puede definirse por lo tanto a este método como preciso para el seguimiento de estos pacientes.

Respecto a la determinación de CK son consideradas el marcador de diferenciación celular por excelencia, Se observó que en el 94% de los pacientes está alterada esta diferenciación, expresándose CK 14, que está sólo en las capas basales en los tejidos normales, en todas las capas del epitelio de los pacientes con LPB. Esta alteración en la diferenciación no pudo demostrarse que fuera de utilidad para predecir potencial de malignización. Esto se dedujo porque la malignización puede acontecer en alrededor del 5% de los pacientes con LPB, porcentaje que discrepa con el del 94% que expresan esta CK, en nuestros pacientes.

El seguimiento evolutivo se realizó desde la inmunohistoquímica con marcación de las CK en las células exfoliadas en el momento del inicio, controles de mejoría y alta. Esta técnica no reflejó, desde los controles de inicio, ser un buen reflejo de lo que está pasando en el tejido. El porcentaje de expresión de las CK fue discordante, mostrando bajo porcentaje de expresión, aún en la CK14 que en el tejido se expresó inicialmente en la gran mayoría de los pacientes en las células de todo el epitelio. En los extendidos de los controles evolutivos, según nuestros resultados, no pudo demostrarse la evolución de la diferenciación celular con las CK como marcador. Aunque se observó mejoría, o aún curación clínica de las lesiones, las CK no aportaron ayuda para el seguimiento de estos pacientes ya que no mostraron diferencia estadística significativa al compararse con la expresión de las CK en los extendidos citológicos del inicio.

Sin embargo se encontró alterada la expresión tisular de las tres CK estudiadas en los pacientes con LPB.

Se hicieron hallazgos al comparar la expresión las tres CK estudiadas con la ingesta de drogas y el hábito de fumar. No se encontró significancia estadística al tratar de relacionar el mencionado hábito y el número de drogas ingeridas con la expresión de ninguna de las CK estudiadas. En el caso de la citoqueratina 13, la encontramos expresada en la capa basal, dato no descrito previamente en la bibliografía a nuestro alcance. Cuando se expresó en la basal se relacionó, con significancia estadística, con mayor grado de vacuolización basal y de exocitosis. Estos hallazgos referidos a la CK 13 no los hemos encontrado reportados previamente.

A pesar de los múltiples intentos de predecir y prevenir cuales son los pacientes que tienen mayor probabilidad de desarrollar un carcinoma espinocelular a partir de LPB, con la utilización de marcadores tisulares a nivel global, no se ha logrado develar aún cuales son esos indicadores. Las CK, según nuestro trabajo, no son la excepción a estos esfuerzos por encontrar esa señal temprana que permita prevenir la neoplasia

Conclusiones: Se logró alcanzar la respuesta a la primera pregunta del problema a investigar sobre si la utilización local de antocianinas de la uva, mejoran la evolución de las patologías bucales inflamatorias.

La respuesta fue positiva ya que se comprobó que las antocianinas mejoran la evolución de las patologías bucales estudiadas. Los resultados alcanzados con las antocianinas fueron mejores que con los del clobetasol en los scores de compromiso total de la cavidad bucal, en las formas de liquen erosivo y también en la mejoría del dolor de las formas de liquen no erosivo. La mejoría fue igual que con los corticoides (sin diferencia estadística significativa) para los otros parámetros clínicos evaluados en los pacientes con todas las formas clinicas de LPB, y para las aftas. Para los pacientes con síndrome de ardor bucal y mucositis, el número de pacientes analizado fue menor y los resultados con los tratamientos con antocianinas no dieron diferencias significativas comparados con los que se utilizan actualmente como de primera elección tópica.

Con esto se alcanzó el primer objetivo de este trabajo y se demostró el primer punto de la hipótesis que dice:

1. El uso local de antioxidantes derivados de la uva, sirve para tratar las patologías orales con estrés oxidativo.

Además se respondió al segundo punto de la formulación del problema a investigar sobre si es de utilidad el análisis morfométrico para el control evolutivo de los pacientes y de la efectividad del tratamiento. La respuesta fue positiva ya que este estudio fue de utilidad para comparar las mediciones de las áreas de las lesiones entre el inicio de los tratamientos y el momento de mejoría clínica, como también para comparar los resultados entre ambos grupos.

Con esto se alcanzó el segundo de los objetivos de este trabajo que era demostrar la utilidad del estudio morfométrico para evaluar la evolución y la efectividad del tratamiento.

Se demostró el segundo punto de la hipótesis: El estudio morfométrico es de utilidad para evaluar la respuesta al tratamiento de las patologías orales en cuya patogenia interviene el estrés oxidativo.

También se respondió al tercero y cuarto punto de la formulación del problema a investigar sobre si se puede evaluar la evolución clínica con citología exfoliativa y si es mejor objetivar con CK la evolución clínica de los pacientes. Para esto se desarrollaron ambas técnicas y se sometieron los resultados a análisis estadísticos. Se demostró que la respuesta fue negativa. No se pudo evaluar la evolución clínica de nuestros pacientes con estas técnicas complementarias.

Se alcanzaron con esto los objetivos tercero y cuarto de este trabajo que expresan:

Verificar si con citología exfoliativa se puede controlar la evolución de los pacientes e investigar la utilidad de las CK para evaluar la evolución de los pacientes.

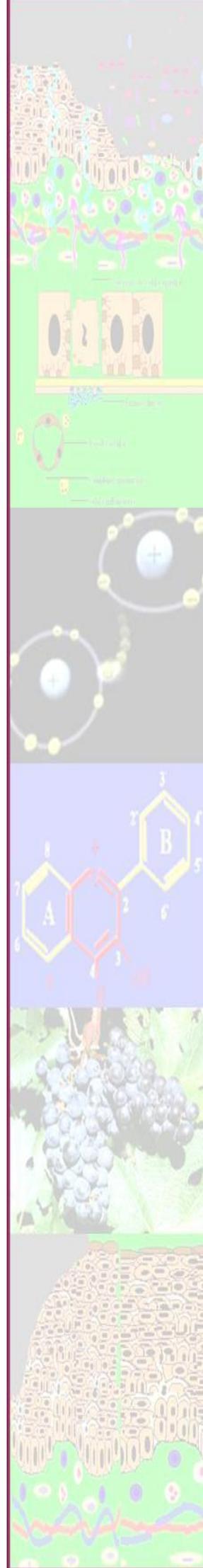
Y aunque no se demostraron el tercer y cuarto puntos de la hipótesis que dicen: La citología exfoliativa es un método auxiliar para evaluar la evolución de las patologías orales con estrés oxidativo y la determinación de CK es un método eficaz para objetivar la evolución de las patologías orales con estrés oxidativo.

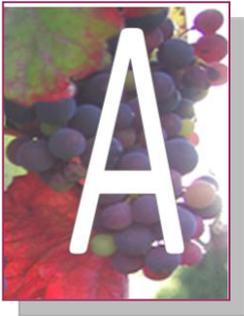
Se realizaron hallazgos en la expresión de CK que no hemos encontrado descritos previamente, en relación con parámetros clínicos e histopatológicos.

En los pacientes estudiados de nuestra muestra no se registraron efectos colaterales relacionados con los tratamientos locales realizados durante el trabajo de tesis. Los antecedentes bibliográficos que pesan sobre los corticoides respecto a los efectos colaterales aventajan a las antocianinas. Estas han sido utilizadas como parte de la dieta durante siglos y no tienen efectos colaterales indeseables demostrados. Al contrario, se ha relacionado a las antocianinas con quimiopprofilaxis de enfermedades relacionadas con las especies reactivas de oxígeno y el estrés oxidativo. Hay amplia literatura referida a la prevención y tratamiento del daño oxidativo y sus consecuencias, con antocianinas y otros polifenoles vegetales. Nuevos aportes son necesarios para comprobar cuál fue el mecanismo molecular que condujo al resultado terapéutico favorable en nuestros pacientes tratados con antocianinas.

Las patologías inflamatorias orales tienen respuesta favorable con el tratamiento local con antocianinas extraídas de la uva. Se observa con los test estadísticos realizados en los pacientes incluidos en este trabajo, una igual o mejor respuesta que con los tratamientos habituales de primera elección. En los pacientes donde el tratamiento local de elección se basa en los corticoides de uso tópico, se observó que muchos de ellos tienen comorbilidades. Es especialmente en estos enfermos donde se infiere una ventaja en el uso de este antioxidante natural presente en la dieta.

IX PERSPECTIVAS Y PROYECCIONES





pesar de que no se pudo demostrar en este trabajo la utilidad de la determinación de CK en pacientes con patologías orales a través de la citología exfoliativa, dado que estas sí se observaron en los cortes de tejido, se proyecta ajustar la técnica, modificando la fijación y el almacenamiento de las muestras para comprobar si de este modo se logran identificar las CK en los extendidos. Además se intentará determinar nuevos marcadores moleculares.

Se han presentado y han sido aprobados por la Universidad Nacional de Cuyo dos proyectos para dar continuidad a las investigaciones desarrolladas durante el transcurso de esta tesis. Se han solicitado subsidios para investigar la presencia de NRF2, APE1, TNF alfa, IL6, IL1 e IL8 en LPB oral, leucoplasias y carcinomas orales.^{119, 120}

NRF2 es un factor de transcripción que induce la expresión de varios genes que incluyen a aquellos que codifican para varias enzimas antioxidantes y puede jugar un papel fisiológico en la regulación del estrés oxidativo.¹²¹

APE1 es una enzima que está involucrada en la vía de reparación por escisión de bases del ADN dañado por estrés oxidativo. Su rol principal es contribuir a reparar los nucleótidos dañados o mal apareados del ADN.

TNF alfa, IL6, IL1 e IL8 son citoquinas proinflamatorias que se conoce son sintetizadas por varias células que intervienen en la inflamación y además por los queratinocitos.¹²² Se ha demostrado que algunos antioxidantes tienen efecto activando el NRF2 y modulando de este modo la inflamación.^{123 124} Paralelamente se ha comprobado que la mutación de este factor está relacionada con la promoción de malignidad.¹²⁵

Diferencias en los niveles de las citoquinas mencionadas, se tratan de relacionar con la posibilidad de transformación maligna de lesiones consideradas preneoplásicas como el LPB y la leucoplasia.

Respecto a la inhibición del eje hipotálamo hipofisario adrenal con el tratamiento tópico con CP, se debería evaluar si esto que ha sido descrito también sucede con la dosificación que reciben los pacientes cuando lo usan en crema al CP y si las antocianinas tienen algún efecto colateral, aún no conocido.



Consentimiento informado que deben firmar los pacientes

Investigación Clínica

TRATAMIENTO CON ANTIOXIDANTES LOCALES DE LAS PATOLOGÍAS INFLAMATORIAS DE LA MUCOSA ORAL. EVALUACIÓN CLÍNICA, MORFOMÉTRICA Y CITOLÓGICA.

Información para el Paciente y Formulario para el Consentimiento Informado Escrito

Fecha de emisión: 8 de diciembre de 2006

SE LE SOLICITA QUE LEA EL SIGUIENTE MATERIAL PARA ASEGURARNOS QUE ESTÁ INFORMADO ACERCA DE LA NATURALEZA DE ESTE ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA Y DE LA FORMA EN LA QUE USTED PARTICIPARÁ EN ÉL, SI USTED DIERA SU CONSENTIMIENTO PARA HACERLO.

LA FIRMA DEL FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INDICARÁ QUE USTED HA SIDO INFORMADO Y QUE ACEPTA PARTICIPAR EN EL ESTUDIO CLÍNICO.

ESTA HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO DE 7 (siete) FOLIOS HA SIDO APROBADA POR EL COMITÉ INDEPENDIENTE DE ÉTICA.

INTRODUCCIÓN

Usted ha sido invitado a participar en una investigación que implica el uso de soluciones de uso local (enjuagues), debido a que se encuentra en tratamiento por presentar afectación de los tejidos blandos de la boca.

Antes de otorgar su consentimiento para participar en este estudio, es importante que Ud. lea y comprenda la siguiente explicación sobre el estudio y sus procedimientos. Este documento describe el objetivo, los procedimientos, los beneficios, los riesgos, las molestias y los tratamientos alternativos que se hallan a su disposición. Su participación en este estudio es estrictamente voluntaria. Si Ud. decide participar, Ud. tiene el derecho de retirarse del estudio en cualquier momento.

PROPÓSITO Y CONDUCCIÓN DEL ESTUDIO

¿Por qué se realiza esta investigación y cuál es el objetivo?

El objetivo de este estudio es comprobar la eficacia de un antioxidante natural, extraído de las uvas para el tratamiento de las afecciones inflamatorias de la boca. Si Usted decide participar de este estudio, se le solicitará que firme este consentimiento informado, donde se explican los motivos del estudio y se detallan las visitas y/o pruebas que se requieren.

¿Quiénes tomarán parte en este estudio?

Todos aquellos pacientes con afecciones inflamatorias de la boca que firmen el consentimiento informado.

¿Cómo es el tratamiento, qué tendré que hacer durante la investigación y cuál es la duración de la misma?

Si usted decide participar en este estudio, deberá realizar visitas de control al Servicio de Odontología del Hospital "Luis Lagomaggiore". Se lo examinará el día de la primera consulta y según su patología a la semana, a los 15 días y luego una vez por mes hasta la curación o un periodo máximo de un año. Se le realizará una toma citológica de la mucosa (tejido que recubre el interior de la boca "piel de la boca") afectada para evaluar el estadio clínico-patológico de la misma en cada visita. Esto consiste en deslizar un bajalengua o una espátula sobre la cara interior de las mejillas o de la lengua para luego mirar a microscopio esas células recogidas. Estas visitas son necesarias para controlar su evolución. Posteriormente comenzará a tratar la mucosa con los enjuagues tres veces por día durante el tiempo que sea necesario, como paciente externo, durante los días que sean necesarios. Se desea comparar el grado de efectividad los medicamentos incluidos en este estudio y se le entregará el que a Ud. le sea asignado. En cada visita del estudio, su médico llevará a cabo una evaluación de los signos y síntomas de la mucosa de la boca.

Usted deberá completar un formulario que se le entregará en cada visita, en las que deberá registrar toda medicación utilizada, los signos y síntomas subjetivos de

la boca y los eventos clínicamente significativos que le hayan ocurrido entre las visitas como así también la toma de medicamentos por razones ajenas al estudio. En cada visita del estudio, el personal analizará con usted (basándose en las anotaciones del diario) el uso de la medicación del estudio, el uso de otros medicamentos (cualquiera sea el motivo) y cualquier enfermedad o accidente que le haya ocurrido. Su médico le entregará una cantidad de la medicación del estudio suficiente para tratar su boca durante el periodo que transcurra hasta el próximo control. En cada visita Ud. deberá devolver al Hospital todos los envases de la medicación ya sean usados o no usados. Esta medicación deberá ser utilizada únicamente por Ud. y no deberá ser compartida por ninguna otra persona.

Además del uso de enjuagues se lo asistirá mediante:

Enseñanza de técnica de higiene oral

Tratamiento de caries

Tratamiento de alteraciones que provoquen trauma en la mucosa

Tratamiento local de infecciones por hongos sobre agregadas en boca.

Asistencia psicológica si se considera necesario

No está permitido fumar ni beber alcohol durante el tratamiento

RIESGOS E INCONVENIENTES

El equipo médico cree que Ud. podría beneficiarse con el tratamiento del estudio. Estos buches deben ser dejados en contacto con la mucosa durante al menos cinco minutos y luego los debe escupir (no los debe tragar).

Uno de los enjuagues presenta antioxidantes extraídos de las uvas. No se ha demostrado que esta medicación tenga efectos tóxicos y por el contrario se la recomienda como tratamiento de algunas enfermedades. De todos modos Ud. no debe ingerir la sustancia ya que queremos sólo ver su acción local en la boca.

El otro enjuague consiste en una solución salina cuya efectividad ha sido probada para el tratamiento de algunas de la boca.

Los tratamientos que se realizan con cremas o cápsulas de vitaminas para uso local en la boca, ya han sido probados en su efectividad previamente y no se han demostrado efectos adversos con las dosis habituales.

Su médico lo controlará cuidadosamente para tratar rápidamente cualquier problema o efecto no deseado que pueda surgir esté este relacionado o no con la medicación instituida.

Su médico podrá decidir retirarlo del estudio en cualquier momento y sin su consentimiento, debido a las siguientes razones:

- Se producen cambios en su salud y el médico considera que es conveniente para Ud.
- Si la Universidad Nacional de Cuyo o el Servicio de Dermatología del Hospital "Luis Lagomaggiore" detienen el estudio.
- Si otras personas que participan del estudio sufren algún daño.

Es necesario que informe de inmediato al médico investigador sobre cualquier malestar que sienta o que le preocupe. Su equipo médico le proporcionará uno o más números telefónicos en donde podrá contactarlos fuera de los horarios habituales de la consulta.

BENEFICIOS DEL TRATAMIENTO

El beneficio potencial más importante de su participación en el estudio sería la mejoría de su afección inflamatoria de la boca, pero no hay garantías de que esto ocurra, ya que no todos los pacientes tendrán la misma respuesta a estos medicamentos lo cual consta en este consentimiento informado.

Las afecciones inflamatorias de la boca pueden ser tratadas actualmente con muy diversos tratamientos. La intención del equipo investigador es obtener mejoría de las afecciones inflamatorias de la boca con un producto natural, disminuyendo los costos del tratamiento.

Un beneficio indirecto adicional sería ayudar a otros pacientes con afección inflamatoria de la boca al contribuir al esclarecimiento de las ventajas que podría ofrecer un medicamento sobre otro.

¿Existen otros tratamientos alternativos?

Su equipo médico le ofrece este tratamiento teniendo en cuenta las otras alternativas terapéuticas que podría recibir. Si Ud. está dispuesto a participar, el equipo investigador le suministrará toda la información relevante en este sentido, y su decisión no influirá sobre la calidad del cuidado médico que se le brindará.

¿Tendré que pagar o recibiré algún pago por mi participación en la investigación?

Todos los procedimientos adicionales a los de la práctica habitual requeridos en la investigación según el protocolo, incluyendo las visitas médicas, citología de la mucosa y el examen físico serán gratuitos.

Usted recibirá la medicación en forma totalmente gratuita.

No recibirá pago alguno por su participación en la investigación.

PARTICIPACIÓN

¿Podré retirarme de la investigación en cualquier momento?

Si Ud. decide y está dispuesto a participar en la investigación, se le pedirá que firme el consentimiento informado.

La decisión de tomar parte en la investigación es voluntaria y libre y Ud. podrá retirarse en cualquier momento, sin que esto afecte la relación con su médico. En ese caso, es muy importante que le comente al médico las razones de su decisión y si las mismas están vinculadas con el tratamiento experimental, de modo que pueda planearse el cambio adecuado en el tratamiento y algunas visitas clínicas adicionales, donde se le realizará un examen físico y todo lo que el médico juzgue necesario.

Si en cualquier momento el médico considera que es conveniente para Ud. suspender la investigación, o en el caso de que Ud. no cumpla con las indicaciones requeridas, el equipo médico podrá tomar la decisión de finalizar su participación en la misma, en cuyo caso, el médico optará por indicarle el tratamiento que considere más apropiado.

En caso de dudas o de presentar algún problema médico, comuníquese con:

Dra. Rivarola Emilce. Tel: 156519224

Dra. Carolina Innocenti. Tel: 155098460

Como se trata de un medicamento que no es tóxico y que sólo va a usarse de modo local, es de esperar que no surjan complicaciones por el mismo. De todos modos si surgiera alguna complicación Ud será asistido en El Hospital Luis Lagomaggiore y será internado si fuera necesario, hecho que se considera altamente improbable.

CONFIDENCIALIDAD

¿Podrá esta investigación afectar mi privacidad?

La información de la investigación será enviada a la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Cuyo y al comité de Ética del Hospital “Luis Lagomaggiore” quienes revisarán su historia clínica y el consentimiento informado firmado por Ud. ante la necesidad de informar a dichas entidades, no se puede garantizar la confidencialidad absoluta, pero esta siempre será contemplada y cuidada.

Los resultados de esta investigación podrán ser presentados en reuniones médicas y/o publicaciones, pero su identidad no será revelada.

Recibí copia de esta información clínica para el paciente		
Firma del paciente	Por favor escriba su nombre y apellido completo	Fecha

Consentimiento Escrito para Paciente Adulto

Antes de dar mi consentimiento para participar en la investigación con la firma de este documento, dejo constancia de que he sido informado /a acerca de los métodos y formas de administración de las medicaciones que se investigan y de las molestias, riesgos y problemas que podrían ocurrir con el uso de las mismas. He recibido, además una copia escrita con un resumen de esa información.

El médico investigador ha contestado personalmente, y a mi entera satisfacción, todas las preguntas respecto a esta investigación, y firma el presente confirmando esta manifestación.

Autorizo al médico investigador, al equipo médico, a la institución, al personal del comité de Ética en Investigación y al Personal de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Cuyo, a fin de que revisen mi historia clínica, manteniendo la confidencialidad más estricta posible. Autorizo del mismo modo a fotocopiar mi historia clínica para salvaguardar la información en ella contenida en caso de ser necesario.

Sobre la base de esta información, acepto voluntaria y libremente participar en esta investigación, comprendiendo que de no cumplir con las instrucciones del médico investigador, podré ser retirado/a de la misma por lo que firmo el presente consentimiento, reteniendo una copia de este y de la información clínica

	Firmas	Cada persona debe escribir su nombre y apellido completo
Paciente		Fecha de nacimiento...../...../.....
Testigo		
Persona que obtiene el consentimiento		
Lugar y Fecha del Consentimiento	(Debe escribirlo el propio paciente)	
Comentarios		
Revisado	Nombre completo y firma del Investigador Principal	



Protocolo: Enfermedad Inflammatoria Oral

N° HC: Ambulatorio-Internación-

Criterio de Inclusión: Pacientes con Mucositis, Liquen, Sjögren, Aftas, Estomatodinia.

Fecha: **Nombre y apellido:** **Edad:**

Sexo:

Escolaridad: Años **Procedencia:** rural/urbano- **Empleado Desempleado**

Clase social: Indigente-Baja-Media **Estado civil:** Casado/pareja-Viudo-
 Separado-Soltero - Vive Solo

Cigarrillos: Pack-year **Alcohol ml.:** Grados: **Indice: Mate Café Té Otros:**

KARNOFSKY % Malnutr: SI-NO Peso: Talla: IMC: P/T² =

Comórbidas: NO- ¿Cuáles?:.....

Tratamientos:.....

ODONTOLOGIA: THO (FECHA) CPOD=

INDICE LOE= O LEARY=

Caries tipo:..... **Prótesis:** SI-NO Tipo:

1º consulta Fecha: Fecha de inicio de patología—/—/--

Síntoma cardinal: dolor 1-10 / ardor / disfagia / disgeusia / xerostomía/

otros:.....

Lesión tipo:..... **Evolución en días:**.....

Observaciones:.....

Tratamientos previos (especificar tipo. Tiempos Y GRADO DE RESPUESTA):

.....

.....

.....

..... AHORA: FUMA SI/NO n°CIG: Alcohol: SI/NO ml

grados

PLACA: No/áreas/generalizado CÁLCULO: No/áreas/generalizado

TRAUMA LOCAL: TRAT. ODONTOLOGICO: SI/NO ¿Cuál?

.....

DESCONTAMINACION: SI / NO DROGAS

.....

Citología: n°:..... localización citología:..... Fotos:

Biopsia: SI / NO.....

Tratamiento: Antioxidante / otro:

..... Posología:

.....

.....

...

Dosis entregadas / Fecha:

.....

CONTROL ANTIOXIDANTE:

HEMOGRAMA:**VSG:**.....

PCR:.....

GLUCEMIA: **COL T:** **LDL-C:****HDL-C:**

..... **TRIGLICERIDOS:** **AC URICO:** **CREATININA:**

.....

ANTIOXIDANTES SERICOS TOTALES:**MALONDIALDEHIDO:**

.....

Saliva				Saliva				Saliva				Saliva				Saliva			
Borde				Borde				Borde				Borde				Borde			
Labio sup.				Labio sup.				Labio sup.				Labio sup.				Labio sup.			
Labio inf.				Labio inf.				Labio inf.				Labio inf.				Labio inf.			
Lengua D				Lengua D				Lengua D				Lengua D				Lengua D			
Lengua V				Lengua V				Lengua V				Lengua V				Lengua V			
Lengua BD				Lengua BD				Lengua BD				Lengua BD				Lengua BD			
Leng BI				Leng BI				Leng BI				Leng BI				Leng BI			
MYugal D				MYugal D				MYugal D				MYugal D				MYugal D			
MYugal I				MYugal I				MYugal I				MYugal I				MYugal I			
Paladar				Paladar				Paladar				Paladar				Paladar			
Piso				Piso				Piso				Piso				Piso			
Encías				Encías				Encías				Encías				Encías			
Dientes				Dientes				Dientes				Dientes				Dientes			
SCORE				SCORE				SCORE				SCORE				SCORE			

Fechas:

1º control 2º control: 3º control: 4º control: 5º control: 6º control:

..... **CONTROL Fecha:**

Síntoma cardinal: dolor 1-10 / ardor / disfagia / disgeusia / xerostomía/
otros:.....

.....

Localización: mucosa yugal, IZQ DER labio SUP INF, lengua dorso / vientre / lateral IZQ- DER, piso, paladar encía sup encía inf

Tipo: **Evolución en días:**.....

Otras: **Evolución en días:**.....

Observaciones:.....

TRAT: COMPLETO PARCIAL SUSPENDE FECHA Y MOTIVO:

.....

AHORA: FUMA SI/NO n°CIG: **Alcohol: SI/NO ml grados TRAUMA LOCAL:**

PLACA: No/áreas/generalizado **CÁLCULO:** No/áreas/generalizado

Citología: n°:..... **localización citología:**..... **Fotos:**

RESPUESTA AL TRATAMIENTO: BUENA – REGULAR – MALA

Áreas afectadas SCORE

CONDUCTA ADOPTADA: Tratamiento: Antioxidante / otro:

..... **Posología:**

.....

Dosis entregadas / Fecha:

.....

Saliva			Saliva			Saliva			Saliva			Saliva			Saliva		
Borde			Borde			Borde			Borde			Borde			Borde		
Labio sup.			Labio sup.			Labio sup.			Labio sup.			Labio sup.			Labio sup.		
Labio inf.			Labio inf.			Labio inf.			Labio inf.			Labio inf.			Labio inf.		
Lengua Dorso			Lengua Dorso			Lengua Dorso			Lengua Dorso			Lengua Dorso			Lengua Dorso		
Lengua Vientre			Lengua Vientre			Lengua Vientre			Lengua Vientre			Lengua Vientre			Lengua Vientre		
Leng BD			Leng BD			Leng BD			Leng BD			Leng BD			Leng BD		
Leng BI			Leng BI			Leng BI			Leng BI			Leng BI			Leng BI		
MYugal D			MYugal D			MYugal D			MYugal D			MYugal D			MYugal D		
MYugal I			MYugal I			MYugal I			MYugal I			MYugal I			MYugal I		
Paladar			Paladar			Paladar			Paladar			Paladar			Paladar		
Piso			Piso			Piso			Piso			Piso			Piso		
Encías			Encías			Encías			Encías			Encías			Encías		
Dientes			Dientes			Dientes			Dientes			Dientes			Dientes		
SCORE			SCORE			SCORE			SCORE			SCORE			SCORE		

AL FINALIZAR EL TRATAMIENTO CONTROL ANTIOXIDANTE:

Categoría	1	2	3
Saliva	Acuoso. Exceso de salivación debido a los dientes	Espesa o ropy	Ausente
Borde	Suave rosado y húmedo	Seco o fisurado	Ulcerada o sangrante
Labio sup	Suave rosado y húmedo	Eritema indentaciones	Ulcerada o sangrante
Labio inf	Suave rosado y húmedo	Eritema indentaciones	Ulcerada o sangrante
Lengua D	Rosado húmedo y papilas presentes	Saburral o pérdida de papilas con apariencia brillante. Con o sin eritema. Micosis	Ampollado o fisurado
Lengua V	Rosado y húmedo	Enrojecida o cubierta sin ulceración. Micosis	Ulceración con o sin sangrado
Leng BD	Rosado y húmedo	Enrojecida o cubierta sin ulceración. Micosis	Ulceración con o sin sangrado
Leng BI	Rosado y húmedo	Enrojecida o cubierta sin ulceración. Micosis	Ulceración con o sin sangrado
MYugal D	Rosado y húmedo	Enrojecida o cubierta sin ulceración. Micosis	Ulceración con o sin sangrado
MYugal I	Rosado y húmedo	Enrojecida o cubierta sin ulceración. Micosis	Ulceración con o sin sangrado
Paladar	Rosado y húmedo	Enrojecida o cubierta sin ulceración. Micosis	Ulceración con o sin sangrado
Piso	Rosado y húmedo	Enrojecida o cubierta sin ulceración. Micosis	Ulceración con o sin sangrado
Encías	Rosado y firme. Edema por dentición	Edematoso con o sin eritema , suave	Sangrado espontáneo o a la presión
Dientes	Limpio y sin cálculo	Placa o cálculo en áreas localizadas (entre los dientes)	Placa o cálculo generalizado a lo largo de la línea de la encía.
SCORE			

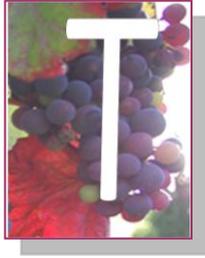
HEMOGRAMA: **VSG:**.....
PCR:.....**GLUCEMIA:** **COL T:** **LDL-C:****HDL-C:**
TRIGLICERIDOS: **AC URICO:** **CREATININA:**.....
ANTIOXIDANTES SER TOT:**MALONDIALDEHIDO:**

COMENTARIOS / OBSERVACIONES:

.....
.....

RESUMEN:

.....
.....
.....



Trabajos Publicados

1. Compuestos fenólicos. Rivarola Emilce, Di Fabio Amanda. Revista de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Cuyo. Vol 3 N1 2009:35-42. ISSN-1667-4243.
2. Publicación en las Jornadas de Investigación 2010 de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Cuyo (on line).Área: Dermatología Trabajo: “Determinación de antioxidantes séricos totales y malondialdehído en pacientes con liquen oral. Informe Preliminar” Salomon, S; Rivarola , E; Tonelli, I; Bongiovanni, I; Morgante, J; Lopez, A; Ostropolsky , C; Abud, M.
<http://www.fcm.uncu.edu.ar/jornadas2010/index.php/articulos/view/77>.
3. Reacciones tisulares liquenoides. Rivarola Emilce. Publicado en la Revista médica Universitaria. UNCuyo. Vol 6, n°4: 19-37,2010 ISSN 89914.
4. Antioxidantes. Historia y evolución. Rivarola E y Salomón S. Publicado en la Revista médica Universitaria. UNCuyo. Vol 6, n°4:1-16,2010 ISSN 8991.
5. Liquen oral y transformación a carcinoma. Rivarola E y Salomón S. Aceptado para su publicación en la Revista de la Facultad de Ciencias Médicas de la UNCuyo.



IBLIOGRAFÍA

- 1 Shiohara T, Mizukawa Y. The immunological basis of lichenoid tissue reaction. *Autoimmun Rev* 2005;4:236–41.
- 2 Sugerman PB, Savage NW, Walsh LJ, Zhao ZZ, Zhou XJ, Khan A et al. The pathogenesis of oral lichen planus [Review]. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002;13:350–65.
- 3 Chaiyarit P, Ma N, Hiraku Y, Pinlaor S, Yongvanit P, Jintakanon D, Murata M, Oikawa S, Kawanishi S. Nitrate and oxidative DNA damage in oral lichen planus in relation to human oral carcinogenesis. *Cáncer Sci* 2005; 96: 553-559.
- 4 Becker JC, Houben R, Vetter CS, Brocker EB. The carcinogenic potential of tacrolimus ointment beyond immune suppression: a hypothesis creating case report. *BMC Cancer* 2006; 11:6-7.
- 5 Scardina GA, Messina P, Carini F, Maresi E. A randomized trial assessing the effectiveness of different concentrations of isotretinoin in the management of lichen planus. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2006;35(1): 67-71.
- 6 Femiano F. Damage to taste system and oral pain: burning mouth syndrome. *Minerva Stomatol* 2004;53(9): 471-8.
- 7 Barker KE, Savage NW. Burning mouth syndrome: an update on recent findings. *Aust Dent J* 2005;50(4): 220-3.
- 8 Femiano F, Gombos F, Scully C. Burning mouth syndrome: the efficacy of lipoic acid on subgroups. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2004;18(6): 676-8.
- 9 Femiano F. Burning mouth syndrome (BMS): an open trial of comparative efficacy of alpha-lipoic acid (thioctic acid) with other therapies. *Minerva Stomatol* 2002;51(9): 405-9.
- 10 Myers RA, Marx RE Use of hyperbaric oxygen in postradiation head and neck surgery. *NCI Monogr* 1990;9: 151-7.
- 11 Schubert MM, Epstein JB, Peterson DE Oral complications of cancer therapy. In: Yagiela JA, Neidle EA, Dowd FJ: *Pharmacology and Therapeutics*. 2004.
- 12 Sonis ST, Peterson DE, McGuire DB, eds. Mucosal injury in cancer patients: new strategies for research and treatment. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2001;(29): 1-54.
- 13 Lalla RV, Sonis ST, Peterson DE. Management of Oral Mucositis in Patients with Cancer. *Dent Clin North Am* 2008; 52(1): 61–8.

-
- 14 Sonis S, Elting L, Keefe D, Peterson D, Schubert M, Hauer-Jensen M, Nebiyu Bekele B.,Raber Durlacher J, Donnoley J, Rubenstein E.Perspectives on cancer therapy-induced mucosal injury. *Cancer* 2004; 1008 9 (Suppl): 1995-2025.
- 15 Sonis Stephen T. The pathobiology of mucositis. *Nature Reviews Cancer* 2004; 4:277-284.
- 16 Wadleigh RG, Redman RS, Graham ML, Krasnow SH, Anderson A, Cohen MH. Vitamin E in the treatment of chemotherapy-induced mucositis. *Am J Med* 1992;92(5):481-4.
- 17 Saral Y, Coskun BK, Ozturk P, Karatas F, Ayar A. Assessment of salivary and serum antioxidant vitamins and lipid peroxidation in patients with recurrent aphthous ulceration. *Tohoku J Exp Med* 2005;206(4):305-12.
- 18 Cimen MY, Kaya TI, Eskandari G, Tursen U, Ikizoglu G, Atik U. Oxidant/antioxidant status in patients with recurrent aphthous stomatitis. *Clin Exp Dermatol* 2003; 28(6):647-50.
- 19 Yelda Karıncaoglu, Kadir Batcıoglu, Tamer Erdem, Muammer Esrefoglu, Metin Genc.The levels of plasma and salivary antioxidants in the patient with recurrent aphthous stomatitis *Journal of Oral Pathology & Medicine* 2005;34:7.
- 20 Freitas JP, Filipe P, Yousefi A, Emerit I, Guerra Rodrigo F. Oxidative stress in Adamantiades-Behcet's disease. *Dermatology* 1998;197(4):343-8
- 21 Butterworth-Heinemann. Millodot: Dictionary of Optometry and Visual Science, 7th edition. 2009.
- 22 Kawanishi S, Hiraku Y. Oxidative and nitrative DNA damage as biomarker for carcinogenesis with special reference to inflammation. *Antioxid Redox Signal* 2006;8(5-6):1047-58.
- 23 Rhee S G. Cell signalling. H₂O₂ a necessary evil for cell signalling. *Science* 2006;312:1832-1833.
- 24 Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and disease. *Int J Biochem. Cell Biol* 2007;39:44-84.
- 25 Fialkow L, WangY, DowneyGP. Reactive oxygen and nitrogen species as signaling molecules regulating neutrophil function. *Free Radic Biol Med* 2007;42:153–164.
- 26 Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *FASEB J.* 2003;17:1195–1214.

27 Erexon GL. Lack of in vivo clastogenic activity of grape seed and grape skin extracts in a mouse micronucleus assay. *Food Chem Toxicol* 2003;41(3):347-50.

28 Kowalczyk E, Krzesinski P, Kura M, Skmigielski B, Blaszczyk J. Anthocyanins in medicine. *Pol J Pharmacol* 2003;55:699-702.

29 Jonadet M, Meunier MT, Bastide J, Bastide P. Anthocyanosides extracted from *Vitis vinifera*, *Vaccinium myrtillus* and *Pinus maritimus*. I. Elastase-inhibiting activities in vitro. II. Compared angioprotective activities in vivo. *J Pharm Belg* 1983;38(1):41-6.

30 Meunier, M.T., Duroux, E. and Bastide, P., Free-Radical Scavenger Activity of Procyanidolic Oligomers and Anthocyanosides with Respect to Superoxide Anion and Lipid Peroxidation. *Plantes medicinales et phytotherapie*, Tome XXIII, 1989; 4:267-74.

31 Ríos Cañavate José L.: Fitoterapia de la inflamación. *Natura Medícatrix* 1994-95; 378:80-85.

32 Zamora, F. Elaboración y crianza del vino Tinto: Aspectos científicos y prácticos. Ed. AMV. Mundi-Prensa. España. 2004:18-28.

33 Alonso J. La uva (*Vitis vinifera*) Tratado de fitomedicina. Bases clínicas y farmacológicas. Isis Ediciones SRL. Buenos Aires, 1989.

34 Lu, Y.R. y Foo, L.Y. The polyphenol constituents of grape pomace. *Food Chem* 1999;65. 1-8.

35 Cascon, E., Roig, R. Ardevol, A., Salvado, M.J., Arola, L. y Blade, C. Nonalcoholic components in wine reduce low density lipoprotein cholesterol in normocholesterolemic rats. *Lipids* 2001;36:383-388.

36 Bruneton, J. Farmacognosia. Fitoquímica Plantas medicinales. 2da Ed. Ed. Acribia. Zaragoza, España. 2001;305-365.

37 Cheynier, V., Moutounet, M. y Sarni-Manchado, P. Los componentes fenólicos. En "Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos". Ed. C. Flanco, AMV Ediciones, Madrid. 2000;114-136.

38 Cheynier, V. y Rigaut, J. HPLC separation and characterization of flavonoids in the skin of *Vitis vinifera* var. Cinsault. *Am J Enol Vitic.*, 1986;37:248-252.

39 Julian C., Rivas, G., Celestino Santos, B., Look, O. Antocianos en "Antocianos y betalainas". *Colorantes naturales y Aplicación Industrial*. CYTED, 2003;26-37.

40 Baldi, A. Romani, A. Mulinacci, N, Vincieri, F. Y Casetta, B. HPLC/MS application to anthocyanins occurring in some red vines. *J Agric Food Chem*, 1995;45:35-43

-
- 41 Brouillard, R. Chemical structure of anthocyanins. En "Anthocyanins as food color", Ed. P. Markakis, Academic press, New York, 1982;1-40
- 42 Glories, Y. La couler des vins rouges. 2ème partie Mesure, origine et interpretation Conn Vigne Vin 1984 ;18:253-271
- 43 Ricardo da Silva, J.M., Rigaud, J., Cheynier, V., Cheminat, A. Y Moutouner, M. Procyanidin dimers and trimers from grape seeds. Phytochem 1991; 30:1259-1264
- 44 Porter, L.J., Hrstich, L.N. y Chan, B.G. The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyaniding and delphinidin. Phytochem 1986;25:223-230
- 45 Prieur, C., Rigaud, J., Cheynier, V y Moutounet, M. Oligomeric and polymeric procyanidins from grape seeds. Phytochem 1994;36:781-784
- 46 Maffei Facino, R. Carini, M., Aldini, G., Bombardelli, E. Morazzoni, P., Morelli, R. Free radicals Scavenging Action and Anti-Enzyme Activities of Procyanidines from *Vitis vinifera*. Mechanism for their capillary Protective Action, *Arzneim-Forsch./Drug Res* 1994;44 (1), 5:592-601
- 47 Córdoba Negrete, R. Antioxidantes Naturales, Propiedades farmacológicas de las Antocianinas y sus derivados en "Antocianos y betalainas. Colorantes naturales y Aplicación Industrial. CYTED, 2003;214
- 48 Masquelieur J.; Michaud J.; Laparra J.and Dumond M.: Bulletin Society Pharmac Bordeaux 1979;118: 95.
- 49 Maffei Facino R.; Carini M.; Aldini G.; Bombardelli E.; Morazzoni P. and Morelli R.: *ArzeimForsch* 1994;44:592.
- 50 Bertelli A.: Relazione farmacotossicologica. Instituto di Farmacología Universitá degli Studi di Pisa. Indena S.P. A.1982.
51. Alonso J. Tratado de Fitofármacos y Nutracéuticos. Ed. Corpus. Rosario. Argentina. 2007;1029-1033.
- 52 Bagchi M, Balmoori J, Bagchi D, Ray SD, Kuszynski C, Stohs SJ. Smokeless tobacco, oxidative stress, apoptosis, and antioxidants in human oral keratinocytes. *Free Radic Res* 2001;35(2):181-94
- 53 Bagchi D, Garg A, Krohn RL, Bagchi M, Tran MX, Stohs SJ. Oxygen free radical scavenging abilities of vitamins C and E, and a grape seed proanthocyanidin extract in vitro. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 1997;95(2):179-89.
- 54 Bentivegna SS, Whitney KM. Subchronic 3-month oral toxicity study of grape seed and grape skin extracts. *Food Chem Toxicol* 2002;40(12):1731-43.

-
- 55 Castillo J, Benavente-Garcia O, Lorente J, et al. Antioxidant activity and radioprotective effects against chromosomal damage induced in vivo by X-rays of flavan-3-ols (Procyanidins) from grape seeds (*Vitis vinifera*): comparative study versus other phenolic and organic compounds. *J Agric Food Chem* 2000;48(5):1738-45.
- 56 Huang, Dejian; Ou, Boxin; Prior, Donald L "The Chemistry Behind Antioxidant Capacity Assays", *J. Agric. Food Chem.* 2005, 53(6):1841–1856.
- 57 Sugisawa A, Inoue S, Umegaki K. Grape seed extract prevents H₂O₂-induced chromosomal damage in human lymphoblastoid cells. *Biol Pharm Bull* 2004; 27(9):1459-61.
- 58 Yamakoshi J, Sano A, Tokutake S, et al. Oral intake of proanthocyanidin-rich extract from grape seeds improves chloasma. *Phytother Res* 2004;18(11):895-9.
- 59 Bagchi D, Bagchi M, Stohs SJ, et al. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention. *Toxicology* 2007;148(2-3):187-97.
- 60 Jagetia GC, Reddy TK. The grapefruit flavanone naringin protects against the radiation-induced genomic instability in the mice bone marrow: a micronucleus study. *Mutat Res* 2002;519(1-2):37-48
- 61 Block KI, Gyllenhaal C. Commentary: the pharmacological antioxidant amifostine -- implications of recent research for integrative cancer care. *Integr Cancer Ther* 2005; 4(4):329-51.
- 62 Rivarola de Gutierrez E, Pizzi de Parra N., Ingrassia M.E. Citología Exfoliativa de la Mucosa Oral. *Rev Asoc Odont Arg* 1999;87(5):331-335.
- 63 Elenitsas R, Noursari CH, Ayli E y Seykora JT, Chapter 4: Laboratory Methods. en Elder DE, Lever's *Histopathology of the skin*, 10^o Edición. Editorial Lippincott Williams & Wilkins 2009; 67 – 81
- 64 Moll R, Franke WW, Schiller D et al. The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell* 1982; 31(1):11-24.
- 65 Moll R, Lçe A, Laufer J, Franke WW 1992. Cytokeratin 20 in human carcinomas. A new histodiagnostic marker detected by monoclonal antibodies. *American Journal of Pathology* 140: 427-447.
- 66 van der Velden LA, Manni JJ, Ramaekers FC et al. Expression of intermediate filament proteins in benign lesions of the oral mucosa. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1999; 256(10):514-9.

67 Leigh IM, Cap. 56: Biología de los queratinocitos. en Bologna JL, Jorizzo JL y Rapini RP, Dermatología, 1° Edición. Editorial Elsevier 2004;763 – 773

68 Brunotto M, Zárate AM, Cismondi A et al. Valuation of exfoliative cytology as prediction factor in oral mucosa lesions. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2005;1(10) Suppl 2:E92-102.

69 Jacques CM, Pereira AL, Maia V et al. Expression of cytokeratins 10, 13, 14 and 19 in oral lichen planus. J Oral Sci 2009;51(3):355-65.

70 Leigh IM, Cap. 56: Biología de los queratinocitos. Pág 763 – 773 en Bologna JL, Jorizzo JL y Rapini RP, Dermatología, 1° Edición. Editorial Elsevier 2004.

71 Innocenti AC. Determinación de citoqueratinas 1,13 14 en liquen plano oral. Monografía. Presentado en el Área Dermatología. FCM. UNCuyo. 2010.

72 Bloor BK, Seddon SV, Morgan PR. Gene expression of differentiation-specific keratins (K4, K13, K1 and K10) in oral non-dysplastic keratoses and lichen planus. J Oral Pathol Med 2000; 29(8):376-84.

73 Clausen H, Moe D, Buschard K et al. Keratin proteins in human oral mucosa. J Oral Pathol Med 1986;15:36–42.

74 Oubayoun JP, Gosselin F, Forest N et al. Cytokeratin patterns of human oral epithelia: Differences in cytokeratin synthesis in gingival epithelium and the adjacent alveolar mucosa. Differentiation 1985;30:123–129.

75 Roop DR, Huitfeldt H, Kilkenny A et al. Regulated expression of differentiation-associated keratins in cultured epidermal cells detected by monospecific antibodies to unique peptides of mouse epidermal keratins. Differentiation 1987;35:143–50.

76 Smith MD, Rees JL. Wavelength-specific upregulation of keratin mRNA expression in response to ultraviolet radiation. J Invest Dermatol 1994;102:433–9.

77 Kowalczyk E, Krzesinski P, Kura M, Skmigielski B, Blaszczyk J. Anthocyanins in medicine. Pol J Pharmacol 2003;55:699-702.

78 Ercxon GL. Lack of in vivo clastogenic activity of grape seed and grape skin extracts in a mouse micronucleus assay. Food Chem Toxicol 2003;41(3):347-50.

79 Bagchi M, Balmoori J, Bagchi D, Ray SD, Kuszynski C, Stohs SJ. Smokeless tobacco, oxidative stress, apoptosis, and antioxidants in human oral keratinocytes. Free Radic Res 2001;35(2):181-94

-
- 80 Bagchi D, Garg A, Krohn RL, Bagchi M, Tran MX, Stohs SJ. Oxygen free radical scavenging abilities of vitamins C and E, and a grape seed proanthocyanidin extract in vitro. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 1997;95(2):179-89.
- 81 Dodd MJ, Dibble SL, Miaskowsky Ch, MacPhail L, Greenspan D, Paul SM, Shiva G, Larson P. Randomized clinical trial of the effectiveness of 3 commonly used mouthwashes to treat chemotherapy induced mucositis. *Oral Surg oral med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2000;90:39-47.
- 82 Rubinstein E, Peterson D, Schubert M, Keefe D, Mc Guire D, Epstein J, Elting L, Fox P, Cooksley C, Sonis S. Clinical practice guidelines for the prevention and treatment of cancer therapy-induced oral and gastrointestinal mucositis. *Cancer* 2004;100(9 Suppl): 2026-46.
- 83 Bordoni N, Doño R, Miraschi C Preconc. *Odontología Preventiva. Curso I. Módulo 3, submódulo 2 y 3. Ed. Paltex, Buenos Aires, 1983.*
- 84 Rivarola de Gutierrez E., Pizzi de Parra N. Virosis orales. *Rev Fac Odont UNCuyo* 2001;1:45-54.
- 85 Lange, D.E. *Seminer Uber Orale Zytodiagnostik. Alem. Occ.Munster. 1988.*
- 86 Vargas-Roig LM, Cuello-Carrión FD, Fernández-Escobar N, Daguerre P, Leuzzi M, Ibarra J, Gago FE, Nadin SB, Ciocca DR Prognostic value of Bcl-2 in breast cancer patients treated with neoadjuvant anthracycline based chemotherapy. *Mol Oncol.* 2008;2(1):102-11.
- 87 Carta S, Castellani P, Delfino L, Tassi S, Venè R, Rubartelli A. DAMPs and inflammatory processes: the role of redox in the different outcomes. *J Leukoc.Biol.* 86.000-000.2009. *Published on June 29, 2009 as DOI:10.1189/jbl.1008598.*
- 88 Akira S, Takeda K. Functions of Toll-like receptors: lessons from KO mice. *C R Biol* 2004;327:581-589.
- 89 Seong SY, Matzinger P. Hydrophobicity: an ancient damage associated molecular pattern that initiates innate immune responses. *Nat Rev Immunol* 2004;4:469-478.
- 90 Mariathasan, S., Monack, D. M. Inflammasome adaptors and sensors: intracellular regulators of infection and inflammation. *Nat Rev Immunol* 2007;7:31-40.
- 91 Beutler, B. Toll-like receptors and their place in immunology. Where does the immune response to infection begin? *Nat Rev Immunol* 2004;4:498.
- 92 Kavita Bishta, Karl-Heinz Wagnerb, Andrew C. Bulmer. Curcumin, resveratrol and flavonoids as anti-inflammatory, cyto and DNA-protective dietary compounds. *Toxicology* 2010;278:88-100.

-
- 93 Gonzalez-Moles MA, Scully C. HPA-suppressive effects of aqueous clobetasol propionate in the treatment of patients with oral lichen planus *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2010;24(9):1055-1059.
- 94 Vidushi S. Neergheen, Theeshan Bahorun, Ethan Will Taylor, Ling-Sun Jend, Okezie I. Aruoma Targeting specific cell signaling transduction pathways by dietary and medicinal phytochemicals in cancer chemoprevention. *Toxicology* 2010;278:229–241.
- 95 Shao ZH, Qin YM, Becker LB, Hoek TL, Li CQ, Schumacher PT, et al. Grape seeds proanthocyanidins reduce oxidant stress in cardiomyocytes. *Acad Emerg Med* 2001;8: 526.
- 96 Yc X, Krohn RL, Liu W, Joshi SS, Kuszynski CA, Mc Ginn TR, et al. The cytotoxic effects of a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract on cultured human cancer cells. *Mol Cell Biochem* 1999;196:99-108.
- 97 Sato M, Maulik G, Ray PS, Bagchi D, Das DK, Cardioprotective effects of grape seeds proanthocyanidin against ischemic reperfusion injury. *J Mol Cell Cardiol* 1999;31:1289-97.
- 98 Radovanovic, A.; Radovanovic, B.; Jovancicevic, B. Free radical scavenging and antibacterial activities of southern Serbian red wines. *Food Chem.* 2009, *117*, 326–331.
- 99 Baydar, N.G.; Sagdic, O.; Ozkan, G.; Cetin, S. Determination of antibacterial effects and total phenolic contents of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. *Int. J. Food Sci.* 2006, *41*, 799–804.
- 100 Jayaprakasha, G.K.; Tamil, S.; Sakartah, K.K. Antibacterial and antioxidant activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. *Food Res. Int.* 2003, *36*, 117–122.
- 101 Bruno, G.; Sparapano, L. Effects of three esca-associated fungi on *Vitis vinifera* L : V. Changes in the chemical and biological profile of xylem sap from diseased cv. Sangiovese vines. *Physiol.Mol. Plant Pathol.* 2007, *71*, 210–229.
- 102 Jung, H.J.; Hwang, I.A.; Sung, W.S.; Kang, H.; Kang, B.S.; Seu, Y.B.; Lee, D.G. Fungicidal effect of resveratrol on human infectious fungi. *Arch. Pharm. Res.* 2005, *2*, 557–560.
- 103 de Bruyne, T.; Pieters, L.; Witvrouw, M.; de Clercq, E.; Berghe, D.V.; Vlietinck, A.J. Biological evaluation of proanthocyanidin dimers and related polyphenols. *J. Nat. Prod.* 1999, *62*, 954–958.
- 104 Chavez, J.H.; Leal, P.C.; Yunes, R.A.; Nunes, R.J.; Barardi, C.R.; Pinto, A.R.; Simoes, C.M.; Zanetti, C.R. Evaluation of antiviral activity of phenolic compounds and derivatives against rabies virus. *Vet. Microbiol.* 2006, *116*, 53–59.

105 En-Qin Xia, Gui-Fang Deng, Ya-Jun Guo and Hua-Bin Li. Biological Activities of Polyphenols from Grapes *Int. J. Mol. Sci.* 2010, *11*, 622-646.

106 Rodriguez-Vaquero, M.J.; Alberto, M.R.; Manca-de-Nadra, M.C. Influence of phenolic compounds from wines on the growth of *Listeria monocytogenes*. *Food Control*. 2007, *18*,587–593.

107 Papadopoulou, C.; Soutli, K.; Roussis, I.G. Potential antimicrobial activity of red and white wine phenolic extracts against strains of *Taphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans*. *Food Technol. Biotechnol.* 2005, *43*, 41–46.

108 Li WG, Zhang XY, Wu YJ, Tian X. Anti-inflammatory effect and mechanism of proanthocyanidins from grape seeds. *Acta Pharmacol Sin* 2001;22(12):1117-1120.

109 Salvemini D, Wang ZQ, Wyatt Ps, Bourdon DM, et al. Nitric Oxide: a key mediator in the early and late phase of carrageenan induced rat paw inflammation. *Br J Pharmacol* 1996;118:829-38.

110 Zhang XL, Gao MT, Li WG, et al. The antilipoperoxidative effect of GSE in vitro. In Zheng RL editor. *Advances in free radical life sciences*, V7 Beijing. Atomic Energy publishing House. 1999;116-20.

111 Brady TC, Chang LY, Day BJ, Crapo JD. Extracellular superoxide dismutase is upregulated with inducible nitric oxide synthase after NF-kappaB activation. *Am J Physiol* 1997;273:102-6.

112 ChiouGCY, Liu SXL. Systemic antiinflammation by synthetic interleukin-1 blockers. *Acta Phrmacol Sin* 1999;20:405-8.

113 UpadhyayRB, Carnelio S , Shenoy RP ,Gyawali P, MukherjeeM. Oxidative stress and antioxidant defense in oral lichen planus and oral lichenoid reaction .*Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation* 2010;70:225–228.

114 Nagao, T., Warnakulasuriya, S., Ikeda, N., Fukano, H., Yamamoto, S., Yano, M., Miyazaki, H. and Ito, Y. Serum antioxidant micronutrient levels in oral lichen planus. *Journal of Oral Pathology & Medicine*,2001;30: 264–267.

115 Agha-Hosseini, F., Mirzaii-Dizgah, I., Mikaili, S. and Abdollahi, M. (2009), Increased salivary lipid peroxidation in human subjects with oral lichen planus. *International Journal of Dental Hygiene*, 7: 246–250.

116 Seoane J, Romero M A, Varela-Centelles P, Diz-Dios, Garcia-Pola MJ. Oral Lichen Planus: A Clinical And Morphometric Study Of Oral Lesions In Relation To Clinical Presentation *braz Dent J* (2004) 15(1): 9-12.

-
- 117 Chaiyarit P, Kafrawy AH, Miles DA et al. Oral lichen planus: an immunohistochemical study of heat shock proteins (HSPs) and cytokeratins (CKs) and a unifying hypothesis of pathogenesis. *J Oral Pathol Med* 1999;28(5):210-5.
- 118 Donetti E, Gualerzi A, Bedoni M et al. Desmoglein 3 and keratin 10 expressions are reduced by chronic exposure to cigarette smoke in human keratinized oral mucosa explants. *Arch Oral Biol* 2010;55:815–823.
- 119 John D Chen, Jean-Christophe Lapiere, Daniel N Sauder, Christina Peavey and David T Woodley Interleukin-1 Stimulates Keratinocyte Migration Through an Epidermal Growth Factor/Transforming Growth Factor--Independent Pathway. *J Invest Dermatol* 1995;104:729–733.
- 120 Rhodus NL, Cheng B, Myers S, Miller L, Ho V, Ondrey F. The feasibility of monitoring NF-kappaB associated cytokines: TNF-alpha, IL-1alpha, IL-6, and IL-8 in whole saliva for the malignant transformation of oral lichen planus. *Mol Carcinog* 2005;44(2):77-82.
- 121 Moi P, Chan K, Asunis I, Cao A, Kan YW . "Isolation of NF-E2-related factor 2 (Nrf2), a NF-E2-like basic leucine zipper transcriptional activator that binds to the tandem NF-E2/AP1 repeat of the beta-globin locus control region". *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* October 1994;91(21):9926–30.
- 122 Prisco Mirandola, Giuliana Gobbi, Cristina Micheloni, Mauro Vaccarezza, Daniela Di Marcantonio, Francesca Ruscitti1, Giuseppe de Panfilis and Marco Vitale. Breast, Skin, Soft Tissue and Bone. Hydrogen sulfide inhibits IL-8 expression in human keratinocytes via MAP kinase signaling. *Laboratory Investigation* 2011;91:1188–1194.
- 123 Chan JY, Cheung MC, Moi P, Chan K, Kan YW. "Chromosomal localization of the human NF-E2 family of bZIP transcription factors by fluorescence in situ hybridization". *Hum Genet* 1995;95(3):265–9.
- 124 Patel, Rachana; Maru Girish. "Polymeric black tea polyphenols induce phase II enzymes via Nrf2 in mouse liver and lungs". *Free Radic. Biol. Med.* U.S.A.2008;44(11): 1897–911.
- 125 Shibata Tatsuhiro, Ohta Tsutomu, Tong Kit I, Kokubu Akiko, Odogawa Reiko, Tsuta Koji, Asamura Hisao, Yamamoto Masayuki, Hirohashi Setsuo. "Cancer related mutations in NRF2 impair its recognition by Keap1-Cul3 E3 ligase and promote malignancy". *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2008;105(36):1368–73.