



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

ESCUELA DE POSGRADO

**“ALTERACIONES FISIOPATOLÓGICAS EN SALIVA
HUMANA Y EN GLÁNDULAS SALIVALES DE RATAS
TRATADAS CON DROGAS ONCOLÓGICAS”**

TESISTA:

OD. MARCELO ADRÍAN MAZZEO

DIRECTOR:

PROF. DRA. ANA BEATRIZ FINKELBERG

CÓRDOBA, 2009



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-
NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
ESCUELA DE GRADUADOS**

Trabajo de Tesis para optar al Título de

DOCTOR EN ODONTOLOGÍA

Doctorando:

Od. Marcelo Adrián Mazzeo

Directora de Tesis:

Prof. Dra. Ana Beatriz Finkelberg

Córdoba, República Argentina. 2009

**“ALTERACIONES FISIOPATOLÓGICAS
EN SALIVA HUMANA
Y EN GLÁNDULAS SALIVALES DE RATAS
TRATADAS CON DROGAS ONCOLÓGICAS”**

Doctorando:

Od. MARCELO ADRIÁN MAZZEO

Directora de Tesis:

Prof. Dra. ANA BEATRIZ FINKELBERG

Comisión de Tesis de Doctorado:

Prof. Dra. MARÍA ELSA GÓMEZ DE FERRARIS

Prof. Dra. SILVIA LÓPEZ DE BLANC

Prof. Dr. ALDO RENATO EYNARD

DEDICATORIA

A la **Prof. Dra. María Luisa Rins de David**, mi primera Maestra en la Cátedra de Fisiología, quién despertara en mi persona, la vocación por la docencia y la investigación.

A mi Directora de Tesis, **Prof. Dra. Ana Beatriz Finkelberg**, por haberme iniciado y guiado en la investigación, con su excelente capacidad profesional y noble amistad.

A la **Prof. Dra. Norma Lanfri de Aguilar**, por colaborar en mi formación como docente de la Cátedra de Fisiología.

A mis entrañables amigos **Bioq. Jorge Alberto Linares, Od. María Marcela López, Méd. Claudio Dubersarsky** y **Prof. María Esther Giraudo**, por sus incondicionales y valiosas assistencias profesionales.

A los **colegas de la Cátedra de Fisiología** que me acompañaron en este proyecto.

A mi esposa **Juliana**, que posibilitó con su amor sincero, entrega silenciosa e incondicional apoyo la concreción de esta meta.

A mis hijas **Agustina** y **Valentina** que dan sentido y profunda alegría a mi existencia.

A mis padres, **Daniel** y **Susana**, por el precioso regalo de la vida.

A mis tíos **Alba, Alfonso, Gloria** y **Filomena** quienes desde la distancia alentaron mis iniciativas.

AGRADECIMIENTOS:

PROF. DRA. ANA BEATRIZ FINKELBERG
PROF. DRA. MARIA ELSA GOMEZ DE FERRARIS
PROF. DR. ALDO EYNARD
PROF. DRA. SILVIA LOPEZ DE BLANC
PROF. DRA. MARIA LILIANA CAMPOS
PROF. DRA. LILIANA AZCURRA
PROF. DRA. RAQUEL GALLARÁ
PROF. DRA. MABEL BRUNOTTO
BIOQUIMICO JORGE LINARES
DR. GUSTAVO JARCHUM
DR. CLAUDIO DUBERSARSKY
DR. MARCELO LAVARDA
DRA. MARTHA AREVALO
DRA. SUSANA DE LA VEGA
DRA JUDITH RABER DURLACHER
DRA. ALICIA MALBERTI
OD. JULIANA CASTAGNO
OD. MARCELA LOPEZ DE LINARES
FCÉUTICA. ANA MARÍA CAVADINI
PROF. SAURA ORSINI
PROF. MARIA ESTHER GIRAUDO
LIC. TAMARA CORTÉS
LIC. ISABEL C. MENDOZA
MARIA VICTORIA REYES

AGRADECIMIENTOS A INSTITUCIONES:

CATEDRA DE FISIOLOGIA. FACULTAD DE ODONTOLOGÍA. U.N.C.
SERVICIO DE ONCOLOGIA Y HEMATOLOGIA. SANATORIO ALLENDE.
CATEDRA DE QUIMICA BIOLOGICA. FACULTAD DE MEDICINA. U.N.C.
SECyT.
AGENCIA CORDOBA CIENCIA.
ESCUELA DE GRADUADOS. FACULTAD DE ODONTOLOGIA. U.N.C.

AGRADECIMIENTO ESPECIAL:

A TODOS LOS PACIENTES DEL SERVICIO DE ONCOLOGÍA Y
HEMATOLOGÍA DEL SANATORIO ALLENDE QUE VOLUNTARIAMENTE
COLABORARON EN LA REALIZACIÓN DE ESTE ESTUDIO.

A CONRADO

(Escrito en su memoria: víctima de leucemia)

*Ay vida!,
ay tiempo!,
si enmascaran solo sufrimiento.
Oh conjuro entrelazado,
para un largo padecimiento.
Inocencia perdida,
niñez mancillada,
por dolores viejos,
que vinieron a tu encuentro.
El dolor te ha elegido,
en tu breve camino.
Como borraste tu sonrisa,
por eternos sollozos de lamento!
Ay de la vida,
Ay del tiempo,
si en tu alborada
han despedazado tu corazón tierno.*

MARCELO A. MAZZEO

06. II. 2.007.

“Lo importante es no dejar de hacerse preguntas”

Albert Einstein

ÍNDICE:

RESUMEN 6
SUMMARY 7
ABREVIATURAS 8

INTRODUCCIÓN

- Fisiología de las glándulas salivales 9
- Inervación de las glándulas salivales 13
- Variaciones fisiológicas y patológicas de la cantidad y
 composición del flujo salival 15
- Cáncer: estadísticas básicas 17
- Consideraciones generales sobre el carcinoma de colon 17
- Consideraciones generales sobre el carcinoma de mama 18
- Generalidades farmacológicas de las drogas utilizadas en
 algunos esquemas terapéuticos para carcinoma de colon
 y mama 20
 - 5-fluorouracilo (5-FU) 20
 - Leucovorina cálcica (LV) 20
 - Ciclofosfamida 21
 - Doxorubicina 21
 - Docetaxel 22
- Importancia de la saliva como fluido diagnóstico en patologías
 bucales y sistémicas 22
- Presencia de drogas en saliva humana 23
- Efectos de las drogas citostáticas sobre la salud bucal 26

OBJETIVOS GENERALES

a- En pacientes 28
 b- En ratas 28

MATERIALES Y MÉTODO

a) Pacientes	30
➤ <i>Criterio de inclusión y exclusión</i>	31
➤ <i>Distribución de la muestra</i>	31
➤ <i>Observación de los pacientes</i>	32
➤ <i>Confección de historia clínica "ad-hoc"</i>	32
➤ <i>Recolección de saliva basal y estimulada</i>	33
➤ <i>Procesamiento de las muestras salivales</i>	33
➤ <i>Índices de salud bucal</i>	34
➤ <i>Análisis estadístico</i>	36
b) Experimentos en ratas	37
➤ <i>Primera etapa</i>	39
➤ <i>Segunda etapa</i>	40

RESULTADOS

a) En Pacientes	
➤ Descripción biodemográfica	41
○ Edad y sexo de los pacientes	41
○ Antecedentes genéticos	42
○ Distribución de pacientes por esquema terapéutico	43
➤ Carcinoma de colon	
○ Flujo basal y estimulado	43
○ Xerostomía	44
○ pH	44
○ Componentes orgánicos e inorgánicos	45
○ Disgeusia	46
○ Índice de Løe y Silness	46
○ Prueba no paramétrica para determinación del índice de Løe y Silness	46

○ Índice de hemorragia simplificado	47
○ Índice de hemorragia no paramétrico de carcinoma de colon.	47
○ Índice de profundidad de sondaje vestibular	47
○ Evaluación de la profundidad de sondaje en caninos y primeros molares de pacientes con carcinoma de colon (test no paramétrico) ...	48
○ Índices de C.P.O., Ramfjord y Placa	50
○ Índices hematológicos	50
➤ Carcinoma de mama	
○ Flujo basal y estimulado	52
○ Xerostomía	53
○ pH	54
○ Componentes orgánicos e inorgánicos	54
○ Comparación entre esquemas terapéuticos para carcinoma de mama	56
○ Disgeusia	58
○ Índice de Löe y Silness	58
○ Prueba no paramétrica para determinación del índice de Löe y Silness para los tres esquemas de carcinoma de mama	59
○ Índice de hemorragia simplificado	59
○ Prueba no paramétrica para la determinación del índice de hemorragia en carcinoma de mama en los tres esquemas terapéuticos	60
○ Índice de profundidad de sondaje	60
○ Evaluación de la profundidad de sondaje en caninos de pacientes con carcinoma de mama (test no paramétrico)	61

○ Evaluación de la profundidad de sondaje en primeros molares de pacientes con carcinoma de mama (test no paramétrico)	63
○ Índices de C.P.O., Ramfjord y Placa	66
○ Índices hematológicos	67
b) Resultados en ratas	
➤ Peso corporal	72
➤ Peso húmedo y seco de glándulas submandibulares	73
➤ Flujo salival	73
➤ Electrolitos y componentes orgánicos	74
➤ Extendidos de sangre	75
○ Recuento de glóbulos rojos	
○ Hemoglobina	
○ Hematocrito	
○ Recuento de glóbulos blancos	
○ Heterófilos	
○ Linfocitos	
○ Monocitos	
○ Plaquetas	
➤ Determinación de glucógeno tisular	79
➤ Efecto de isoproterenol y pilocarpina sobre el glucógeno de glándula submandibular de rata	79
➤ Curvas dosis-respuesta	80

DISCUSIÓN

a) En pacientes	82
b) Experimentos en ratas	90

CONCLUSIONES

a) Estudio longitudinal en pacientes con carcinoma de colon 94
b) Estudio longitudinal en pacientes con carcinoma de mama 95
c) Conclusiones para ambos esquemas oncológicos 97
d) Conclusiones sobre experimentos en ratas 99

BIBLIOGRAFÍA 100

ANEXOS

a) Modelo de Historia Clínica ad-hoc 115
b) Formulario de consentimiento informado 122
c) Autorización del Comité Institucional de Ética del Sanatorio
Allende 127
d) Certificado de lugar de trabajo 129
e) Certificado de participación en Ateneo ante el Comité
de tumores del Sanatorio Allende 130
f) Autorización de la Comisión de Bioética de la Facultad de
Ciencias Médicas (UNC) para experimentos en ratas 131
g) Artículo publicado en Medicina Oral (España) 132

RESUMEN:

El objetivo del presente trabajo fue analizar los efectos de la quimioterapia sobre la cavidad bucal en pacientes con diagnóstico de carcinoma de colon y mama a través de evaluaciones sialoquímicas e índices de salud bucal en etapas inicial, intermedia y final.

El tratamiento con 5-FU+LV disminuyó el flujo basal y estimulado y el pH, con incremento de Na⁺, K⁺ y urea basal en etapa intermedia. Los índices de salud bucal se deterioraron en etapa intermedia revirtiendo en etapa final, salvo la profundidad de sondaje, que se mantuvo al finalizar el tratamiento. El tratamiento de carcinoma de mama no alteró el flujo basal. Con AC disminuyó la secreción estimulada recuperándose al finalizar. El tratamiento con AC y FAC acidificó la saliva basal e incrementó el Cl⁻; DD sólo disminuyó la concentración de PO₄⁻³. La respuesta inflamatoria aumentó en los diferentes esquemas; sólo revirtió en AC. La profundidad de sondaje mostró efectos similares al grupo tratado con 5-FU+LV.

En ratas, se evaluó el efecto de 5-FU + LV sobre parámetros sistémicos y glandulares en a) ratas C b) ratas con AA c) ratas tratadas con 5-FU d) ratas tratadas con 5-FU + LV. Los tres grupos disminuyeron el peso corporal con relación a C; la disminución del peso glandular fue mayor en 5-FU+LV que en dieta apareada al igual que el flujo salival estimulado y la concentración de Ca⁺² y PO₄⁻³. El tratamiento con citostáticos alteró: índices hematológicos, consumo de glucógeno y la respuesta secretoria.

SUMMARY:

The present work focusses on the effects of chemotherapy on the oral cavity of patients diagnosed with breast and colon cancer carcinoma by inmunoassays and oral health indexes found in initial, intermediate or final stages.

Treatment with 5-FU+LV diminished basal and stimulated flow and pH, while Na⁺, K⁺ and basal urea rose during the intermediate stage. Oral health indexes deteriorated during the intermediate stage and reverted by the final stage except for the depth of the tube which was maintained throughout the end of the therapy. Breast cancer treatment did not affect basal flow AC dropped stimulated secretion and recovered by the end.

AC and FAC acidified basal saliva and increased Cl⁻ DD just dropped PO₄⁻³ concentration.

Inflammatory response appeared higher in all different schemes but reverted in AC.

Depth of the tube showed similar effect to that observed in the 5-FU+LV treated group.

In rats, the effect of 5 FU+LV of systemic and gland parameters was studied in a) C rats and b) PF treated rats, c) 5 FU treated rats and d) 5 FU+LV treated subjects.

Three groups exhibited loss of body weight as compared to C, gland weight loss was higher for FU+LV than PF just like stimulated salivary flow, Ca⁺² and PO₄⁻³ concentration. Cytostatic treatment changed hematologic values, glucogen uptake and secretory response.

ABREVIATURAS UTILIZADAS EN EL PRESENTE TRABAJO:

5-FU: 5- fluorouracilo

AC: adriamicina-ciclofosfamida

ADN: ácido desoxiribonucleico

AJCC: American Joint Comité on Cancer

ARN: ácido ribonucleico

C.P.O: cariado-perdido-obturado

CA: anhidrasa carbónica

CEA: antígeno carcinoembrionario

CMF: ciclofosfamida-metotrexato-fluorouracilo

DD: docetaxel-doxorubicina

EA: elemento ausente

FAC: 5-fluorouracilo-metotrexato-ciclofosfamida

GSM: glándula submandibular

IRM: imaginología por resonancia magnética

LV + 5-FU: leucovorina cálcica + 5-fluorouracilo

LV: leucovorina cálcica

MMP-8: metaloproteinasa

INTRODUCCIÓN

Fisiología de las glándulas salivales

Las glándulas salivales están constituidas por un parénquima y un estroma. El parénquima (porción funcional) está principalmente compuesto por células epiteliales especializadas divididas en dos estructuras: acinos y conductos. Los acinos se conforman por células secretoras (formadoras de proteínas) y células mioepiteliales con actividad contráctil. A su vez, varios acinos convergen en conductos intercalares, que drenan en conductos estriados o granulares y éstos se vacían en unos pocos conductos excretores conformando finalmente el conducto excretor principal (Fig. 1). En el estroma se distribuyen los vasos sanguíneos y linfáticos, así como los nervios simpáticos y parasimpáticos que controlan la función glandular (1).

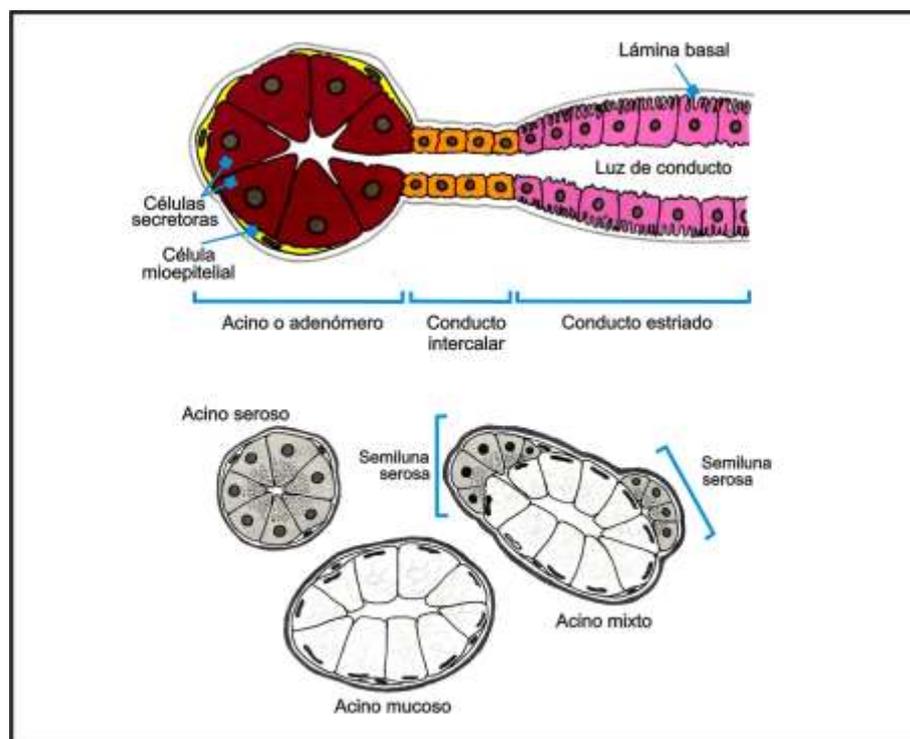


Figura 1. Organización del parénquima intralobulillar de las glándulas salivales y diferentes tipos de acinos. (De Gómez de Ferraris, ME y Campos Muñoz A. Histología, Embriología e Ingeniería Tisular Bucodental. 3º edición. 2009. Editorial Médica Panamericana).

El sistema circulatorio, baña los acinos y los conductos de las glándulas salivales, a través de un sistema de doble capilarización, interactuando con ellos, en la transferencia de muchos de los componentes que la conforman, además de aquellos sintetizados por el conjunto de las células acinares (2).

Se define por saliva total o mixta, al producto de la secreción conjunta de las glándulas salivales mayores: parótidas, submaxilares y sublinguales, sumada a la acción sinérgica de las glándulas salivales menores (3). Es estéril cuando sale de las glándulas salivales, pero deja de serlo en el interior de la cavidad bucal, cuando se mezcla inmediatamente con trazas del exudado del líquido crevicular, células epiteliales descamadas, restos de alimentos, microorganismos, hongos, etc. (4).

Las glándulas salivales mayores proporcionan el 90% de esta secreción.

El 10 % restante, corresponde a las glándulas salivales menores. Estas últimas son de naturaleza mucosa y por su secreción rica en mucinas, lubrican la superficie de la mucosa bucal.

La saliva está constituida químicamente por 99% de agua y el 1% restante por componentes proteicos (glucoproteínas), compuestos orgánicos no proteicos (glucosa, urea, creatinina etc.) y componentes inorgánicos (sodio, potasio, calcio, cloruros, fluoruros, bicarbonatos, etc.). Cada uno de ellos desempeña una serie de funciones biológicas, constituyendo la llave del mantenimiento de la salud bucal (5).

Tiene un pH promedio que oscila entre 6,8 a 7,2. El pH de la saliva basal es ligeramente ácido, en tanto que el pH estimulado es más alcalino existiendo notables variaciones interindividuales (6). La saliva humana estabiliza sustancias ácidas; el sistema responsable de mantener la capacidad buffer incluye bicarbonatos, fosfatos y proteínas, considerando al primero el más representativo (7). En condiciones normales de secreción, bicarbonatos y fosfatos son los agentes responsables de mantener el pH en condiciones óptimas. Cuando disminuye la secreción salival, la acción de los fosfatos se hace significativamente manifiesta (8). Las proteínas constituyen el agente buffer de tercera línea, para un pH menor de 5,0 (9). El efecto buffer de la saliva

puede ser afectado por alteraciones generales de la salud, cambios metabólicos y hormonales. También se acepta que la capacidad buffer sea mayor en el sexo masculino que en el femenino (10). Por otra parte, algunos autores sostienen que el uso de anticonceptivos y de hormonas por terapia de reemplazo durante la menopausia, provocan un ligero incremento de esta capacidad (11, 12).

La viscosidad relativa, después de la estimulación glandular es la siguiente: parótida: 1,5; submaxilar: 3,4 y sublingual: 13,4 centipoises. De este hecho se destaca que el grado de viscosidad salival es directamente proporcional con el porcentaje de células mucosas (13, 14, 15, 16).

La saliva es importante en la protección de los tejidos bucales duros y blandos. Posee numerosas funciones entre las que se destaca su actividad humidificante, lubricante, limpiadora, gustativa, digestiva, bactericida, excretoria y/o detoxicante, amortiguadora, reguladora del equilibrio o balance hídrico y de reducción del efecto del trauma en los tejidos bucales (17, 18). Facilita actividades como el habla, la masticación y la deglución (19). De este modo, se pone de manifiesto su importancia en la homeostasis del sistema estomatognático.

La formación de la saliva sucede en dos etapas, denominadas primaria y secundaria (20). La etapa primaria, ocurre en los acinos que llevan a cabo la excreción de agua, electrolitos como sodio, cloro, potasio, calcio, fosfatos, magnesio, bicarbonato y metabolitos como la urea provenientes del plasma (21). Además, se secretan sustancias orgánicas, constituidas principalmente por proteínas de alto peso molecular y sustancias orgánicas de bajo peso molecular. Los aminoácidos entran en las células acinares por transporte activo, para permitir la síntesis de proteínas, que posteriormente son almacenadas en gránulos de zimógeno para su liberación, por un mecanismo de exocitosis merócrina en respuesta a la estimulación secretoria. (22) Se calcula que aproximadamente entre el 85 y 90 % de las proteínas encontradas en saliva total son secretadas por células acinares (23). La saliva primaria es isotónica con respecto al plasma. Las células acinares son permeables al agua, situación que no ocurre en las células ductales.

En la etapa secundaria o de reacomodamiento electrolítico, ocurre movimiento iónico de los principales componentes como agua, sodio, cloro, potasio, yodo y bicarbonato. Este proceso ocurre entre el sistema de conductos estriados y los capilares. Los aspectos más importantes de esta etapa se relacionan con el proceso de reabsorción de sodio y cloro provenientes de la saliva primaria y secreción de potasio, bicarbonato y algunas proteínas por parte de las células ductales (24). La secreción primaria se modifica y la saliva final se hace hipotónica respecto del plasma (25).

Otro componente que se incorpora durante el proceso secundario de formación salival es la IgA_s. Su función es la de proteger la mucosa bucal contra la invasión de microorganismos y produce una barrera contra la adherencia de bacterias en la superficie de los elementos dentarios, constituyendo un mecanismo de inmunidad humoral externo (26) (Fig. 2).

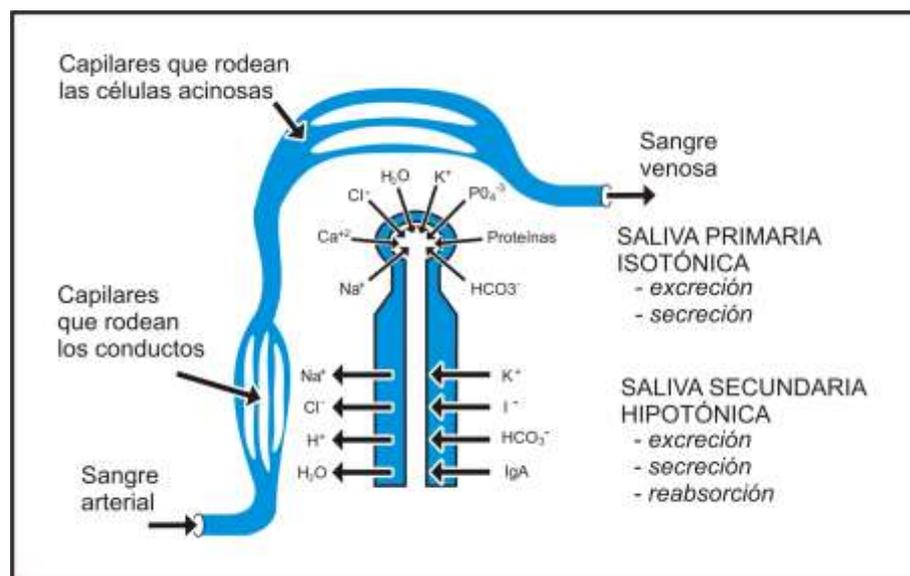


Figura 2. Etapa de formación de saliva primaria y secundaria. Modificado de Manns A y Díaz G. Facultad de Odontología. Universidad de Chile. 1994.

La producción de saliva en la especie humana, oscila entre 0,5 y 1 litro por día, aproximadamente. Esta cifra contempla tanto los períodos de reposo como los de producción estimulada (27).

La secreción en el ser humano se rige por un patrón circadiano; es reducida durante las primeras horas de la mañana, alcanza un pico máximo al mediodía,

se mantiene alta durante la tarde y disminuye notablemente durante el sueño (28, 29)

Las glándulas submandibulares son las más importantes en la secreción basal. Las parótidas son mayormente responsables de la secreción estimulada. El volúmen producido por las glándulas sublinguales es pequeño, pero continuamente secretan mucinas que luego recubren la cavidad bucal produciendo una adecuada lubricación de los tejidos bucales (30).

La cantidad de saliva secretada y expresada en mililitros durante un minuto se denomina flujo salival. El mismo posee importantes variaciones interindividuales que son condicionadas por factores fisiológicos como la edad (31), sexo (32), dieta (33), hidratación (34), hábitos, estrés y estados emocionales (35). Hay además causas de orden patológico, como las enfermedades autoinmunes (36), metabólicas (37), psicológicas, etc. (38).

El flujo salival se clasifica en basal o estimulado con características diferentes uno del otro (39). El flujo basal tiene por función el mantenimiento de la salud bucal, conservando la integridad de la mucosa bucofaríngea. La glándula submaxilar es la responsable del 75% de su secreción. La secreción basal es sensiblemente inferior a la saliva estimulada, con un pH ligeramente ácido, con mayor concentración de IgA_s.

El flujo estimulado manifiesta su actividad por estimulación de receptores intraorales mecánicos (tacto y presión) y químicos (gusto y olfatorios) y es 50 a 100 veces superior al basal. Se incrementa la concentración de agua, proteínas (α amilasa salival), sodio y bicarbonato, con menor proporción de IgA_s y potasio. El máximo valor de secreción alcanzado bajo condiciones de estimulación intensa es de 4 mililitros por minuto (40).

Inervación de las glándulas salivales

El sistema nervioso autónomo inerva las glándulas salivales mayores, por medio de sus divisiones simpática y parasimpática (41). La estimulación simpática, induce una secreción viscosa y filante con liberación de proteínas, en tanto que la secreción parasimpática promueve una secreción fluida, abundante

y rica en iones (42, 43). Los centros nerviosos parasimpáticos, se ubican en protuberancia y bulbo. Del núcleo salival superior emerge la fibra nerviosa perteneciente al VII par craneal que hace sinapsis en el ganglio submaxilar, desde el cual sale la fibra postganglionar que llega a las glándulas sublingual y submaxilar. Del núcleo salival inferior emerge la fibra nerviosa perteneciente al IX par craneal que hace sinapsis en el ganglio ótico, desde el cual sale la fibra postganglionar que inerva la glándula parótida. Estos núcleos son pares y su estimulación es ipsilateral o bilateral.

La inervación simpática emerge del I y II segmento torácico; la fibra nerviosa hace sinapsis en el ganglio cervical superior, el cual emite una fibra postganglionar que inerva las glándulas parótidas y submaxilares. En la actualidad no puede afirmarse que las glándulas sublinguales posean dicha inervación. Tanto el simpático como el parasimpático, estimulan la secreción salival, aunque la composición de la saliva secretada no es la misma. Además hay un pronunciado sinergismo y cooperación entre ambas divisiones, provocando potenciación de sus acciones (44).

La secreción salival puede también ser modificada por influencias provenientes del hipotálamo, especialmente del sistema límbico, frente a situaciones de estrés, ansiedad o depresión (45).

En la sinapsis efectora del sistema parasimpático, la acetilcolina se une a receptores muscarínicos M3 y M1 lo que activa al trifosfato de inositol (IP3) que aumenta el calcio intracelular, situación que estimula la secreción de proteínas. El calcio, a través de la calicreína, activa al mediador químico bradicinina, que desencadena vasodilatación con el consecuente incremento de saliva con mayor contenido de agua (46).

En la sinapsis efectora simpática, los neurotransmisores noradrenalina y adrenalina actúan sobre receptores α y β , estimulando dos mecanismos de acción distintos. La unión del neurotransmisor a receptores α , activa al trifosfato de inositol. Esto aumenta el calcio intracelular, estimulando la secreción proteica. Dicha estimulación tiene un potente efecto vasoconstrictor que disminuye el paso de agua y electrolitos a la luz acinar.

La unión de neurotransmisores a receptores β , aumenta los niveles de AMP cíclico que favorece la secreción proteica (47).

Variaciones fisiológicas y patológicas de la cantidad y composición del flujo salival

La secreción salival experimenta una tasa de secreción variable. Dependiendo de la cantidad de saliva secretada, dicho volúmen se manifiesta como normal (normosialia), aumentado (hipersialia) o disminuido (hiposialia).

Con menor frecuencia, la secreción salival puede verse aumentada. Esta alteración también se denomina, sialorrea o ptialismo y puede ser fisiológica o patológica.

Fisiológicamente se produce una mayor secreción salival durante el período de la erupción dentaria, por hiperestimulación de receptores periféricos de la mucosa bucal, en los dos primeros trimestres del embarazo, durante la menstruación, frente a estímulos olfativos, mecánicos (masticación) y gustativos (48).

Entre las causas patológicas de sialorrea se enumeran algunas enfermedades neurológicas como la enfermedad de Parkinson (49), epilepsia, encefalitis o algunos tumores (50). Son también considerados el hiperparatiroidismo, algunos procesos infecciosos y causas irritativas de origen bucal como la colocación de prótesis removible o aparatología de ortodoncia, el dolor de origen dental o cualquier proceso inflamatorio o irritativo en orofaringe (51, 52).

El diagnóstico diferencial se realiza mediante la sintomatología referida por el paciente, el cual experimenta incomodidad por deglutir permanentemente la saliva. La sialometría puede complementar el diagnóstico, mostrando generalmente un incremento del flujo salival basal (53).

La mayor parte de las alteraciones patológicas, se manifiestan con hiposialia por disminución de la actividad de las glándulas salivales, asociado generalmente al síntoma de xerostomía, que se define como la sensación subjetiva de boca seca. Este desorden se manifiesta con ardor y comezón

preferentemente localizado en la punta y bordes de la lengua, labios y sector anterior de paladar duro (54, 55). En la medida que progresan sus efectos, los pacientes manifiestan el desarrollo de otros síntomas como, dolor y dificultad para tragar, halitosis y alteraciones en el habla (56).

Clínicamente, estos desórdenes se asocian con algunos signos de interés entre los que se destacan pérdida del brillo y atrofia de la mucosa, fisuras en el dorso lingual, queilitis angular, aumento de infecciones bucales especialmente por *Candida spp*, presencia de caries en lugares atípicos y aumento del tamaño de las glándulas salivales (57, 58, 59). También se describen dificultades en la deglución, y disminución o alteración del gusto (60, 61, 62). Entre las causas que pueden provocar hiposalivación se encuentran: diabetes (63), síndrome de Sjögren (64), tumores u otras patologías de glándulas salivales, sarcoidosis, fibrosis quística, cirrosis, HIV, Hepatitis C, deshidratación y hábitos como tabaquismo y consumo de alcohol etc. (65).

Una de las mayores causas de hiposialia y/o xerostomía es la producida por el uso de fármacos. Se estima que entre 300 y 400 medicamentos serían responsables de interferir el proceso de secreción salival, siendo la polifarmacia en ancianos un factor adverso que incrementa el riesgo de los efectos relacionados con boca seca (66, 67). Dentro de las causas farmacológicas se enumeran drogas tales como los diuréticos del tipo de las tiazidas (68), antihistamínicos del orden de la clemastina, acrivastine, astemizol, cetirizina, ebastina, fexofenadina, loratadina, mizolastina y terfenadina (69), antihipertensivos como clonidina, guanfacine, alfa-metil-DOPA, moxonidina (70), anticonvulsivantes, neurolépticos, antidepresivos (71, 72), supresores del apetito (73), descongestivos como la pseudoefedrina o cetirizina (74), broncodilatadores (75), relajantes del músculo esquelético (76), drogas antimigrañosas (77) drogas anti-HIV (78, 79) y drogas citostáticas (80).

No obstante, la hipofunción salival y la intensidad de xerostomía experimentada, no siempre se correlacionan (81, 82).

Cáncer: estadísticas básicas

Según expectativas de la OMS, la incidencia de cáncer en el año 2020, se estima en 20 millones de personas, de las que el 55% morirán por dicha enfermedad. Se calcula que 11 millones de pacientes se enfrentarán entonces con una estrategia meramente paliativa (83).

De acuerdo a datos suministrados por el Registro provincial de tumores, en la Provincia de Córdoba (Argentina) hay entre 50000 y 70000 personas con diagnóstico de algún tipo de cáncer que están o estuvieron en tratamiento. Por año, se esperan entre 7000 y 8500 nuevos casos. Las mujeres parecen ser más susceptibles a padecer esta enfermedad en particular entre los 35 a 64 años de edad. La tasa de incidencia anual oscilaría entre 2,5 y 3 cada mil habitantes. Esto significaría que en Córdoba, una de cada 45 a 50 personas padece esta enfermedad. Según datos informados por el Ministerio de Salud de la Provincia, se ubica entre las enfermedades más frecuentes luego de las patologías cardiovasculares, diabetes y discapacidad. Entre los cánceres con mayor casuística se hallan en forma decreciente los siguientes tipos: mama, útero, próstata, pulmón, colon y leucemias.

Datos más recientes, arrojaron las siguientes estadísticas: “el tipo de cáncer que aparece con más frecuencia en la provincia de Córdoba es el de mama, seguido por el cáncer de pulmón que es el que más muertes ocasiona. Un poco más atrás se ubican los tumores de próstata y colon. La incidencia es de 248 casos cada 100.000 varones y de 209 casos cada 100.000 mujeres, en tanto que el grupo etáreo más afectado es el que se ubica entre los 60 y 79 años para ambos sexos. Cada año se suman entre 8000 y 9000 casos en toda la Provincia, de los que 4.055 son cánceres de mama (30,3%) y 1.910 casos de colon (8%)”.

Consideraciones generales sobre el carcinoma de colon

Es una patología tratable y a menudo con buen pronóstico si está localizada en la pared intestinal, con ausencia de complicación ganglionar y metástasis.

Cuando se evidencia obstrucción y/o perforación intestinal, las condiciones del pronóstico son precarias (84). Los niveles séricos elevados de antígeno carcinoembrionario (CEA), tiene una significación negativa en el pronóstico (85). Entre los grupos que tienen alta incidencia figuran aquellos con afecciones hereditarias como poliposis familiar, cáncer colónico no polipósico hereditario, variantes I y II del síndrome de Lynch y aquellos con antecedentes de colitis ulcerosa o colitis de Crohn (86). Otras afecciones que presentan alto riesgo, son antecedentes de cáncer colorrectal de mama, endometrial u ovárico (87).

Es posible conocer el grado de diseminación del tumor, mediante un proceso de “estadificación” que incluye estudios como la gammagrafía por TAC, imaginología por resonancia magnética (IRM) y cirugía. En base a la información que se reúne se puede determinar el estadio de la enfermedad que son los siguientes: 0 (carcinoma in situ), I, II A, II B, III A, IIIB, IIIC y IV (88).

A partir del estadio II de cáncer de colon, generalmente se indica quimioterapia. Hasta el año 2000, 5-fluorouracilo (5-FU) era la única quimioterapia citotóxica útil como adyuvante en pacientes bajo estadio III, Luego se descubrieron otras alternativas como capecitabine u oxaliplatino. Este último suele administrarse conjuntamente a 5-FU y leucovorina cálcica (LV) en el esquema conocido como FOLFOX. No obstante el uso concomitante de (5-FU+LV) sigue siendo una variante de uso frecuente (89).

Consideraciones generales sobre el carcinoma de mama

El cáncer de mama es una de las neoplasias malignas más comunes en mujeres y representa el 21% de los nuevos casos de cáncer. En términos globales, es el segundo cáncer más frecuente y se espera que para el año 2010 ocurran de 1,35 a 1,45 millones de casos nuevos. Las máximas tasas de incidencia se registran en países desarrollados e industrializados como Estados Unidos y los países Europeos, con excepción de Japón, norte de África, América del Sur y Asia oriental, donde la incidencia es moderada (90).

En los Estados Unidos es considerada la segunda causa de muerte entre las mujeres (91) y se calcula que una mujer entre diez podría desarrollar cáncer de mama durante el transcurso de su vida (92).

Córdoba expresa el mismo perfil que los países desarrollados. Entre los factores de riesgo más importantes se encuentran la edad, historia personal y familiar de neoplasia de mama, tratamiento de sustitución con estrógenos, obesidad abdominal, menarquia precoz, menopausia tardía y radiaciones ionizantes.

Se trata de patologías de características histológicas heterogéneas. La mayoría de ellos son adenocarcinomas y se clasifican en ductal o lobular (93). Estos a su vez pueden ser “*in situ*” porque no invaden el parenquima o el estroma de la mama y tienen un bajo potencial para provocar metástasis. Si en cambio son “infiltrantes” o “invasores”, constituyen tumores con mayor potencial de propagación. En general, el tratamiento se efectúa mediante diferentes combinaciones de maniobras tales como las quirúrgicas, radioterapia, hormonoterapia y quimioterapia. La elección de uno u otro depende principalmente del estadio de la enfermedad y del estado general de la paciente.

La quimioterapia, juega un rol importante en el manejo de tumores clínicamente no muy bien localizados y se conoce que la asociación de dos o más drogas, denominado poliquimioterapia es más efectiva. La selección del esquema terapéutico y el pronóstico, dependen de varios factores como el grado histológico del tumor primario, estadio de la enfermedad, compromiso ganglionar, menopausia, presencia de receptores de estrógeno y progesterona en el tejido tumoral (94).

De acuerdo a su estadio de evolución, la American Joint Comité on Cancer (AJCC) desde el año 1988 y posteriores modificaciones efectuadas en el año 2002, permitieron la confección de una clasificación que proporciona una estrategia para agrupar a los pacientes según su pronóstico (95, 96). Designada bajo las siglas TNM (del idioma inglés: tumor - node - metastasis) agrupa estos

tres parámetros en ocho estadíos distintos a saber: 0, I, IIA, IIB, IIIA, IIIB, III C y IV.

Generalidades farmacológicas de las drogas utilizadas en algunos esquemas terapéuticos para carcinoma de colon y mama

En el presente trabajo, la mayor casuística de cáncer se orientó hacia los carcinomas de colon y mama. Si bien son variados los tratamientos antineoplásicos por quimioterapia, nuestra experiencia se basó, para carcinoma de mama, en la observación del efecto de las drogas adriamicina y ciclofosfamida (AC), fluorouracilo, adriamicina y ciclofosfamida (FAC) y el esquema de recaída que combina docetaxel y doxorubicina (DD).

En tanto que para carcinoma de colon se evaluó el esquema (5-FU+LV).

Es sabido que estos agentes, en función de su mecanismo de acción, son capaces de detener el ciclo mitótico de las células tumorales (97).

5-fluorouracilo (5-FU)

(5-FU) se clasifica como análogo de las bases pirimídicas, que incorpora un átomo de flúor en posición 5 en lugar de hidrógeno, lesionando las células malignas por dos mecanismos: inhibiendo la timidilato sintetasa e incorporándose al ARN (98). Dentro de la clasificación general de citostáticos, (5-FU) es considerado un antimetabolito al igual que metotrexato porque inhiben la síntesis de bases nitrogenadas y del ADN por bloqueo enzimático. Es utilizado en poliquimioterapia para el tratamiento de tumores sólidos que incluyen mama, gastrointestinal, ovario y de cabeza y cuello. En décadas recientes fue administrado como único agente citostático estándar en el tratamiento de carcinoma colorectal, conjuntamente a leucovorina cálcica que modula su acción; aumentando su efectividad terapéutica (99).

Leucovorina cálcica (LV)

La (LV) es un derivado del metabolito ácido tetrahidrofólico, que es una coenzima esencial para la síntesis de ácidos nucleicos. A pesar de no ser una

droga citostática, actúa como biomodulador de la droga 5-fluorouracilo potenciando su toxicidad (100).

Ciclofosfamida

La droga ciclofosfamida es un agente citostático de la clase de los agentes alquilantes, que por la presencia de un grupo amida en su estructura química, es de naturaleza básica o alcalina. Es considerada un profármaco que necesita ser activada por el sistema de enzimas microsomales hepáticas para ser citotóxico. La ciclofosfamida es activada por el sistema citocrom P 450, vía metabólica del hígado; se transforma en primer término en 4-hidroxíciclofosfamida y aldofosfamida, esta última en presencia de células tumorales se desdobra espontáneamente generando cantidades de mostaza de fosforamida, la cual posee efectos antitumorales. Este agente alquilante al reaccionar con el ADN de las células tumorales, forma unos puentes que impiden la duplicación del mismo y provocan muerte celular (101).

En 1976, se publicó el efecto del tratamiento conjunto de ciclofosfamida, metotrexato y 5- fluorouracilo (CMF) en cáncer de mama nódulos positivos. Desde esos estudios preliminares hasta la actualidad, este esquema es considerado el tratamiento de quimioterapia ideal en pacientes con carcinoma de mama operable (102).

Doxorubicina

La droga doxorubicina o adriamicina es un agente inhibidor de la topoisomerasa II, que posee un importante rol citostático en el carcinoma de mama metastásico. En asociación con 5-fluorouracilo y ciclofosfamida constituyó el esquema FAC (5-fluorouracilo- adriamicina- ciclofosfamida) demostrando mayor eficacia que el tradicional esquema CMF (103).

Es considerada un antibiótico antraciclino que ejerce sus efectos sobre las células cancerosas por medio de dos mecanismos de acción: como agente intercalante este fármaco encaja entre las bases de ADN y bloquea la síntesis

de ADN y su transcripción. En segundo lugar, por medio de la inhibición de enzima topoisomerasa II que lleva a rompimientos del ADN genómico.

Docetaxel

Es de la clase de los taxanos, semisintético análogo de taxol (paclitaxel), un extracto del árbol *Taxus brevifolia*. Cuenta con un grupo funcional hidroxilo en el carbono 10 que lo hace más soluble en lípidos (104). Este agente antineoplásico actúa mediante la disociación de la red de microtúbulos a nivel celular, esencial para la función mitótica y de interfase celular. Está indicado en el tratamiento de carcinoma de mama local avanzado o metastático, cuando la terapia anterior no ha dado resultado (105).

Una de las variantes de uso es en combinación con antraciclinas como la doxorubicina (106).

Importancia de la saliva como fluido diagnóstico en patologías bucales y sistémicas

En los últimos veinte años, los países desarrollados promueven la utilización de la saliva en investigaciones con fines de diagnóstico, no sólo de tipo odontológico sino también sistémico (107, 108, 109).

El análisis de sangre tiene por finalidad dos propósitos que se correlacionan. El primero sirve como elemento coadyuvante para identificar posibles patologías y el segundo para efectuar seguimiento de un determinado proceso mórbido bajo tratamiento médico. Similar uso se ha tratado de prever respecto a las secreciones salivales, constituyéndose actualmente en un método de evaluación de numerosos trastornos sistémicos (110, 111, 112). Entre las enfermedades más importantes se destacan: Síndrome de Sjögren, reumatoideas, sarcoidosis, fibrosis quística, hipertensión, hiperlipemia, cirrosis alcohólica, malnutrición y diabetes entre otras (113, 114, 115, 116, 117).

Desde el punto de vista odontológico, los cambios en el flujo salival y su composición se utilizan para diagnosticar y monitorear enfermedades bucales (118).

La respuesta del organismo a la enfermedad periodontal incluye la producción de algunas enzimas que son liberadas por las células estromales, epiteliales y por las mismas bacterias. Su análisis, tanto en la secreción salival como en el fluido crevicular, puede contribuir a clarificar la patogénesis y mejorar el diagnóstico de esta patología (119, 120, 121, 122, 123).

En otros trabajos, fueron identificados un importante número de especies bacterianas tales como estreptococos mutans, lactobacilos, que fueron asociados con incremento de caries de esmalte en niños, adolescentes y ancianos (124, 125).

También se identificaron especies de origen fúngico como la *Candida Albicans*, lo que permitió observar un incremento de candidiasis bucal en aquellos pacientes portadores de prótesis removible (126).

Presencia de drogas en saliva humana

En la segunda mitad de la década del 70 se iniciaron los primeros estudios farmacocinéticos sobre drogas en general y monitoreo de drogas terapéuticas en saliva. A partir de entonces, una extensa lista de fármacos fue motivo de nuevos estudios hasta la actualidad (127).

La presencia de algunas drogas en saliva podría sustituir a la sangre como fluido diagnóstico. No obstante, la estabilidad de estos biomarcadores sería afectada por desórdenes sistémicos, polimedicación, radiación y enzimas proteolíticas derivadas de los microorganismos del huésped, que alteran la calidad y cantidad del flujo (128).

El monitoreo de algunas drogas en saliva humana, se utiliza con fines diagnósticos (129).

La presencia en saliva de elementos del plasma se explica a través de mecanismos de difusión pasiva, transporte activo y ultrafiltración (130).

La transferencia a la saliva de moléculas de determinadas drogas presentes en la sangre, depende de varios factores. Las moléculas de menor tamaño, liposolubles y no ionizadas difunden con más facilidad. La diferencia del pH entre el plasma y saliva, influye en la disponibilidad de la droga en la saliva (131). Un factor condicionante, es la unión de drogas con proteínas del plasma de alto peso molecular, que son incapaces de atravesar la membrana. (132). Otro parámetro considerado, es el aumento del flujo salival que puede alterar la estabilidad de la droga, por incremento en los niveles de bicarbonato que alcaliniza el fluido (133).

Diversos trabajos describieron la presencia de drogas en saliva y su correlación con niveles séricos (134, 135).

Desde la década del cincuenta se han monitoreado varias hormonas de naturaleza esteroidea (136). Más adelante se estableció que la concentración de esteroides libres era proporcional al hallado en plasma (137). La presencia de estradiol en saliva constituiría un método predictorio para la determinación del período de ovulación (138).

Otras hormonas han sido halladas en saliva tales como insulina y melatonina (139, 140).

En pacientes depresivos, se comprobó la presencia de litio en saliva (141).

La misma situación ocurrió con la droga ciclosporina, ampliamente utilizada en pacientes transplantados y en determinadas enfermedades reumatoideas (142).

Entre otros numerosos ejemplos pueden mencionarse drogas como la marihuana, cocaína, heroína, alcohol y cafeína (143, 144).

Por su parte, ha sido detectada la presencia del virus de inmunodeficiencia humana en varios fluidos corporales. Anteriormente se afirmaba que el virus tipo 1 (HIV 1) raramente podía transmitirse en saliva u orina. La proliferación de nuevas tecnologías, tales como el método ELISA ha permitido la detección en saliva de anticuerpos virales específicos (HIV 1 y HIV 2) constituyendo una alternativa al convencional test anti HIV efectuado en sangre.

Muchos autores aseveran que este método provee un procedimiento específico, sensible y de amplia utilización en estudios epidemiológicos (145, 146).

Estudios exploratorios indicarían que la saliva podría ser potencialmente utilizada como fluido diagnóstico en la detección precoz y posterior seguimiento del carcinoma de mama por la presencia de dos marcadores de naturaleza proteica, denominados CA 15-3 y c-erb B-2. El aumento de la concentración de estos dos antígenos salivales constituye una herramienta de sensibilidad confiable para el manejo diagnóstico de esta patología (147). También se ha informado que el test salival para la determinación del nivel de estos biomarcadores, junto al examen físico y el estudio de mamografía constituyen los ejes de la detección en los primeros estadios. La realización de mamografía y test salival reduciría el número de falsos positivos y negativos (148).

El alcance del monitoreo de drogas en saliva se extendió a los fármacos oncológicos. El fármaco Irinotecan y su metabolito activo SN-38 fueron reportados en similar proporción en plasma y saliva (149).

Si bien se ha constatado la presencia de cisplatino y carboplatino en saliva, no pudo efectuarse una debida correlación con plasma (150, 151).

Otros estudios similares fueron comunicados por diversos autores en drogas oncológicas como 5-fluorouracilo, doxorubicina y metotrexato (152, 153, 154, 155).

A medida que ingresamos en la era de la medicina genómica, la saliva podría jugar potencialmente un importante rol en la detección temprana de enfermedades como así también en el monitoreo de la progresión de una determinada patología (156).

Teniendo en cuenta estos antecedentes, son más que oportunas las afirmaciones del Dr. Mandel Irwin D. pronunciadas en 1990: "*in saliva veritas*" (cree en saliva), aseverando en esta frase, que son muchas las evidencias que prueban el potencial que ofrece la saliva en el campo no solo de la odontología sino de la medicina en general (157).

Efectos de las drogas citostáticas sobre la salud bucal

La mayoría de los esquemas oncológicos provocan alteraciones secundarias. Dado que la administración de estos fármacos es efectuada por vía sistémica, poseen un efecto adverso sobre varios sistemas orgánicos, principalmente en aquellos con un alto índice de recambio celular y de actividad funcional, como el sistema estomatognático. El análisis de estos efectos no siempre resulta claro ya que se apoyan en informes confeccionados por los propios pacientes durante la quimioterapia (158).

Ya que en algunos casos las complicaciones en la cavidad bucal, pueden limitar la continuidad del tratamiento oncológico, éstas deben ser minimizadas. En la boca se describieron las siguientes complicaciones: xerostomía (159), glositis, disgeusia (160), mucositis (161, 162) y exacerbación de alteraciones periodontales (163).

Existen datos contradictorios sobre el rol de la saliva en la modulación de los efectos adversos (164). Hasta el momento, no ha sido totalmente dilucidado el efecto específico de los citostáticos sobre las glándulas salivales (165).

Por este motivo, durante los últimos treinta años, se postularon distintas teorías en relación a la acción de los citostáticos sobre la salud bucal. Epstein y col propusieron que las drogas oncológicas, al distribuirse en forma sistémica, se metabolizaban en la capa basal del epitelio y tejido conectivo subyacente de las mucosas del sistema estomatognático, provocando alteraciones en la proliferación celular (166). Otros autores sostuvieron que diversas drogas oncológicas y/o sus metabolitos, serían vehiculizados por la saliva, provocando estomatotoxicidad (167, 168).

Numerosos autores describieron alteración del flujo salival y sus componentes orgánicos e inorgánicos (169, 170, 171, 172).

Teniendo en cuenta el importante rol de la saliva, resulta evidente que variaciones en su cantidad y calidad producen graves consecuencias sobre la homeostasis del sistema estomatognático.

Las complicaciones bucales relacionadas con la quimioterapia, son el resultado de interacciones complejas entre factores múltiples. Actualmente no hay

protocolos ni fármacos de eficacia universal que eviten los efectos secundarios de la quimioterapia sobre la cavidad bucal, por lo que la administración de citostáticos deriva frecuentemente en complicaciones agudas que se manifiestan durante el tratamiento (173, 174).

Siendo la depresión de la función glandular y las alteraciones bucales, una problemática frecuente durante el transcurso de la quimioterapia, resulta importante que el odontólogo ejerza un papel relevante en la investigación y prevención de dichas complicaciones.

OBJETIVOS GENERALES

a- En pacientes:

- 1- Evaluar parámetros de rutina de salud bucal (C.P.O, Índice de Løe y Silness, Índice de Hemorragia, Índice de Ramfjord, Índice de placa de Silness y Løe e Índice de profundidad de sondaje) en pacientes con carcinoma de colon y mama, tratados con citostáticos.
- 2- Correlacionar el tipo de citostático aplicado en esquemas (5-FU+LV), (AC), (FAC) y (DD) con la incidencia y severidad de las alteraciones en la cavidad bucal.
- 3- Analizar las alteraciones de flujo, pH y algunos componentes orgánicos (proteínas totales, α amilasa salival, IgA_s y urea) e inorgánicos (Na⁺, Cl⁻, K⁺, Ca⁺² y PO₄⁻³) de saliva basal y estimulada y su posible correlación con las manifestaciones bucales.
- 4- Analizar las pruebas hematológicas de los pacientes, en distintos períodos de tratamiento.
- 5- Desarrollar estrategias que permitan la prevención, eliminación o disminución de los efectos deletéreos de las drogas oncológicas sobre la cavidad bucal.

b- En ratas:

- 1- Evaluar cambios en el peso corporal y en glándula submandibular (GSM) por efecto del tratamiento con los citostáticos (LV+5-FU) y (5-FU).
- 2- Evaluar variaciones en los niveles de glucógeno tisular como parámetro de la actividad funcional de la GSM.
- 3- Evaluar la participación de agonistas del sistema nervioso autónomo: isoproterenol y pilocarpina sobre el consumo de glucógeno tisular de GSM en ratas tratadas con (LV+5-FU) y (5-FU).

- 4- Relacionar las alteraciones fisiopatológicas de las (GSM) de ratas tratadas con (LV+5-FU) y (5-FU), con la cantidad y calidad de flujo salival.
- 5- Determinar variaciones de algunos componentes orgánicos (proteínas totales, α amilasa salival y urea) e inorgánicos (Ca^{+2} y PO_4^{-3}) de la secreción salival submandibular.
- 6- Evaluar la respuesta secretora de la glándula submandibular de ratas tratadas con citostáticos, frente a la administración de dosis crecientes de drogas agonistas sobre receptores colinérgicos y adrenérgicos.
- 7- Observar alteraciones hematológicas de ratas en las distintas fases del tratamiento.

MATERIALES Y MÉTODO

El presente estudio se efectuó con pacientes y animales (ratas Wistar). El primero incluyó pacientes con diagnóstico de carcinoma de colon y mama, con indicación de quimioterapia endovenosa. En ambos casos se midieron algunos parámetros bucales y hematológicos, en tres momentos del tratamiento, teniendo en cuenta el esquema oncológico indicado. El proyecto contó con el aval de la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Facultad de Odontología de la U.N.C. En tanto que el proyecto, Historia Clínica y modelo de Consentimiento Informado, fueron aprobados por la Comisión de Bioética, de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Córdoba y el comité de Ética y Disciplina del Sanatorio Allende. Respecto a la actividad experimental, los animales fueron tratados con las drogas (LV+5-FU) y (5-FU), sin carcinogénesis inducida, evaluando algunos parámetros funcionales de (GSM) y otros sistémicos. Todos los animales recibieron atención acorde con los “Principios de Cuidados de Animales de Laboratorio” y la “Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio”, elaborado por el Instituto de Recursos Animales de laboratorio (175).

a) Pacientes

El estudio fue de carácter observacional, longitudinal, en una población de 45 pacientes que ingresaron al Servicio de Oncología y Hematología del Sanatorio Allende de la ciudad de Córdoba (República Argentina), en el período que va de marzo de 2005 a junio de 2008, con diagnóstico de cáncer de colon y mama e indicación de tratamiento con citostáticos por vía endovenosa. Todos los pacientes fueron instruidos sobre los objetivos y alcance del presente estudio, firmando el consentimiento informado antes de iniciar la prueba, según modelo aprobado por el Comité de Ética y Disciplina del Sanatorio Allende.

Criterio de inclusión y exclusión

El criterio de inclusión consideró los siguientes aspectos para la realización del estudio:

- a) Edad: pacientes comprendidos entre 21 y 75 años.
- b) Diagnóstico: carcinoma de colon y mama.
- c) Sin alteraciones estomatológicas previas.
- d) Alteraciones mentales: negativo.

Los criterios de exclusión fueron:

- a) Pacientes con quimioterapia y radioterapia previa que hubieran afectado la región craneofacial.
- b) Pacientes ya tratados por otro tipo de cáncer.
- c) Alteraciones metabólicas generales tales como diabetes, hipotiroidismo y otros síndromes sistémicos: Síndrome de Sjögren, hiperparatiroidismo, síndrome de Riley Day.

Distribución de la muestra

En base a estos criterios, la muestra se distribuyó de la siguiente forma: 25 pacientes con diagnóstico de carcinoma de colon tratados bajo el esquema (5-FU+LV) y 20 correspondieron a carcinoma de mama divididos de la siguiente manera:

- a) 8 pacientes tratados bajo esquema adriamicina y ciclofosfamida. (AC)
- b) 8 pacientes tratados con esquema 5-fluorouracilo, adriamicina y ciclofosfamida. (FAC)
- c) 4 pacientes en fase de recaída tratados con esquema docetaxel y doxorubicina. (DD)

La distribución se efectuó en base al esquema terapéutico con el objetivo de conocer su efecto sobre la cantidad y calidad de la secreción salival total y su influencia en algunos parámetros de salud bucal.

Observación de los pacientes

Los pacientes fueron evaluados en tres etapas:

- 1- ETAPA INICIAL:** previo a la iniciación del tratamiento oncológico.
- 2- ETAPA INTERMEDIA:** en la mitad del tratamiento. Para los esquemas terapéuticos de seis ciclos, la actividad se realizó antes del comienzo del cuarto ciclo, mientras que el esquema de cuatro ciclos, tuvo lugar antes del inicio del tercer ciclo. De los esquemas oncológicos seleccionados el único de estas características correspondió al esquema AC, para carcinoma de mama.
- 3- ETAPA FINAL:** veintiún días después de finalizado el tratamiento (176).

Confección de historia clínica “ad-hoc”

Se elaboró una historia clínica “Ad-Hoc” donde se incluyeron: datos personales, antecedentes fisiopatológicos heredo-familiares de interés oncológico, síntesis de historia clínica oncológica, tratamiento oncológico actual y antecedentes fisiopatológicos personales. También se consideraron otros datos de interés, tales como hábitos (tabaquismo y alcohol), enfermedades metabólicas y consumo de fármacos que pudiesen provocar xerostomía. Además se adjuntaron los resultados de los siguientes análisis de laboratorio: recuento de glóbulos rojos, hemoglobina, hematocrito, formula leucocitaria absoluta, formula leucocitaria relativa y recuento plaquetario, en las tres etapas del estudio.

Se incorporó la ficha odontológica que evaluó los siguientes parámetros: odontograma, estado gingival, hábitos de higiene y frecuencia de cepillado. Los Índices de salud bucal evaluados fueron: C.P.O., índice de Løe y Silness, índice de Hemorragia, índice de Ramfjörd, índice de placa e índice de profundidad de sondaje vestibular de los elementos dentarios anteriores (caninos) y de los elementos posteriores (primeros molares).

Recolección de saliva basal y estimulada

Las muestras se efectuaron teniendo en cuenta los siguientes parámetros:

- a) HORARIO ESTIPULADO: La recolección se realizó entre las 10 y 11, 30 horas, después de dos horas de haber efectuado el desayuno. Esta medida ha sido tomada especialmente en cuenta en función del ritmo circadiano de la secreción salival.
- b) CONDICIONES DE RECOLECCIÓN: Tanto para la saliva basal como la estimulada: el paciente sentado, posicionando su cabeza paralela al piso e inclinando ligeramente su maxilar inferior hacia abajo y sin hablar.
- c) PROCEDIMIENTO: En cada etapa se efectuaron una toma de saliva basal y otra de saliva estimulada. Cada paciente se enjuagó la boca con agua destilada, seguidamente, se le solicitó que mantenga su boca cerrada y sin tragar, contando a partir de ese instante un minuto. Durante este período, la saliva formada y acumulada en su cavidad bucal se recolectó en un tubo de centrifuga descartable previamente pesado. Las tomas se realizaron por espacio de cinco minutos, en las tres etapas del tratamiento oncológico, considerando aquellas efectuadas al inicio, como grupo control (177).

Una vez recolectada la muestra de saliva basal, se dejó reposar al paciente por diez minutos con el objeto de permitir el reposo glandular salival. Luego se suministró una lámina de goma inerte desechable (parafilm M.R.) de 4 cm. por 4 cm., que debió introducir en su boca, previo enjuague con agua destilada. Dicha lámina debió ser masticada y sin tragar por cinco minutos y la saliva formada, se recolectó y procesó del mismo modo que en el caso anterior (178, 179).

Procesamiento de las muestras salivales

Las muestras de saliva basal y estimulada de cada paciente obtenidas en los tres tiempos de la experiencia, fueron trasladadas a -5°C. Posteriormente se pesaron en balanza de precisión, para la determinación de la sialometría. Se consideró el flujo de saliva basal y estimulada en cantidad de mililitros

secretados por minuto. Seguidamente fueron centrifugadas por espacio de 20 minutos, para purificar el contenido de restos orgánicos (detritus) y mucus. Concluida esta maniobra, se procedió de inmediato a la medición del pH. Finalmente, las muestras fueron separadas y congeladas en tubos Eppendorf.

En las muestras de saliva se realizaron las siguientes determinaciones:

- a) MEDICIÓN DE FLUJO BASAL (cantidad de saliva basal secretada en mililitros por minuto)
- b) MEDICIÓN DE pH BASAL: efectuada con peachímetro digital “Hanna Instruments MR” y calibrado semanalmente con soluciones buffers “Orion MR” de pH 7.00.
- c) DETERMINACIÓN DE COMPONENTES ORGÁNICOS: proteínas totales por determinación colorimétrica de Folin Ciocalteu, α amilasa salival, cuantificando la actividad enzimática de la amilasa por el método de Berthelot (amiloclástico colorimétrico), IgA_s por inmunodifusión radial en agar y Urea efectuando cuantificación espectrofotométrica, por método enzimático específico de Kim H.S. y Stegramann H. (180, 181, 182, 183).
- d) DETERMINACION DE COMPONENTES INORGÁNICOS: ionograma en saliva: Na⁺, Cl⁻, K⁺, por fometría de llama, PO₄⁻³ por método colorimétrico según técnica de Vanderlinde, R. (184, 185) y Ca⁺² por método colorimétrico directo de Henry, R.J. (186).
- e) MEDICIÓN DE FLUJO ESTIMULADO: (cantidad de saliva estimulada secretada en mililitros por minuto) la técnica tuvo las mismas características que para la medición de saliva basal.
- f) MEDICIÓN DE pH ESTIMULADO: efectuada con peachímetro digital “Hanna Instruments MR” y calibrado semanalmente con soluciones buffers “Orion MR” de pH 7.00 (187).

Índices de salud bucal

En las tres etapas se evaluaron los siguientes índices de salud bucal:

- a) Índice de Løe y Silness: para evaluación de inflamación en tejidos periodontales. Se clasifica en cuatro grados de severidad (188) (Tabla I).

GRADO	ÍNDICE DE LÖE Y SILNESS
0	Ausencia total de signos visibles de inflamación
1	Inflamación leve: cambio ligero de color y textura en la unidad gingival
2	Inflamación moderada: inflamación visible y tendencia al sangrado del margen gingival con sonda periodontal
3	Inflamación severa: inflamación manifiesta con tendencia al sangrado espontáneo

Tabla I. Índice de Løe y Silness.

- b) Índice de hemorragia: indica posibilidad de sangrado positivo o negativo, posterior a la inspección del surco gingival con sondaje (189) (Tabla II).

GRADO	ÍNDICE DE HEMORRAGIA
0	Negativo: ausencia de sangrado
1	Positivo: sangrado que se produce dentro de los 15 segundos de realizado el sondeo

Tabla II. Índice de Hemorragia.

- c) Índice de Ramfjord: utilizado para cuantificar cálculos y su localización respecto a la encía (190) (Tabla III).

GRADO	ÍNDICE DE RAMFJORD
0	Ausencia de cálculo
1	Cálculos supragingivales de 1mm. aproximadamente de ancho en área cervical
2	Cálculos supra e infragingivales que cubren hasta la mitad de la cara observada
3	Cálculos supra e infragingivales que cubren más de la mitad de la cara observada

Tabla III. Índice de Ramfjord.

- d) Índice de Placa de Silness y Løe: destinado a calificar depósitos de placa en el margen gingival (191) (Tabla IV).

GRADO	ÍNDICE DE PLACA DE SILNESS Y LÖE
0	Ausencia de depósitos de placa
1	Placa revelada luego de pasar la sonda periodontal a lo largo del margen gingival
2	Placa visible
3	Placa abundante

Tabla IV. Índice de Placa de Silness y Løe.

- e) Índice de profundidad de sondaje: solamente cara vestibular de los elementos dentarios 13, 23, 33 y 43 (caninos) y 16, 26, 36 y 46 (primeros molares). En caso de ausencia de los elementos indicados del sector anterior se consideró el diente vecino correspondiente al mismo sector. El mismo criterio se adoptó para molares. En ausencia del colindante se tabuló el sector como elemento ausente (EA). El abordaje se efectuó siguiendo la técnica convencional de profundidad de sondaje con sondas periodontales graduadas (A3 - PCP 12) y (PCP UNC 15) Hu-Friedy MR. Los pacientes fueron instruidos con técnicas de higiene y prevención antes del inicio del tratamiento oncológico.

Análisis estadístico

La descripción estadística de los datos se realizó mediante el valor medio (media \pm EE) para variables cuantitativas y frecuencias relativas expresadas en porcentaje para las variables cualitativas.

Los resultados obtenidos de sialometría (flujo y pH), componentes orgánicos e inorgánicos de saliva, índices de salud bucal y hematológicos fueron analizados mediante prueba "t" de Student para datos apareados, estableciendo el valor de

$p < 0,05$ para significación estadística. Por otra parte los índices de Løe y Silness, Hemorragia y Profundidad de sondaje observados, en los distintos momentos de los cuatro esquemas oncológicos, fueron analizados por la prueba de Wilcoxon estimando el valor del parámetro por métodos de remuestreo con un 95% de confianza.

b) Experimentos en ratas

Se utilizaron 80 ratas Wistar machos, pertenecientes a endocrías del bioterio de la cátedra de Fisiología de la Facultad de Odontología (U.N.C.). La edad de los mismos fue de tres meses y su peso osciló entre 300 y 350 gramos, ubicadas en jaulas metabólicas individuales, bajo régimen de fotoperíodos de luz y oscuridad de doce horas cada uno.

En relación a los citostáticos, el esquema terapéutico empleado fue leucovorina cálcica y 5-fluorouracilo. Se utilizaron cuatro grupos experimentales (Tabla V).

GRUPOS	CONDICIÓN EXPERIMENTAL
1	Ratas tratadas con 5-fluorouracilo
2	Ratas tratadas con leucovorina cálcica y 5-fluorouracilo
3	Ratas control
4	Ratas control con alimentación apareada

Tabla V. Grupos experimentales.

1. RATAS CONTROL: (n=20) no recibieron tratamiento alguno y su alimentación e ingesta de agua fue ad-libitum, durante cinco días consecutivos (Fig. 3).
2. RATAS CON ALIMENTACION APAREADA: (n=20) durante cinco días la cantidad administrada resultó del promedio de la alimentación ingerida por los dos grupos tratados con citostáticos. Este grupo tuvo por finalidad

descartar el efecto de la ingesta reducida por acción del tratamiento con drogas, sobre la funcionalidad de las glándulas salivales (Fig. 3).

3. RATAS TRATADAS CON 5-FLUOROURACILO: (n=20) se inyectó por vía intraperitoneal una dosis diaria de 20mg/kg de peso corporal, por espacio de cinco días consecutivos (Fig. 3).
4. RATAS TRATADAS CON LEUCOVORINA CÁLCICA Y 5-FLUOROURACILO: (n=20) ambas drogas fueron inyectadas intraperitonealmente durante cinco días consecutivos, administrándose en primer lugar leucovorina cálcica a una dosis diaria de 10mg/kg de peso corporal. Luego de treinta minutos se efectuó una segunda inyección de 5-fluorouracilo en dosis de 20 mg/kg de peso corporal (Fig. 3).

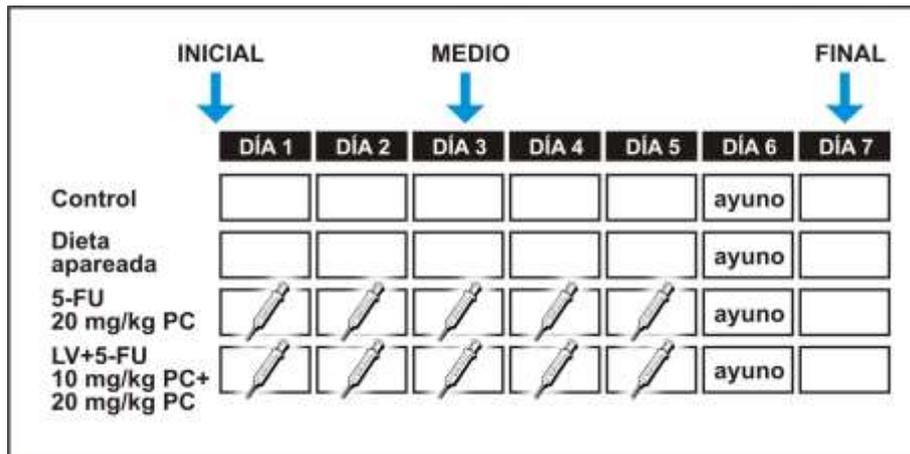


Figura 3. Tratamiento de los grupos experimentales.

DÍA DE TRATAMIENTO	ALIMENTACIÓN INGERIDA	ALIMENTACIÓN INGERIDA	ALIMENTACIÓN INGERIDA
	Controles	5-FU	LV + 5-FU
1º día	40 gr.	23 gr.	22 gr.
2º día	41 gr.	19,5 gr.	19 gr.
3º día	40 gr.	8 gr.	7 gr.
4º día	39 gr.	4 gr.	5 gr.
5º día	40 gr.	3 gr.	4 gr.
6º día	ayuno	ayuno	ayuno

Tabla VI. Promedio de alimentación ingerida en los grupos experimentales.

El peso corporal se evaluó diariamente, obteniéndose un valor final el séptimo día de iniciado el tratamiento. Los cuatro grupos experimentales fueron ayunados por 24 horas, a los fines de lograr las mismas condiciones basales operatorias (Tabla VI). La activación de las drogas y el tratamiento quimioterapéutico se realizó en el ámbito de la cátedra de Fisiología, respetando el mismo horario de administración y control de alimentación e higiene de los animales. Las actividades se programaron en función de los objetivos propuestos en dos etapas.

PRIMERA ETAPA: Se midió la cantidad y calidad de secreción salival en (GSM). Las ratas carecen de flujo basal, por ende la secreción salival que poseen es estimulada, durante su alimentación. En condiciones experimentales, luego de haberse aislado ambos conductos excretores, los animales fueron estimulados farmacológicamente con isoproterenol y pilocarpina, agonistas del sistema nervioso autónomo simpático y parasimpático. La cantidad de saliva estimulada secretada se expresó en microlitros por mg de peso seco glandular. También se determinaron algunos componentes orgánicos (proteínas totales, α amilasa salival e IgA_s) e inorgánicos (Ca^{+2} y PO_4^{-3}). Se evaluó el peso corporal, peso húmedo y seco de (GSM) y extendidos de sangre por medio de la

determinación de recuento de glóbulos rojos, hemoglobina, hematocrito, recuento de glóbulos blancos, heterófilos, linfocitos, monocitos y plaquetas.

SEGUNDA ETAPA: para evaluar la actividad funcional de la GSM, se efectuaron dos mediciones por medio de la determinación de glucógeno tisular y de curvas dosis-respuesta.

Glucógeno glandular: Algunos trozos de glándulas se usaron inmediatamente después de sacrificado cada animal (Tiempo 0), mientras que otros se analizaron después de 60 minutos de incubación en una solución de Krebs Ringer Bicarbonato libre de glucosa. El glucógeno tisular se analizó por el método de Joham y Lentini. Posteriormente se efectuó la misma experiencia pero con agregado de isoproterenol y pilocarpina en el medio de incubación (192).

Curvas dosis respuesta: los cuatro grupos experimentales recibieron igual preparación que la utilizada para la recolección del flujo. Se aislaron y canulizaron los conductos excretores de ambas (GSM) y la femoral izquierda para permitir recolectar saliva e inyectar las drogas utilizadas. Las dosis de isoproterenol fueron: 2ug/kg, 3ug/kg, 10ug/kg y 30ug/kg. Las dosis ensayadas para pilocarpina fueron 1 ug/kg, 3 ug/kg, 10 ug/kg y 30 ug/kg. Frente a cada dosis inyectada, se recolectó la saliva de ambas glándulas.

RESULTADOS

a) En Pacientes

DESCRIPCIÓN BIODEMOGRÁFICA

Edad y sexo de los pacientes

El punto de corte de edad de los pacientes observados con carcinoma de colon, fue establecido en 55 años, con un porcentaje del 43% y 57% de sujetos de edad menor y mayor respectivamente (Fig. 4). La muestra fue conformada por 14 pacientes de sexo masculino y 11 pacientes de sexo femenino.

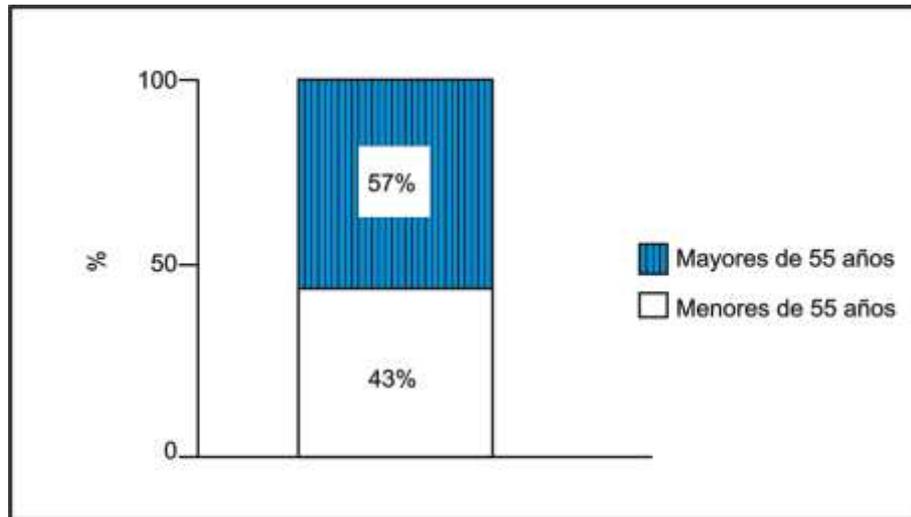


Figura 4. Promedio de edad de los pacientes con diagnóstico de carcinoma de colon.

El punto de corte de edad de los pacientes observados con carcinoma de mama, también establecido en 55 años, contó con un porcentaje del 55 % y 45% de sujetos de edad menor y mayor respectivamente (Fig. 5).

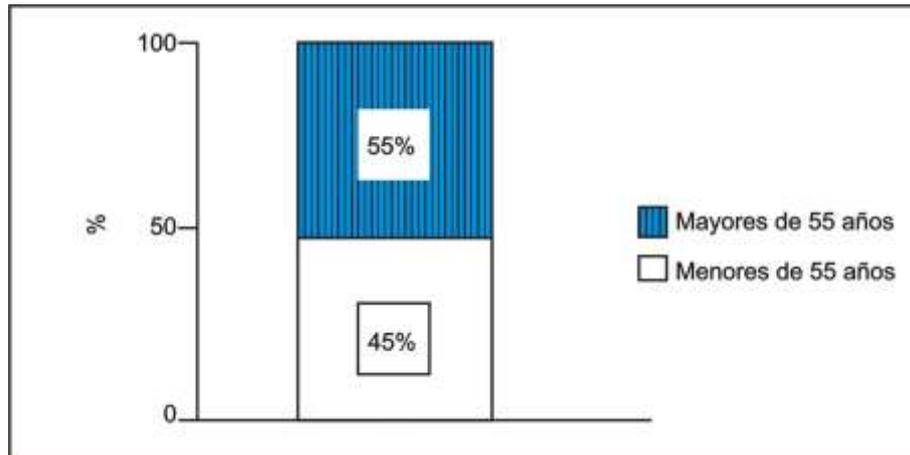


Figura 5. Promedio de edad de los pacientes con diagnóstico de carcinoma de mama.

Antecedentes genéticos

En el siguiente gráfico se observan los antecedentes genéticos de los pacientes con cáncer de colon y mama. Se consideró solamente línea ascendente en primer y segundo grado: padres y abuelos. En pacientes tratados por carcinoma de colon, 7 (28%) de los 25 informaron antecedentes. En pacientes tratados con diagnóstico de carcinoma de mama, el número fue significativamente mayor, donde 12 (60%) relataron antecedentes sobre 20. Los antecedentes no necesariamente se correlacionaron con el mismo tipo de carcinoma portador del paciente observado.

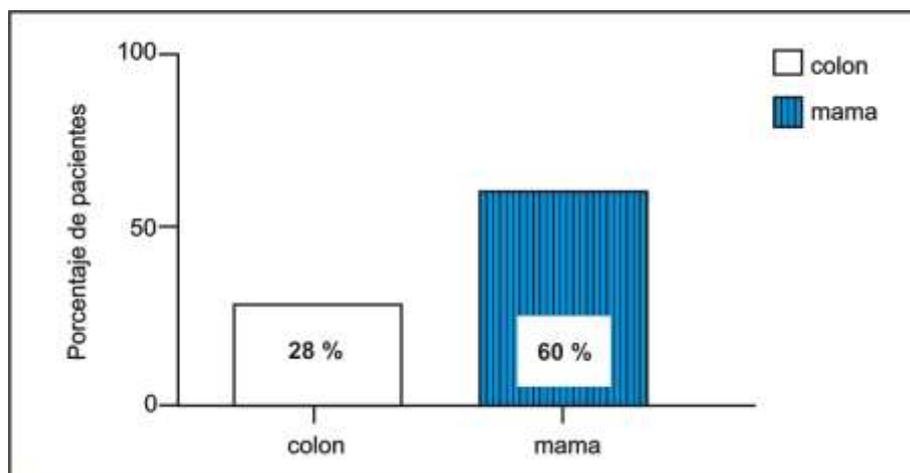


Figura 6. Porcentaje de pacientes con antecedentes genéticos.

Distribución de pacientes por esquema terapéutico

Los pacientes incluidos en la muestra de carcinoma de colon corresponden en su totalidad al esquema terapéutico 5-fluorouracilo y leucovorina cálcica (100%) (Fig. 7).

En carcinoma de mama, la muestra se dividió en:

- Esquema AC: ADRIAMICINA-CLICLOFOSFAMIDA (40%).
- Esquema FAC: 5-FLUOROURACILO-ADRIAMICINA-CICLOFOSFAMIDA (40%).
- Esquema DD: DOCETAXEL-DOXORRUBICINA (20%).

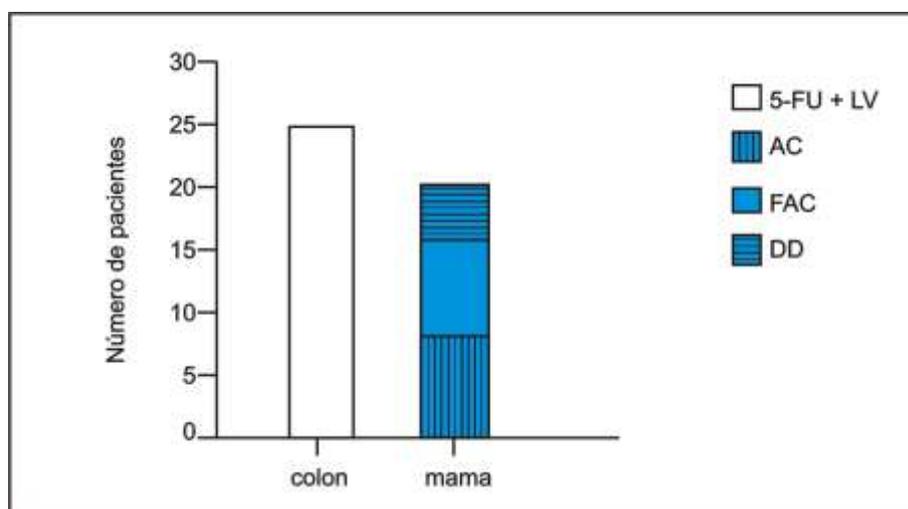


Figura 7. Distribución de los pacientes por esquemas terapéuticos.

CARCINOMA DE COLON

Flujo basal y estimulado

Tanto el flujo basal como el estimulado disminuyeron significativamente en la etapa intermedia en relación a la etapa inicial, revirtiéndose luego de finalizado el tratamiento (Fig. 8).

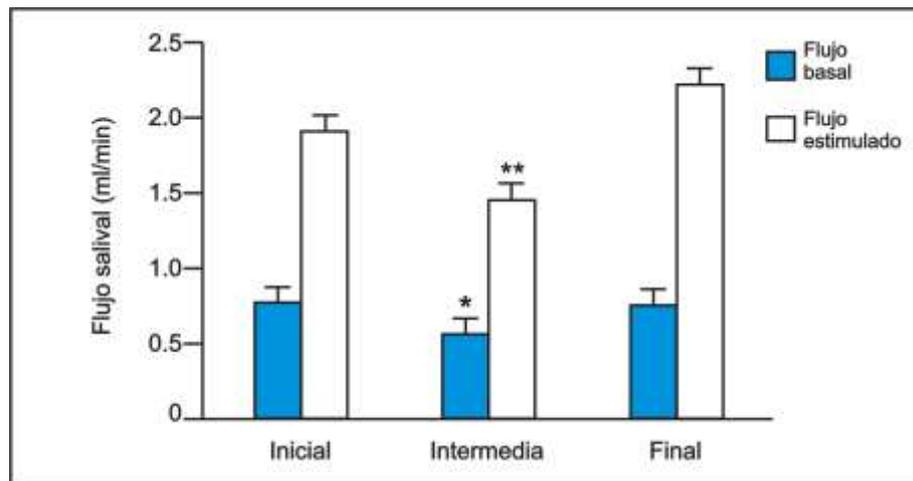


Figura 8. Efecto de las drogas 5-FU y leucovorina cálcica sobre el flujo basal y estimulado de pacientes en diferentes etapas del tratamiento. (*): $p < 0.05$: flujo basal intermedio vs. inicial y final; (**): $p < 0.01$ flujo estimulado intermedio vs. inicial y final vs. inicial y final.

Xerostomía

Con relación a la sensación de xerostomía, el 80% de los pacientes manifestaron un incremento en la etapa intermedia. El mismo revirtió en el 64% de los casos en la etapa final posterior a la finalización de la quimioterapia (Tabla VII).

Esquema terapéutico	Etapa inicial	Etapa intermedia	Etapa final
5-FU + LV (n=25)	Asintomáticos (n=25)	Xerostomía (n=20) 80%	Xerostomía (n=9) 36%

Tabla VII. Porcentaje de pacientes con síntoma de xerostomía en diferentes etapas del tratamiento con 5 FU + LV.

pH

El pH, en saliva estimulada, se acidificó en la etapa intermedia respecto de la etapa inicial. Este efecto se revirtió en la etapa final donde la estimulación mecánica promovió la secreción de saliva con pH similar a la etapa inicial. El pH en saliva basal no mostró cambios estadísticamente significativos en etapas intermedia y final respecto de la etapa inicial (Fig. 9).

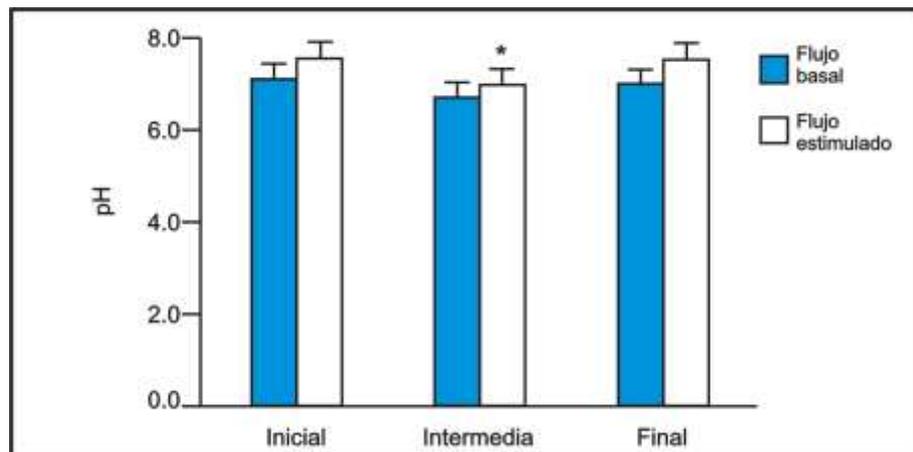


Figura 9. Efecto de las drogas 5-FU y leucovorina cálcica sobre el pH de saliva basal y estimulada de pacientes en diferentes etapas del tratamiento. (*): $p < 0.05$: flujo estimulado intermedio vs. inicial y final.

Componentes orgánicos e inorgánicos

De la totalidad de los componentes orgánicos e inorgánicos analizados, urea, sodio y potasio incrementaron su valor en la etapa intermedia del tratamiento, con relación a las etapas inicial y final (Tabla VIII).

COMPONENTES	ETAPAS DEL TRATAMIENTO		
	Inicial ($\bar{X} \pm DS$)	Intermedia ($\bar{X} \pm DS$)	Final ($\bar{X} \pm DS$)
Na ⁺	5 \pm 2	10 \pm 3(**)	5 \pm 2
Cl ⁻	16 \pm 1	16 \pm 1	13 \pm 1
K ⁺	17 \pm 4	23 \pm 5(**)	16 \pm 4
PO ₄ ⁻³	25 \pm 2	22 \pm 2	18 \pm 1
Ca ⁺²	3 \pm 0.3	4 \pm 0.3	3 \pm 0.3
Proteínas Totales	145 \pm 13	167 \pm 13	153 \pm 11
IgA _s	26 \pm 5	24 \pm 5	19 \pm 7
α amilasa	38 \pm 8	56 \pm 9	41 \pm 6
Urea	30 \pm 5	47.6 \pm 4.2 (*)	25 \pm 3

Tabla VIII. Efecto de las drogas 5-FU y leucovorina cálcica sobre componentes inorgánicos y orgánicos de saliva basal de pacientes en diferentes etapas del tratamiento. (*): $p < 0.05$ Urea media vs. inicial y final; (**): $p < 0.001$: Na⁺ y K⁺ intermedio.

Disgeusia

El 20% de los pacientes manifestó disgeusia en la etapa intermedia del tratamiento con citostáticos, asociada a aversión a carnes y náuseas. Dos de ellos informaron disminución del umbral para el sabor amargo, otros dos ageusia al sabor salado en tanto que uno ageusia a la totalidad de los sabores primarios. Estos efectos revirtieron en el 100% de los casos en la etapa final.

Índice de Løe y Silness

La respuesta inflamatoria gingival, evaluada a través del índice de Løe y Silness se incrementó en la fase intermedia respecto de la fase inicial, revirtiéndose al finalizar el tratamiento (Fig. 10).

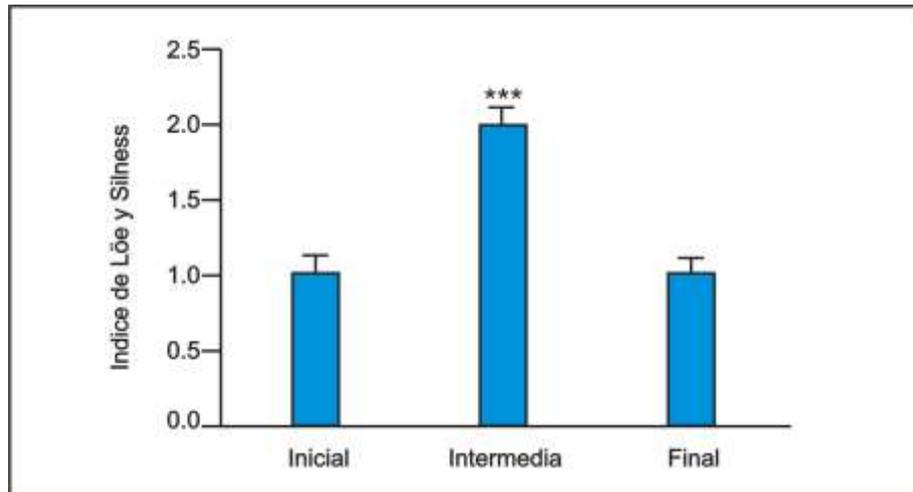


Figura 10. Efecto de las drogas 5-FU y leucovorina cálcica sobre el Índice de Løe y Silness de pacientes en diferentes etapas del tratamiento (***) : p< 0.0001: Etapa inicial vs. intermedia y final.

Prueba no paramétrica para determinación del índice de Løe y Silness

Esquema terapéutico	Comparación	p-valor prueba apareada Wilcoxon estimado por Monte Carlo
5-FU + LV	Inicial-Intermedia	0,0001
5-FU + LV	Intermedia-Final	0,0001

Tabla IX. Significación estadística por prueba no paramétrica en pacientes tratados por Carcinoma de colon.

Índice de hemorragia simplificado

El índice de hemorragia simplificado, mostró un aumento frente al sondaje periodontal en la fase intermedia en relación a la etapa inicial. Dicho efecto revirtió en la etapa final (Fig. 11).

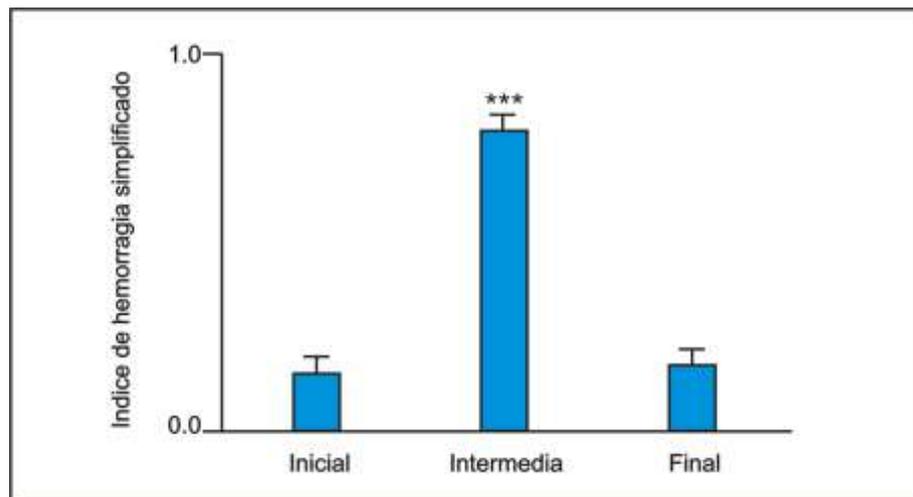


Figura 11. Efecto de las drogas 5-FU y leucovorina cálcica sobre el Índice de Hemorragia de pacientes en diferentes etapas del tratamiento (***) : $p < 0.0001$: Etapa inicial vs. intermedia y final.

Índice de hemorragia no paramétrico de carcinoma de colon

Esquema terapéutico	Comparación	p-valor prueba apareada Wilcoxon estimado por Monte Carlo
5-FU + LV	Inicial-Intermedia	0,0001
5-FU + LV	Intermedia-Final	0,0001

Tabla X. Significación estadística por prueba no paramétrica del Índice de Hemorragia en pacientes con carcinoma de colon.

Índice de profundidad de sondaje vestibular

El índice de profundidad vestibular de los dientes de los sectores anterior y posterior aumentó significativamente en la etapa intermedia no revirtiendo al finalizar el tratamiento (Fig. 12).

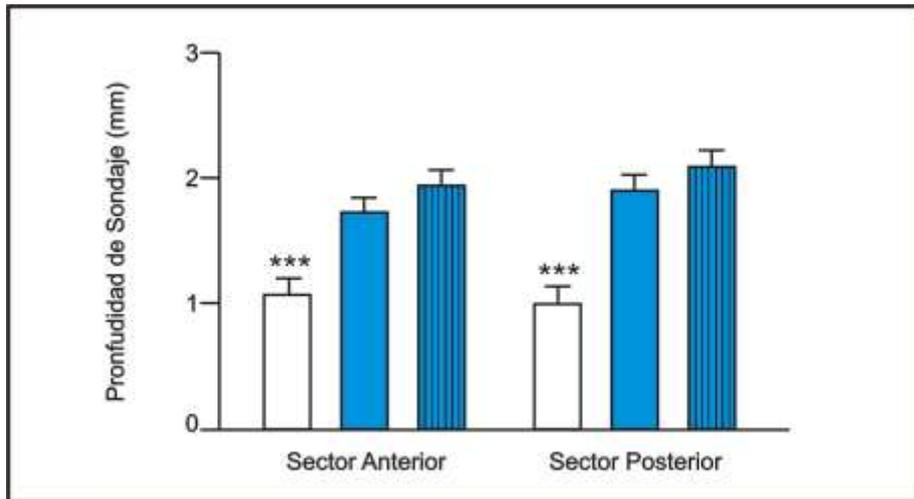


Figura 12. Efecto de las drogas 5-FU y leucovorina cálcica sobre la profundidad de sondaje vestibular en elementos anteriores y posteriores en diferentes etapas del tratamiento (***) : $p < 0.0001$: Etapa inicial vs. intermedia y final.

Evaluación de la profundidad de sondaje en caninos (figura 13) (tabla XI) y primeros molares (figura 14) (tabla XI) de pacientes con carcinoma de colon (test no paramétrico).

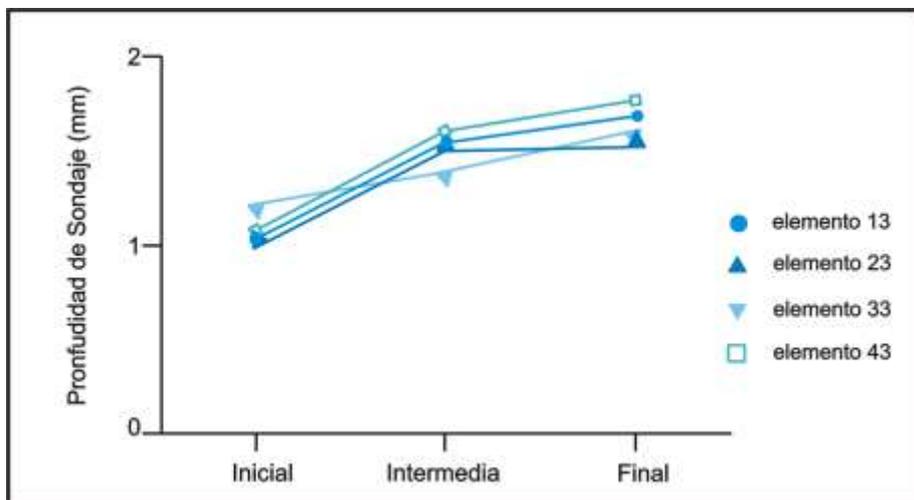


Figura 13. Valoración de la profundidad de sondaje vestibular de los elementos dentarios 13, 23, 33 y 43 en pacientes con carcinoma de colon (Prueba no paramétrica).

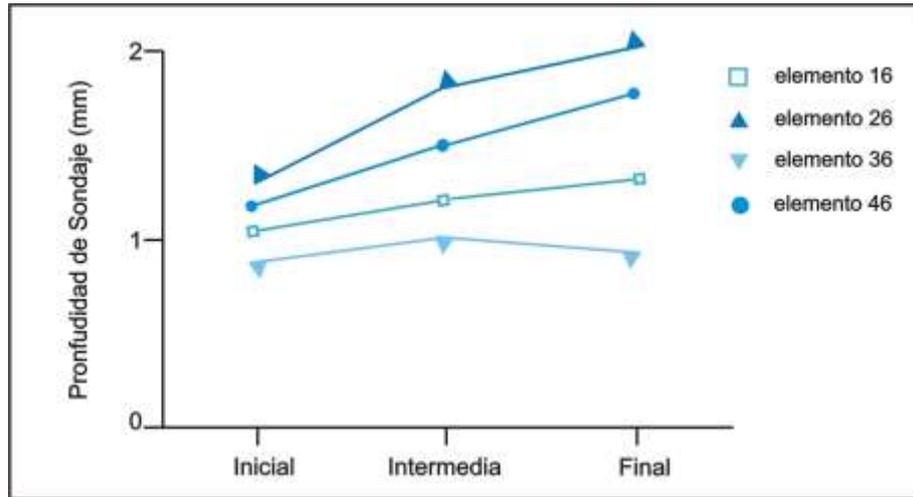


Figura 14. Valoración de la profundidad de sondaje vestibular de los elementos dentarios 16, 26, 36 y 46 en pacientes con carcinoma de colon (Prueba no paramétrica).

Elemento N°	Etapa	Colon p-valor (*)
		5-FU + LV
13	Inicial - Media	0,0004
	Media - Final	<0,0001
23	Inicial - Media	0,1
	Media - Final	<0,0001
33	Inicial - Media	0,05
	Media - Final	<0,0001
43	Inicial - Media	0,001
	Media - Final	<0,0001
16	Inicial - Media	0,2
	Media - Final	<0,0001
26	Inicial - Media	0,02
	Media - Final	<0,0001
36	Inicial - Media	0,04
	Media - Final	0,2
46	Inicial - Media	0,002
	Media - Final	<0,0001

Tabla XI. Significación estadística por prueba no paramétrica de la profundidad de sondaje vestibular de los elementos dentarios 13,23,33,43, 16, 26, 36 y 46 en pacientes con carcinoma de colon. (*) Prueba de Wilcoxon (muestras apareadas); p-valor estimado por Bootstrap.

Indices de C.P.O., Ramfjord y Placa

En relación a los indices de C.P.O. (Tabla XII), Ramfjord (Tabla XIII) y Placa (Tabla XIV) de los pacientes observados, no mostraron cambios estadísticamente significativos, durante el tratamiento con 5-fluorouracilo y leucovorina cálcica

CPO (etapa inicial)	CPO (etapa intermedia)	CPO (etapa final)
19	19	19

Tabla XII. Valores medios de elementos cariados, perdidos y obturados en etapas inicial, intermedia y final en pacientes con carcinoma de colon.

Carcinoma de colon (5-FU + LV)	Etapa inicial	Etapa intermedia	Etapa final
Indice de Ramfjord	1	1	1

Tabla XIII. Valores medios del indice de Ramfjord en etapas inicial, intermedia y final en pacientes con carcinoma de colon.

Carcinoma de colon (5-FU + LV)	Etapa inicial	Etapa intermedia	Etapa final
Indice de Placa	1	1	1

Tabla XIV. Valores medios del indice de Placa en etapas inicial, intermedia y final en pacientes con carcinoma de colon.

Indices hematológicos

En la tabla XV se indicaron los valores medios de los índices hematológicos de los pacientes con carcinoma de colon en etapas inicial, intermedia y final, tratados con 5-Fu + LV.

Índices hematológicos Esquema (5-FU + LV)	Etapa inicial	Etapa intermedia	Etapa final
Glóbulos rojos (mm ³)	4.520.500	4.400.500	4.055.500(**)
Hematocrito (%)	36	36	33(*)
Hemoglobina (g/100 ml)	11,92	11,94	11,36
Glóbulos blancos (mm ³)	8.008	6.358	6.690
Neutrófilos (%)	63	62	63
Eosinófilos (%)	3	3	2
Basófilos (%)	1	0(*)	0
Linfocitos (%)	26	26	24
Monocitos (%)	6	7	7
Plaquetas (mm ³)	312.550	211.750(***)	240.950

Tabla XV. Valores medios de los índices hematológicos en pacientes con carcinoma de colon tratados con 5-FU + LV.

Prueba de Wilcoxon (muestras apareadas) con P-valor estimado por Bootstrap para índices hematológicos en esquema 5-FU + LV

El esquema 5-Fu + LV afectó la concentración de glóbulos rojos y hematocrito. Con relación a la serie blanca sólo afectó a los basófilos, en tanto que el efecto mas evidente fue sobre la concentración de plaquetas en la etapa intermedia del tratamiento (Tabla XVI).

Esquema	Obs. (1)	Obs. (2)	Bt p (2 colas)
5FU + LV	g.roj. inicial	g.roj. intermedia	0,38
5FU + LV	g.roj. intermedia	g.roj. final	0,004 (**)
5FU + LV	Hb. inicial	Hb. intermedia	0,89
5FU + LV	Hb. intermedia	Hb. final	0,10
5FU + LV	Hcrito. inicial	Hcrito. intermedia	0,79
5FU + LV	Hcrito. intermedia	Hcrito. final	0,03 (*)
5FU + LV	Leuco. inicial	Leuco. intermedia	0,06
5FU + LV	Leuco. intermedia	Leuco. final	0,51
5FU + LV	Neutro. inicial	Neutro. intermedia	>0,999
5FU + LV	Neutro. intermedia	Neutro. final	0,85
5FU + LV	Bas. inicial	Bas. intermedia	0,01 (*)
5FU + LV	Bas. intermedia	Bas. final	>0,999
5FU + LV	Eos. inicial	Eos. intermedia	>0,999
5FU + LV	Eos. intermedia	Eos. final	>0,999
5FU + LV	Linf. inicial	Linf. intermedia	0,91
5FU + LV	Linf. intermedia	Linf. final	0,59
5FU + LV	Mono. inicial	Mono. intermedia	0,18
5FU + LV	Mono. intermedia	Mono. final	0,69
5FU + LV	Plaq. inicial	Plaq. intermedia	<0,0001 (***)
5FU + LV	Plaq. intermedia	Plaq. final	0,07

Tabla XVI. Prueba de Wilcoxon (muestras apareadas) con P-valor estimado por Bootstrap para índices hematológicos en esquema 5-FU + LV

CARCINOMA DE MAMA

Flujo basal y estimulado

Con relación a la saliva basal, los tres esquemas terapéuticos, no mostraron cambios, en la secreción del flujo salival, al comparar los resultados obtenidos en las tres etapas del tratamiento. Respecto de la saliva estimulada, sólo el

esquema AC mostró disminución de la secreción salival en la etapa intermedia ($P < 0,01$) revirtiéndose al finalizar el tratamiento (Fig. 15).

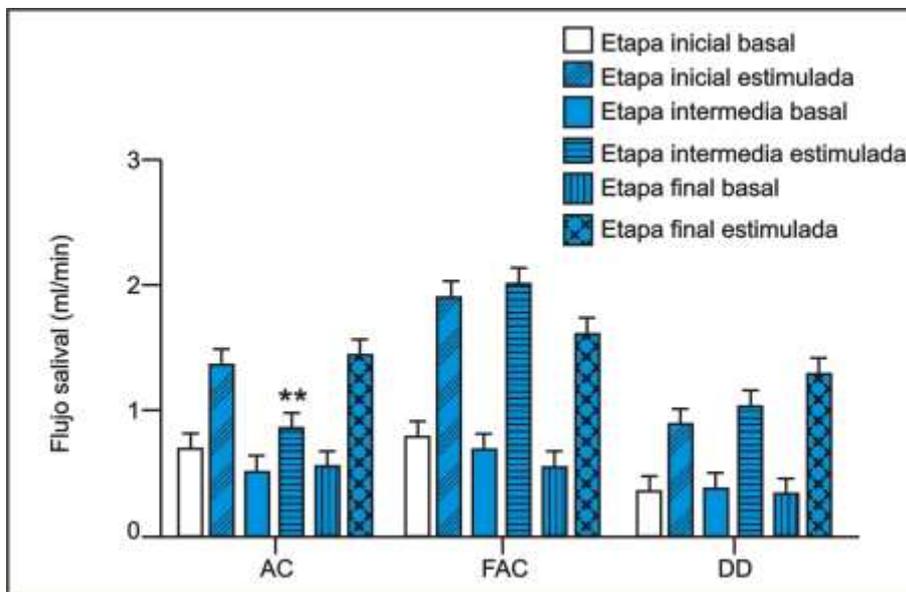


Figura 15. Efecto de los diferentes esquemas de tratamiento sobre el flujo basal y estimulado en saliva de pacientes con carcinoma de mama. (**): $p < 0,01$: esquema AC flujo estimulado etapa intermedia vs. inicial.

Xerostomía

Respecto a la sensación de xerostomía, el 75% de los pacientes sometidos a los esquemas AC, FAC y DD manifestaron un incremento en la etapa intermedia. El mismo revirtió en el 50% de los casos posterior a la finalización de la quimioterapia para los esquemas FAC y DD. En tanto que el 37,5% de los pacientes sometidos al esquema AC mostraron persistencia de este síntoma en la etapa final (Tabla XVII).

Esquema terapéutico	Etapa inicial	Etapa intermedia	Etapa final
AC (n=8)	Asintomáticos (n=8)	Xerostomía (n=6) 75%	Xerostomía (n=3) 37,5%
FAC (n=8)	Asintomáticos (n=8)	Xerostomía (n=6) 75%	Xerostomía (n=4) 50%
DD (n=4)	Asintomáticos (n=4)	Xerostomía (n=3) 75%	Xerostomía (n=2) 50%

Tabla XVII: Porcentaje de pacientes con síntoma de xerostomía en diferentes etapas del tratamiento con AC, FAC y DD.

pH

El pH de saliva basal para los esquemas terapéuticos AC y FAC, se acidificó en las etapas intermedia y final. El esquema DD no mostró variaciones de pH saliva basal.

Con relación al pH de saliva estimulada, ningún tratamiento mostró cambios significativos (Fig. 16).

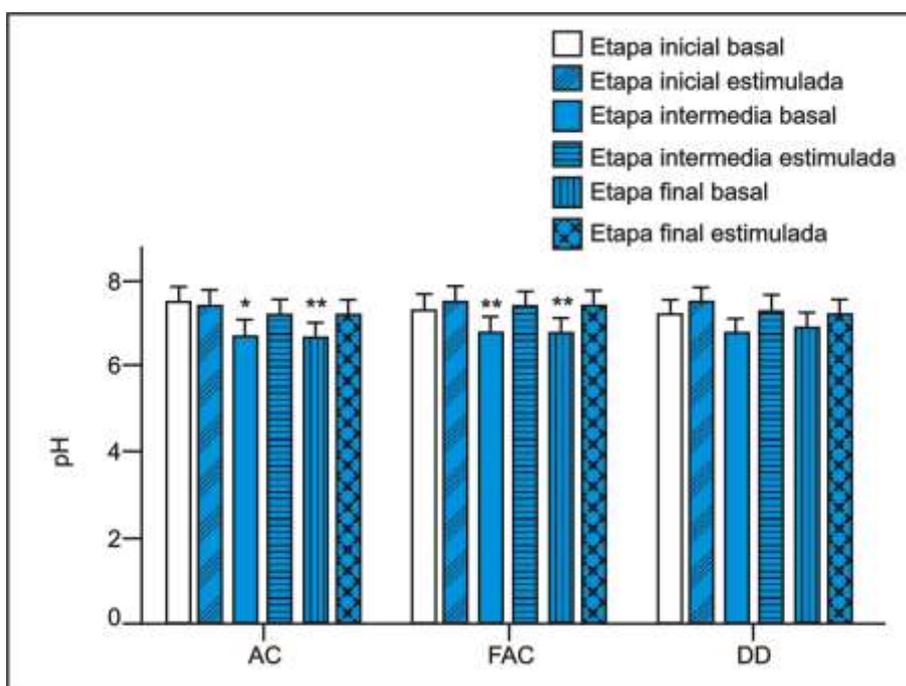


Figura 16. Efecto de los diferentes esquemas de tratamiento sobre el pH de saliva basal y estimulada de pacientes con cáncer de mama. (*): $p < 0.05$: AC basal intermedia vs. basal inicial (**): $p < 0.01$: esquema AC basal final vs. inicial; esquema FAC basal intermedia vs. inicial y final vs. inicial.

Componentes orgánicos e inorgánicos

Los componentes analizados fueron los mismos que para el caso de carcinoma de colon: ionograma en saliva, PO_4^{-3} , Ca^{+2} , proteínas totales, α amilasa salival, IgA_s y urea.

Con el esquema (AC) y (FAC) se incrementó la concentración de Cl^- en la etapa intermedia respecto de la etapa inicial y final ($P < 0,001$; $P < 0,05$ respectivamente).

El esquema (DD) produjo una disminución de la concentración de PO_4^{-3} en la etapa intermedia en relación a la inicial y final. ($P < 0,05$) (Tabla XVIII).

ESQUEMA DE TRATAMIENTO	COMPONENTES	ETAPAS		
		Inicial ($\bar{X} \pm \text{DS}$)	Intermedia ($\bar{X} \pm \text{DS}$)	Final ($\bar{X} \pm \text{DS}$)
AC	Na^+	8 \pm 1	8 \pm 1	11 \pm 2
FAC	Na^+	10 \pm 5	8 \pm 1	8 \pm 2
DD	Na^+	13 \pm 2	10 \pm 1	9 \pm 0
AC	Cl^-	9 \pm 1	16 \pm 1(***)	12 \pm 1
FAC	Cl^-	7 \pm 1	14 \pm 3(*)	8 \pm 0
DD	Cl^-	23 \pm 5	11 \pm 0	12 \pm 0
AC	K^+	15 \pm 1	18 \pm 2	17 \pm 2
FAC	K^+	1 \pm 11	20 \pm 4	15 \pm 5
DD	K^+	25 \pm 3	19 \pm 0	17 \pm 2
AC	PO_4^{-3}	14 \pm 2	20 \pm 2	14 \pm 2
FAC	PO_4^{-3}	21 \pm 2	19 \pm 2	20 \pm 3
DD	PO_4^{-3}	16 \pm 4	11 \pm 2(+)	13 \pm 2
AC	Ca^{+2}	4 \pm 1	5 \pm 1	4 \pm 1
FAC	Ca^{+2}	4 \pm 1	3 \pm 1	4 \pm 1
DD	Ca^{+2}	4 \pm 0	5 \pm 1	4 \pm 1

Tabla XVIII. Efecto de los esquemas AC, FAC y DD sobre componentes inorgánicos de saliva basal de pacientes con carcinoma de mama, en diferentes etapas del tratamiento. (*): $p < 0,05$ FAC: Cl^- medio vs. inicial y final; DD: Fosfato medio vs. inicial y final (***): $p < 0,001$: AC Cl^- medio vs. inicial y final.

En relación a los componentes orgánicos de saliva basal de pacientes con carcinoma de mama, los esquemas aplicados no produjeron variaciones significativas en las diferentes etapas del tratamiento (Tabla XIX).

ESQUEMA DE TRATAMIENTO	COMPONENTES	ETAPAS		
		Inicial ($\bar{X} \pm DS$)	Intermedia ($\bar{X} \pm DS$)	Final ($\bar{X} \pm DS$)
AC	Proteínas	267±70	339±78	259±86
FAC	Proteínas	268±79	114±16	137±14
DD	Proteínas	150±18	96±20	164±45
AC	amilasa	39686±11344	38031±11823	47244±7627
FAC	amilasa	49943±10991	42721±8142	66179±17036
DD	amilasa	38435±11934	71011±4606	43215±24254
AC	IgA	7±2	13±4	12±5
FAC	IgA	19±6	18±8	17±7
DD	IgA	12±1	15±6	7±1
AC	Urea	27±3	39±7	38±8
FAC	Urea	25±6	24±4	22±3
DD	Urea	71±7	50±13	75±21

Tabla XIX. Efecto de los esquemas AC, FAC y DD sobre componentes orgánicos de saliva basal de pacientes con carcinoma de mama, en diferentes etapas del tratamiento.

Comparación entre esquemas terapéuticos para carcinoma de mama

Cuando se analizó la concentración de los componentes orgánicos e inorgánicos entre los diferentes esquemas terapéuticos, se obtuvieron los siguientes resultados:

Esquema AC vs. esquema FAC

En el tratamiento con (FAC), disminuyó la concentración de proteínas totales, respecto del esquema (AC), en la etapa intermedia del tratamiento ($P < 0.01$) (Tabla XX).

AC	Proteínas	267±67	339±78	259±86
FAC	Proteínas	268±79	114±16(**)	137±14

Tabla XX. Concentración de proteínas totales: esquema AC vs. FAC.

Esquema AC vs. esquema DD

El tratamiento con (DD), disminuyó tanto la concentración de PO_4^{-3} ($P < 0,05$) como de proteínas totales ($P < 0,02$), en la etapa intermedia del tratamiento, respecto de aquellos pacientes tratados con (AC) (Tablas XXI y XXII).

AC	PO_4^{-3}	14±2	20±2	14±2
DD	PO_4^{-3}	16±4	11±2(*)	13±2

Tabla XXI. Concentración de fosfatos: esquema AC vs. DD.

AC	Proteínas	267±70	339±78	259±86
DD	Proteínas	150±18	96±20(*)	164±45

Tabla XXII. Concentración de proteínas totales: esquema AC vs. DD.

Esquema FAC vs. esquema DD

El tratamiento con (DD), provocó una disminución de la concentración de PO_4^{-3} en saliva basal ($P < 0,05$), respecto del esquema (FAC) (Tabla XXIII).

FAC	PO_4^{-3}	21±2	19±2	17±3
DD	PO_4^{-3}	16±4	11±2(*)	13±2

Tabla XXIII. Concentración de fosfato: esquema FAC vs. DD.

Los componentes orgánicos, en pacientes tratados con el esquema oncológico (DD) manifestó un aumento significativo de la concentración de urea en las muestras de saliva ($P < 0,05$), con relación al esquema (FAC) (Tabla XXIV).

FAC	Urea	25±6	24±4	22±3
DD	Urea	71±7	50±13(*)	75±21

Tabla XXIV. Concentración de urea: esquema FAC vs. DD.

Disgeusia

El esquema (FAC) produjo disgeusia en el 28,6 % de los pacientes en la etapa intermedia. Uno de ellos manifestó ageusia al sabor salado y otro aversión a la ingesta de alimentos muy saborizados, sin discriminar el tipo. En relación a los esquemas (AC) y (DD), el 14,3 % experimentó disgeusia al sabor salado. Los tres grupos revirtieron los síntomas de disgeusia en el 100% de los casos, una vez concluido el tratamiento.

Índice de Løe y Silness

La respuesta inflamatoria varió según el tratamiento aplicado. El esquema (AC), mostró solamente aumento de inflamación gingival, en la etapa intermedia revirtiéndose al finalizar el tratamiento. Los esquemas (FAC) y (DD) produjeron un incremento inflamatorio significativo en la etapa intermedia que no revirtió totalmente en la etapa final (Fig. 17).

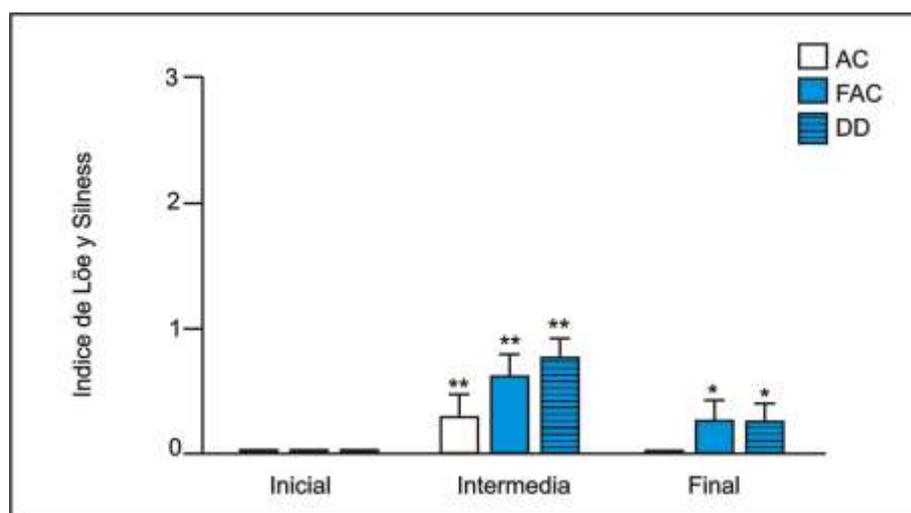


Figura 17. Efecto de los diferentes esquemas de tratamiento sobre el Índice de Løe y Silness en pacientes con cáncer de mama. (*): $p < 0.05$: FAC y DOC final vs. inicial (**): $p < 0.01$: esquema AC, FAC y DD intermedia vs. inicial.

Prueba no paramétrica para determinación del índice de Løe y Silness para los tres esquemas de carcinoma de mama (tabla XXV).

Esquema terapéutico	Comparación	p-valor prueba apareada Wilcoxon estimado por Monte Carlo
AC	Inicial-Intermedia	0,0001
	Intermedia-Final	0,0001
FAC	Intermedia-Final	0,0001
	Intermedia-Final	0,0001
DD	Intermedia-Final	0,0001
	Intermedia-Final	0,0001

Tabla XXV. Significación estadística por prueba no paramétrica del Índice de Løe y Silness en pacientes con diagnóstico de carcinoma de mama.

Índice de hemorragia simplificado

Los tres esquemas incrementaron significativamente este índice en la etapa intermedia revirtiéndose al finalizar el tratamiento (Fig. 18).

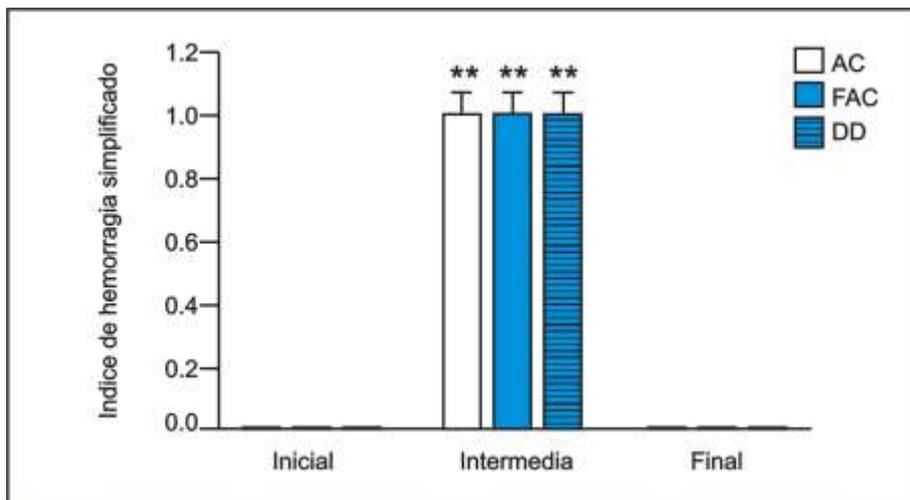


Figura 18. Efecto de los diferentes esquemas de tratamiento sobre el Índice de hemorragia en pacientes con carcinoma de mama. (**): $p < 0.01$: esquema AC, FAC y DOC intermedia vs. inicial.

Prueba no paramétrica para la determinación del índice de hemorragia en carcinoma de mama en los tres esquemas terapéuticos (tabla XXVI).

Esquema terapéutico	Comparación	p-valor prueba apareada Wilcoxon estimado por Monte Carlo
AC	Inicial-Intermedia	0,1
	Intermedia-Final	0,1
FAC	Intermedia-Final	0,0001
	Intermedia-Final	0,0001
DD	Intermedia-Final	0,0001
	Intermedia-Final	0,0001

Tabla XXVI. Significación estadística por prueba no paramétrica del Índice de Hemorragia en pacientes con diagnóstico de carcinoma de mama.

Índice de profundidad de sondaje

Los esquemas (AC) y (FAC) manifestaron un aumento al sondaje en zona vestibular de los sectores anterior y posterior, en la etapa intermedia del tratamiento sin revertir este parámetro al finalizar el mismo. Los pacientes observados bajo el esquema (DD), mostraron aumento de sondaje en la etapa final, tanto en el sector anterior como posterior (Fig. 19).

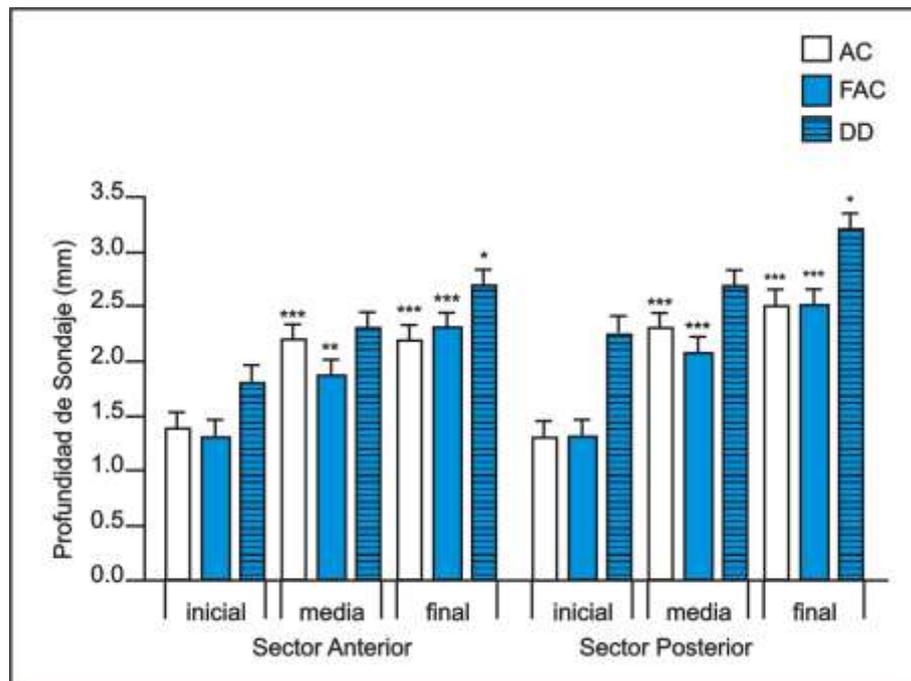


Figura 19. Efecto de los diferentes esquemas de tratamiento sobre la profundidad de sondaje vestibular en pacientes con carcinoma de mama. (*): $p < 0.05$: DD etapa final vs. inicial, sector anterior y posterior (**): $p < 0.01$: esquema FAC etapa intermedia vs. inicial; (***) $p < 0.001$: AC media y final vs. inicial, sector anterior y posterior; FAC final vs. inicial, sector anterior y FAC intermedia y final vs. inicial, sector posterior.

Evaluación de la profundidad de sondaje en caninos de pacientes con carcinoma de mama (test no paramétrico).

Profundidad de sondaje en elementos anteriores de pacientes con carcinoma de mama sometidos a diferentes esquemas terapéuticos: (AC), (DD) y (FAC). a) elemento 13; b) elemento 23; c) elemento 33; d) elemento 43 (Figuras 20a, 20b, 20c y 20d) (Tabla XXVI).

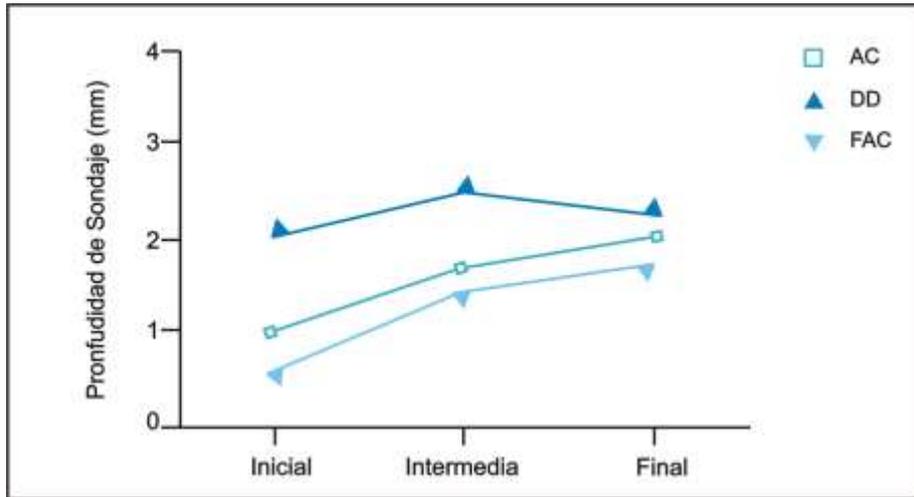


Figura 20 a. Esquemas AC, DD y FAC en pacientes con carcinoma de mama: valoración de la profundidad de sondaje vestibular elemento dentario 13. (Prueba no paramétrica).

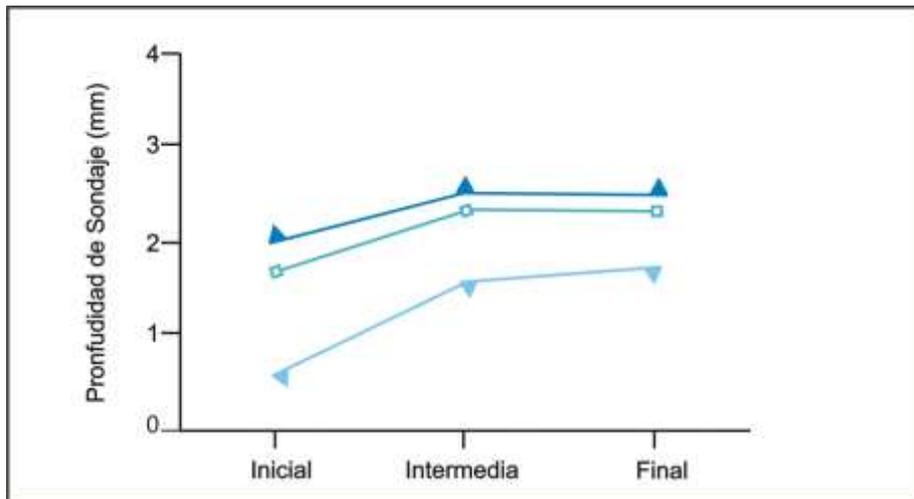


Figura 20 b. Esquemas AC, DD y FAC en pacientes con carcinoma de mama: valoración de la profundidad de sondaje vestibular elemento dentario 23. (Prueba no paramétrica).

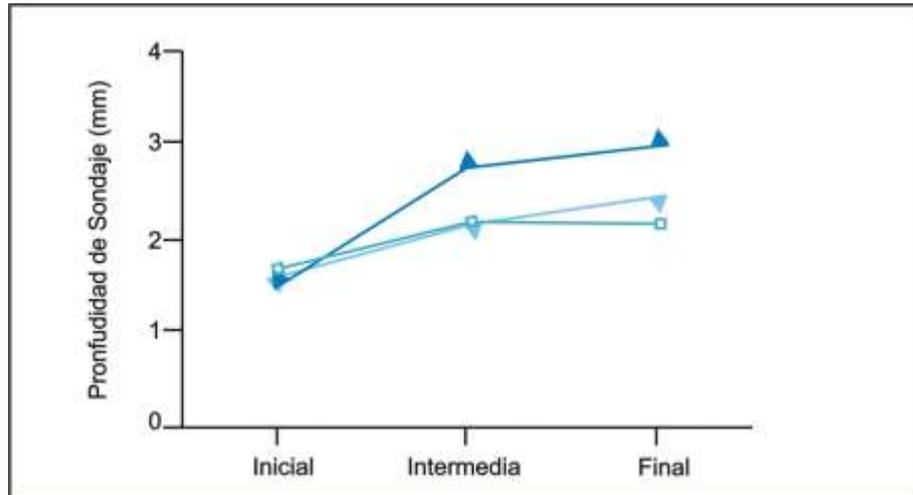


Figura 20 c. Esquemas AC, DD y FAC en pacientes con carcinoma de mama: valoración de la profundidad de sondaje vestibular elemento dentario 33. (Prueba no paramétrica).

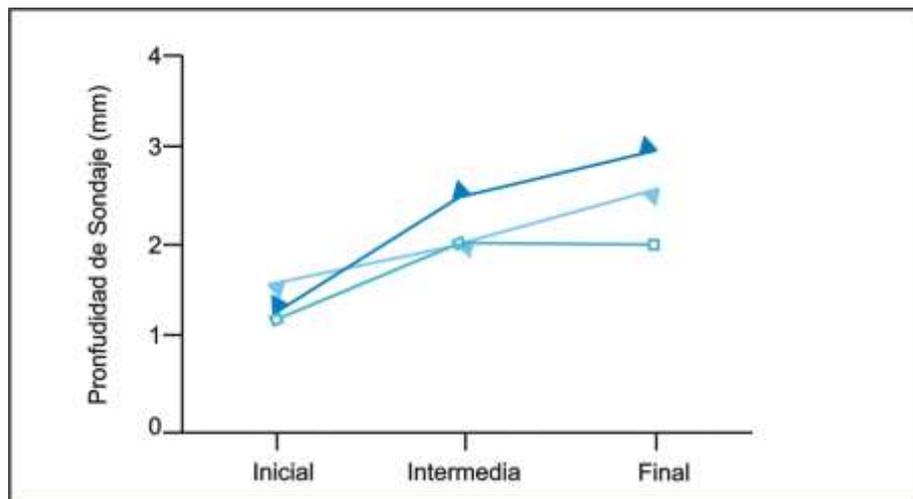


Figura 20 d. Esquemas AC, DD y FAC en pacientes con carcinoma de mama: valoración de la profundidad de sondaje vestibular elemento dentario 43. (Prueba no paramétrica).

Evaluación de la profundidad de sondaje en primeros molares de pacientes con carcinoma de mama (test no paramétrico).

Profundidad de sondaje en elementos posteriores de pacientes con carcinoma de mama sometidos a diferentes esquemas terapéuticos: (AC), (DD) y (FAC). a) elemento 16; b) elemento 26; c) elemento 36; d) elemento 46 (Figuras 21a, 21b, 21c y 21d) (Tabla XXVII).

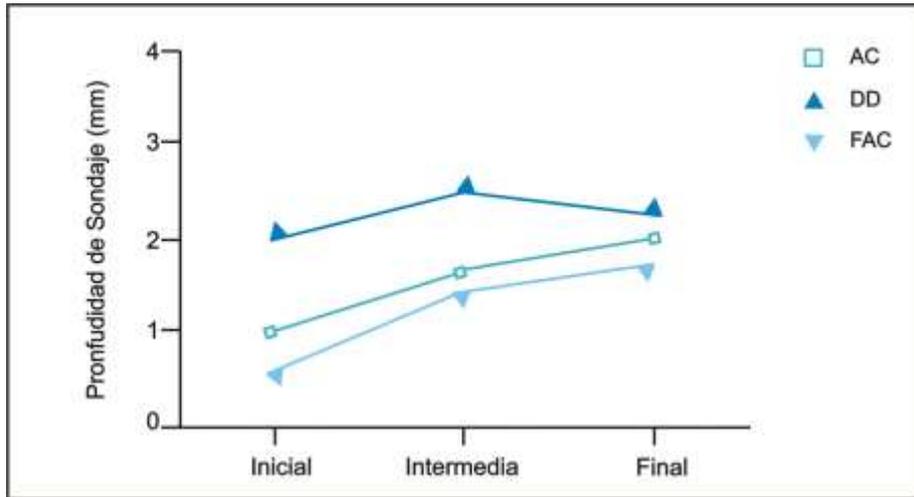


Figura 21 a. Esquemas AC, DD y FAC en pacientes con carcinoma de mama: valoración de la profundidad de sondaje vestibular elemento dentario 16. (Prueba no paramétrica).

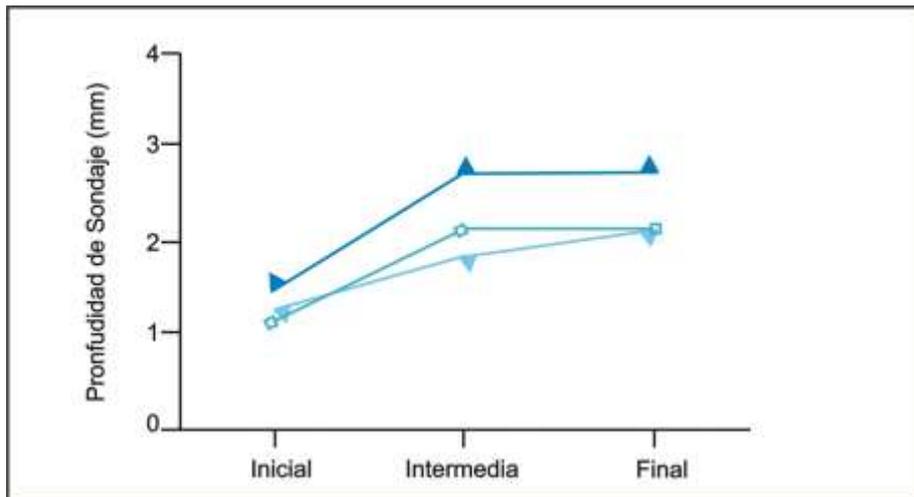


Figura 21 b. Esquemas AC, DD y FAC en pacientes con carcinoma de mama: valoración de la profundidad de sondaje vestibular elemento dentario 26. (Prueba no paramétrica).

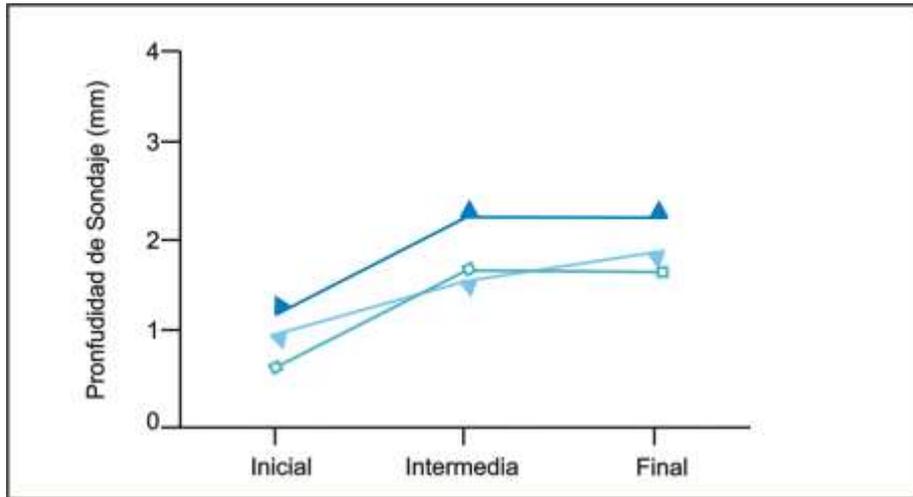


Figura 21 c. Esquemas AC, DD y FAC en pacientes con carcinoma de mama: valoración de la profundidad de sondaje vestibular elemento dentario 36. (Prueba no paramétrica).

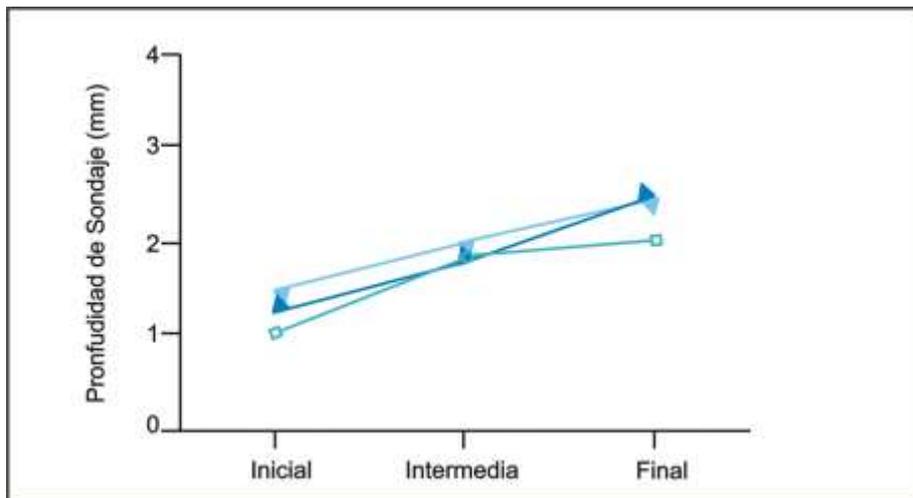


Figura 21 d. Esquemas AC, DD y FAC en pacientes con carcinoma de mama: valoración de la profundidad de sondaje vestibular elemento dentario 46. (Prueba no paramétrica).

ELEMENTO Nº	ETAPA	Mama p-valor (*)		
		AC	DD	FAC
13	Inicial-Media	0,01	0,1	0,006
	Media-Final	0,04	0,1	0,1
23	Inicial-Media	0,03	0,1	0,01
	Media-Final	<0,0001	0,005	0,008
33	Inicial-Media	0,001	0,08	<0,0001
	Media-Final	>0,99	0,08	0,0008
43	Inicial-Media	0,02	0,1	0,2
	Media-Final	<0,0001	0,0100	0,0004
16	Inicial-Media	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	Media-Final	<0,0001	<0,0001	<0,0001
26	Inicial-Media	0,6	0,07	0,03
	Media-Final	0,0008	0,6	0,002
36	Inicial-Media	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	Media-Final	<0,0001	<0,0001	<0,0001
46	Inicial-Media	0,1	0,07	0,05
	Media-Final	0,0004	0,6	0,04

Tabla XXVII. Significación estadística por prueba no paramétrica del Índice de profundidad de sondaje vestibular en pacientes con carcinoma de mama. (*) Prueba de Wilcoxon (muestras apareadas); p-valor estimado por Bootstrap.

Indices de C.P.O., Ramfjord y Placa

En relación a los índices de C.P.O. (Tabla XXVIII), Ramfjord (Tabla XXIX) y Placa (Tabla XXX) de las pacientes observadas, no mostraron cambios estadísticamente significativos, durante el tratamiento, con los distintos esquemas terapéuticos.

Carcinoma de mama CPO por Esquema Terapéutico	CPO (etapa inicial)	CPO (etapa intermedia)	CPO (etapa final)
(AC)	22	22	22
(FAC)	23	23	23
(DD)	20	20	20

Tabla XXVIII. Valores medios de elementos cariados, perdidos y obturados en etapas inicial, intermedia y final en pacientes con carcinoma de mama.

Carcinoma de mama	Etapa inicial	Etapa intermedia	Etapa final
Indice de Ramfjord (AC)	1	1	1
Indice de Ramfjord (FAC)	1	1	1
Indice de Ramfjord (DD)	1	1	1

Tabla XXIX. Valores medios del indice de Ramfjord en etapas inicial, intermedia y final en pacientes con carcinoma de mama.

Carcinoma de mama	Etapa inicial	Etapa intermedia	Etapa final
Indice de Placa (AC)	1	1	1
Indice de Placa (FAC)	1	1	1
Indice de Placa (DD)	1	1	1

Tabla XXX. Valores medios del indice de Placa en etapas inicial, intermedia y final en pacientes con carcinoma de mama.

Indices hematológicos

En las tablas XXXI, XXXII y XXXIII se indicaron los valores medios de los índices hematológicos de los pacientes con carcinoma de mama en etapas inicial, intermedia y final, tratados con AC, FAC y DD.

Índices hematológicos Esquema (AC)	Etap inicial	Etap intermedia	Etap final
Glóbulos rojos (mm ³)	4.730.000	4.298.333(*)	4.360.000
Hematocrito (%)	39	36	37
Hemoglobina (g/100 ml)	13,43	12,13(*)	12,38
Glóbulos blancos (mm ³)	4.936	3.700	4.528
Neutrófilos (%)	49	47	48
Eosinófilos (%)	2	2	2
Basófilos (%)	0	1	1
Linfocitos (%)	41	39	39
Monocitos (%)	7	9	8
Plaquetas (mm ³)	239.500	252.500	217.000

Tabla XXXI. Valores medios del índices hematológicos en etapas inicial, intermedia y final en pacientes con carcinoma de mama tratados con esquema (AC).

Índices hematológicos Esquema (FAC)	Etap inicial	Etap intermedia	Etap final
Glóbulos rojos (mm ³)	4.428.000	4.066.000	4.108.000
Hematocrito (%)	36	33	35
Hemoglobina (g/100 ml)	12,16	11,04	11,58
Glóbulos blancos (mm ³)	5.086	3.988	4.254
Neutrófilos (%)	69	50(**)	61
Eosinófilos (%)	1	3	1
Basófilos (%)	0	1	1
Linfocitos (%)	22	33(**)	29
Monocitos (%)	5	11	7
Plaquetas (mm ³)	366.200	310.000(**)	252.400(***)

Tabla XXXII. Valores medios del índices hematológicos en etapas inicial, intermedia y final en pacientes con carcinoma de mama tratados con esquema (FAC).

Índices hematológicos Esquema (DD)	Etap inicial	Etap intermedia	Etap final
Glóbulos rojos (mm ³)	4.220.000	4.100.000	4.136.666
Hematocrito (%)	35	34	34
Hemoglobina (g/100 ml)	12,16	11,16	11,23
Glóbulos blancos (mm ³)	6.340	4.040(*)	5.533
Neutrófilos (%)	73	46(**)	60
Eosinófilos (%)	1	2	1
Basófilos (%)	0	1	0
Linfocitos (%)	20	43(**)	33
Monocitos (%)	4	7	4
Plaquetas (mm ³)	234.333	229.666	254.000

Tabla XXXIII. Valores medios del índices hematológicos en etapas inicial, intermedia y final en pacientes con carcinoma de mama tratados con esquema (DD).

Prueba de Wilcoxon (muestras apareadas) con P-valor estimado por Bootstrap para índices hematológicos en esquemas (AC), (FAC) y (DD)

El esquema (AC) afectó los glóbulos rojos, sin efectos estadísticamente significativos sobre los leucocitos. Con el esquema (FAC), el efecto más evidente fue sobre neutrófilos, linfocitos y plaquetas (trombocitopenia). El esquema (DD) afectó al recuento de glóbulos blancos, neutrófilos y linfocitos, sin cambios en el recuento plaquetario (Tablas XXXIV, XXXV y XXXVI).

Esquema	Obs. (1)	Obs. (2)	Bt p (2 colas)
AC	g.roj. inicial	g.roj. intermedia	0,03 (*)
AC	g.roj. intermedia	g.roj. final	0,28
AC	Hb. inicial	Hb. intermedia	0,03 (*)
AC	Hb. intermedia	Hb. final	0,29
AC	Hcrito. inicial	Hcrito. intermedia	0,18
AC	Hcrito. intermedia	Hcrito. final	0,21
AC	Leuco. inicial	Leuco. intermedia	0,12
AC	Leuco. intermedia	Leuco. final	0,47
AC	Neutro. inicial	Neutro. intermedia	>0,999
AC	Neutro. intermedia	Neutro. final	>0,999
AC	Bas. inicial	Bas. intermedia	0,66
AC	Bas. intermedia	Bas. final	>0,44
AC	Eos. inicial	Eos. intermedia	>0,999
AC	Eos. intermedia	Eos. final	>0,999
AC	Linf. inicial	Linf. intermedia	0,82
AC	Linf. intermedia	Linf. final	>0,999
AC	Mono. inicial	Mono. intermedia	0,50
AC	Mono. intermedia	Mono. final	0,60
AC	Plaq. inicial	Plaq. intermedia	>0,999
AC	Plaq. intermedia	Plaq. final	0,235

Tabla XXXIV. Prueba de Wilcoxon (muestras apareadas) con P-valor estimado por Bootstrap para índices hematológicos en esquema (AC).

Esquema	Obs. (1)	Obs. (2)	Bt p (2 colas)
FAC	g.roj. inicial	g.roj. intermedia	0,78
FAC	g.roj. intermedia	g.roj. final	>0,999
FAC	Hb. inicial	Hb. intermedia	0,67
FAC	Hb. intermedia	Hb. final	0,38
FAC	Hcrito. inicial	Hcrito. intermedia	0,88
FAC	Hcrito. intermedia	Hcrito. final	0,42
FAC	Leuco. inicial	Leuco. intermedia	0,38
FAC	Leuco. intermedia	Leuco. final	0,87
FAC	Neutro. inicial	Neutro. intermedia	0,004 (**)
FAC	Neutro. intermedia	Neutro. final	0,56
FAC	Bas. inicial	Bas. intermedia	0,59
FAC	Bas. intermedia	Bas. final	0,81
FAC	Eos. inicial	Eos. intermedia	0,26
FAC	Eos. intermedia	Eos. final	0,29
FAC	Linf. inicial	Linf. intermedia	0,004 (**)
FAC	Linf. intermedia	Linf. final	0,60
FAC	Mono. inicial	Mono. intermedia	0,21
FAC	Mono. intermedia	Mono. final	0,21
FAC	Plaq. inicial	Plaq. intermedia	0,003 (**)
FAC	Plaq. inicial	Plaq. final	0,002 (**)
FAC	Plaq. intermedia	Plaq. final	<0,0001 (***)

Tabla XXXV. Prueba de Wilcoxon (muestras apareadas) con P-valor estimado por Bootstrap para índices hematológicos en esquema (FAC).

Esquema	Obs. (1)	Obs. (2)	Bt p (2 colas)
DD	g.roj. inicial	g.roj. intermedia	0,38
DD	g.roj. intermedia	g.roj. final	0,59
DD	Hb. inicial	Hb. intermedia	0,16
DD	Hb. intermedia	Hb. final	0,60
DD	Hcrito. inicial	Hcrito. intermedia	0,74
DD	Hcrito. intermedia	Hcrito. final	>0,999
DD	Leuco. inicial	Leuco. intermedia	0,01 (*)
DD	Leuco. intermedia	Leuco. final	0,07
DD	Neutro. inicial	Neutro. intermedia	0,008 (**)
DD	Neutro. intermedia	Neutro. final	0,06
DD	Bas. inicial	Bas. intermedia	0,12
DD	Bas. intermedia	Bas. final	>0,999
DD	Eos. inicial	Eos. intermedia	0,53
DD	Eos. intermedia	Eos. final	0,28
DD	Linf. inicial	Linf. intermedia	0,008 (**)
DD	Linf. intermedia	Linf. final	0,07
DD	Mono. inicial	Mono. intermedia	0,38
DD	Mono. intermedia	Mono. final	0,58
DD	Plaq. inicial	Plaq. intermedia	>0,999
DD	Plaq. intermedia	Plaq. final	0,59

Tabla XXXVI. Prueba de Wilcoxon (muestras apareadas) con P-valor estimado por Bootstrap para índices hematológicos en esquema (DD).

b) Resultados en ratas

Peso corporal

Los grupos tratados con drogas citostáticas y alimentación apareada registraron el día de las experiencias, una disminución significativa del peso corporal con relación al grupo control (Tabla XXXVII).

Peso húmedo y seco de glándulas submandibulares

El peso glandular húmedo y seco, disminuyó en todos los grupos experimentales respecto del grupo control. El grupo tratado con leucovorina y 5-fluorouracilo, mostró un efecto significativamente mayor en relación al tratado con alimentación apareada ($p < 0,05$) (Tabla XXXVII).

CONDICIÓN EXPERIMENTAL	PESO CORPORAL FINAL (g)	PESO GLANDULAR HÚMEDO (mg)	PESO GLANDULAR SECO (mg)
Control (n=10)	356 ± 21	216 ± 8	46 ± 2
Alimentación Apareada (n=12)	306 ± 4 (*)	163 ± 3 (***)	39 ± 0.6 (***)
5-Fluorouracilo (n=12)	305 ± 12 (*)	166 ± 5 (***)	36 ± 2 (***)
Leucovorina + 5-Fluorouracilo (n=14)	291 ± 15 (**)	150 ± 5 (***) (#)	34 ± 1 (***) (#)

Tabla XXXVII. Peso corporal y glandular en los diferentes grupos experimentales. (*): $p < 0.05$ Peso corporal final de animales con dieta alimentación apareada y tratados con 5-FU, vs. control; (**): $p < 0.01$: Animales tratados con 5-FU + LV en relación a control; (***) : $p < 0.001$: Peso glandular húmedo y seco de todos los grupos experimentales en relación a control. (#): $p < 0.05$: peso glandular húmedo y seco de animales tratados con 5-FU + LV vs. alimentación apareada.

Flujo salival

En relación al flujo salival, el volumen de saliva estimulada fue mayor en el grupo tratado con leucovorina y 5-fluorouracilo ($p < 0,001$), indicando un aumento de la sensibilidad frente a la estimulación autónoma (supersensibilidad) (Fig. 22).

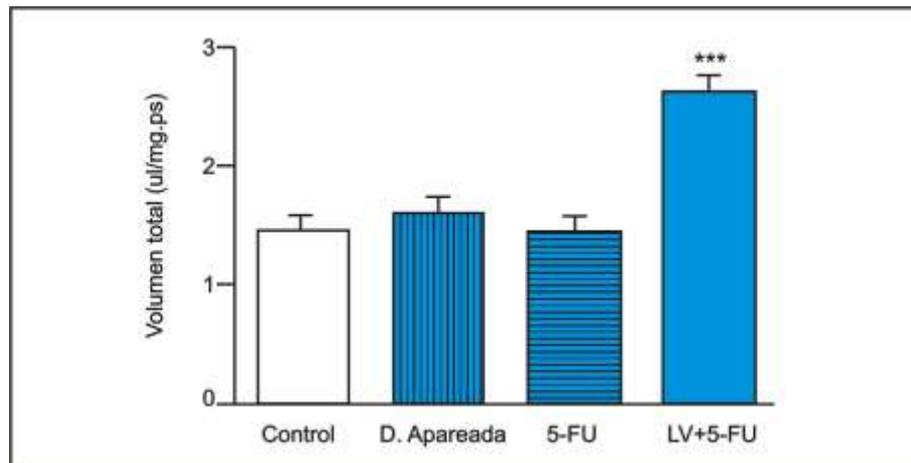


Figura 22. Flujo salival estimulado en los diferentes grupos experimentales. (***) : $p < 0.001$: grupo inyectado con 5-FU + LV vs. los demás grupos experimentales.

Electrolitos y componentes orgánicos

Dado que el volumen de saliva total obtenido no fue suficiente para el análisis de todos los componentes orgánicos e inorgánicos, se seleccionaron los más significativos. Dentro de los electrolitos se hicieron determinaciones bioquímicas en fosfatos y calcio, mientras que los compuestos orgánicos analizados fueron las proteínas totales, α amilasa salival y urea.

El análisis de la saliva estimulada, mostró un incremento significativo de iones fosfato y calcio sólo para el esquema leucovorina y 5-fluorouracilo (Tabla XXXVIII).

COMPONENTES	CONTROL	DIETA APAREADA	5-FU	5-FU+LV
Fosfatos mg/ml	0.6 ± 0.2	0.5 ± 0.1	1 ± 0.4	1.9 ± 0.3 (*)
Calcio mg/ml	4.8 ± 0.8	4.9 ± 0.6	5.5 ± 1	6.6 ± 0.4 (*)
Proteínas Totales mg/dl	209 ± 50	202 ± 35	174 ± 22	127 ± 19
Amilasa UA/dl	23878 ± 1203	25416 ± 1403	21782 ± 1365	22540 ± 2321
Urea mg/dl	68 ± 8	66 ± 7	51 ± 24	53 ± 6

Tabla XXXVIII. Componentes inorgánicos y orgánicos en los diferentes grupos experimentales. (*) : $p < 0.05$. Concentración de fosfatos y calcio en animales tratados con 5-FU + LV en relación a controles y tratados con 5-FU.

Extendidos de sangre

RECUENTO DE GLÓBULOS ROJOS

El número de eritrocitos por milímetro cúbico de sangre disminuyó significativamente en la etapa intermedia y final de ambos tratamientos (Fig. 23).

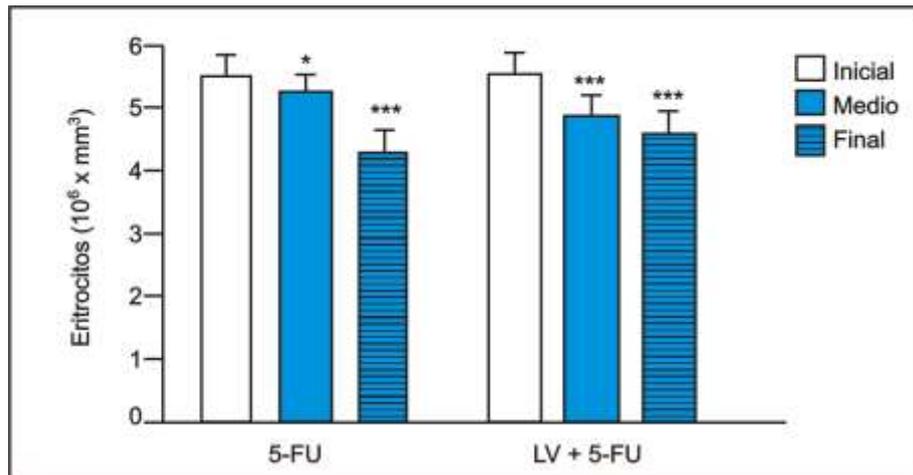


Figura 23. Efecto de 5-Fu y 5-FU + LV sobre la concentración de glóbulos rojos. (*): $p < 0.05$ 5-FU medio vs. inicial; (***): $p < 0.001$: 5-FU final vs. inicial y 5-FU + LV medio y final vs. inicial.

HEMOGLOBINA

La concentración de hemoglobina, disminuyó significativamente en ambos tratamientos. El efecto de 5-fluorouracilo en la etapa final fue mayor que en la etapa intermedia (Fig. 24).

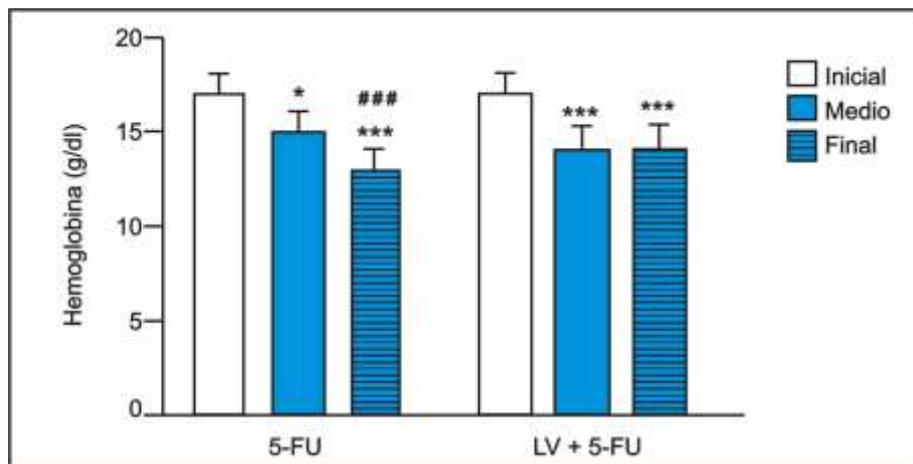


Figura 24. Efecto de 5-Fu y 5-FU + LV sobre la concentración de hemoglobina. (*): $p < 0.05$ 5-FU medio vs. inicial; (***): $p < 0.001$: 5-FU final vs. inicial y 5-FU + LV medio y final vs. inicial. ###: $p < 0.001$: 5-FU final vs. medio.

HEMATOCRITO

El valor del hematocrito disminuyó significativamente en ambos tratamientos. El efecto de 5-fluorouracilo en la etapa final fue mayor que en la etapa intermedia (Fig. 25).

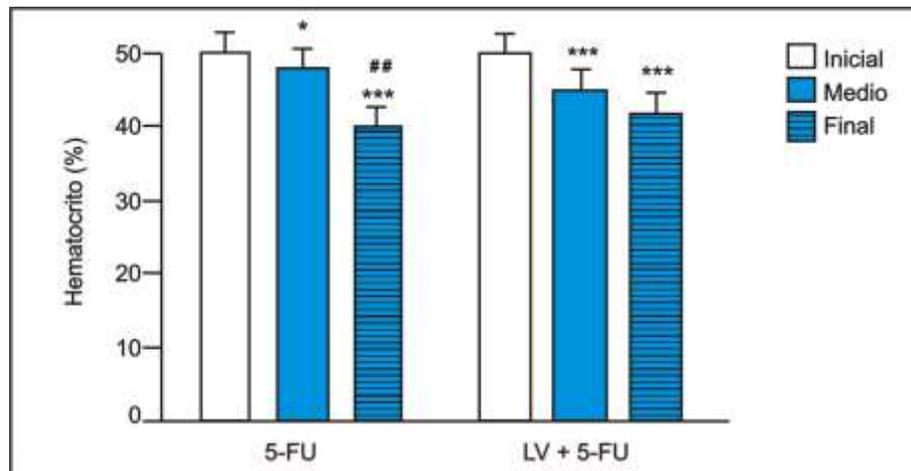


Figura 25. Efecto de 5-Fu y 5-FU + LV sobre la concentración de hemoglobina. (*): $p < 0.05$ 5-FU medio vs. inicial; (***): $p < 0.001$: 5-FU final vs. inicial y 5-FU + LV medio y final vs. inicial. ##: $p < 0.05$: 5-FU final vs. medio.

RECUESTO DE GLÓBULOS BLANCOS

El número de glóbulos blancos mostró efectos diferentes: no se modificó en la etapa intermedia para el esquema 5-fluorouracilo, pero si en el grupo tratado con leucovorina y 5-fluorouracilo, donde se constató una disminución significativa. En la etapa final, ambos tratamientos afectaron significativamente este parámetro (Fig. 26).

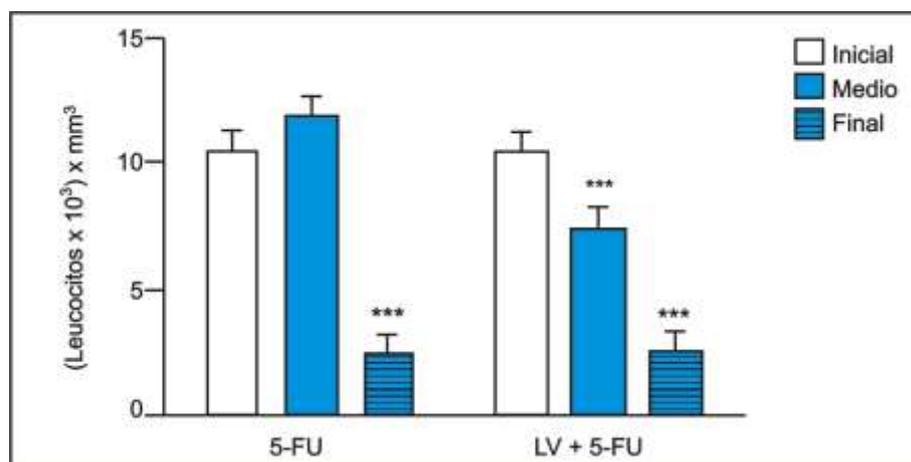


Figura 26. Efecto de 5-Fu y 5-FU + LV sobre la concentración de leucocitos. (***): $p < 0.001$: 5-FU final vs. inicial y medio; 5-FU + LV medio y final vs. inicial.

HETERÓFILOS

Ambos tratamientos disminuyeron significativamente el porcentaje de heterófilos en la etapa intermedia, con disminución de heterófilos en la etapa final (Fig. 27).

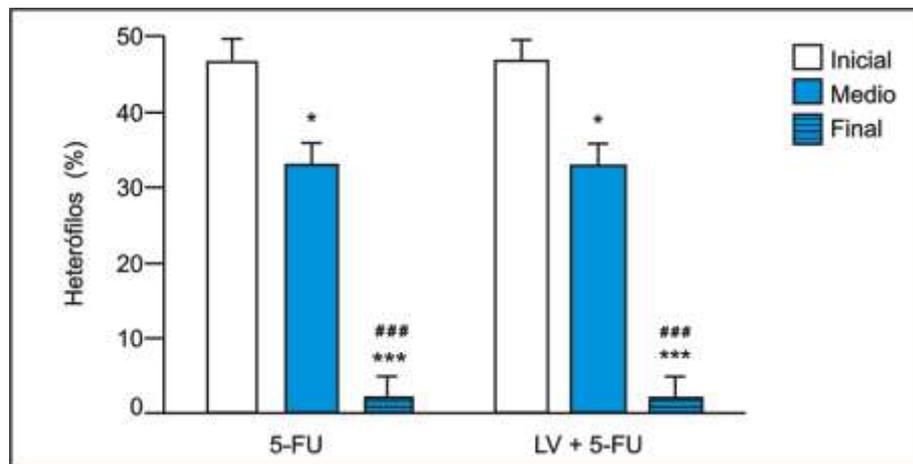


Figura 27. Efecto de 5-Fu y 5-FU + LV sobre la concentración de heterófilos. (*): $p < 0.05$ 5-FU medio vs. inicial; 5-FU + LV medio vs. inicial. (***): $p < 0.001$: 5-FU final vs. Inicial y 5-FU + LV final vs. inicial. ###: $p < 0.001$: 5-FU y 5-FU + LV final vs. medio.

LINFOCITOS

El número de linfocitos, se incrementó en la etapa intermedia y final de ambos tratamientos, con efecto más marcado en la etapa final (Fig. 28).

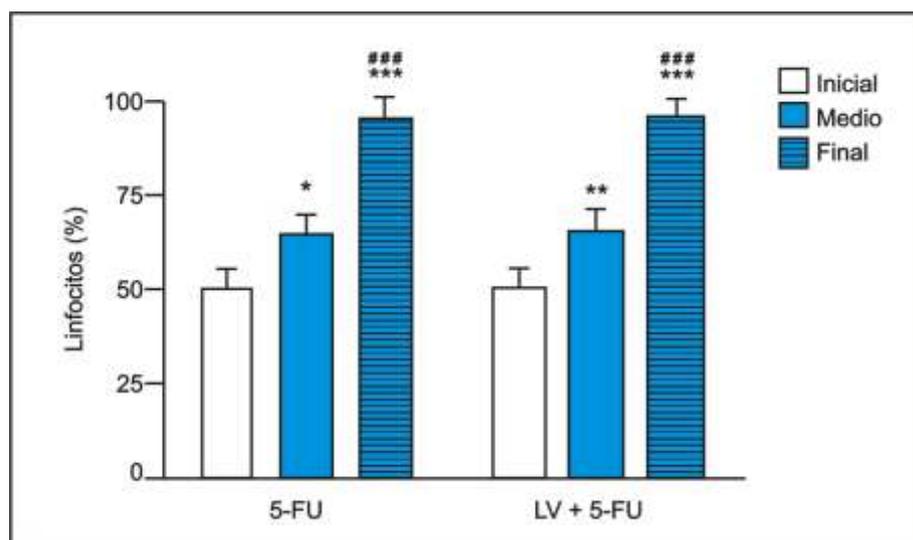


Figura 28. Efecto de 5-Fu y 5-FU + LV sobre el porcentaje de linfocitos. (*): $p < 0.05$ 5-FU medio vs. inicial; (**): $p < 0.01$ 5-FU + LV medio vs. inicial. (***): $p < 0.001$: 5-FU final vs. inicial y 5-FU + LV final vs. inicial. ###: $p < 0.001$: 5-FU y 5-FU + LV final vs. medio.

MONOCITOS

En ambos tratamientos, el porcentaje de monocitos, disminuyó significativamente en la etapa intermedia y final, con relación a la etapa inicial (Fig. 29).

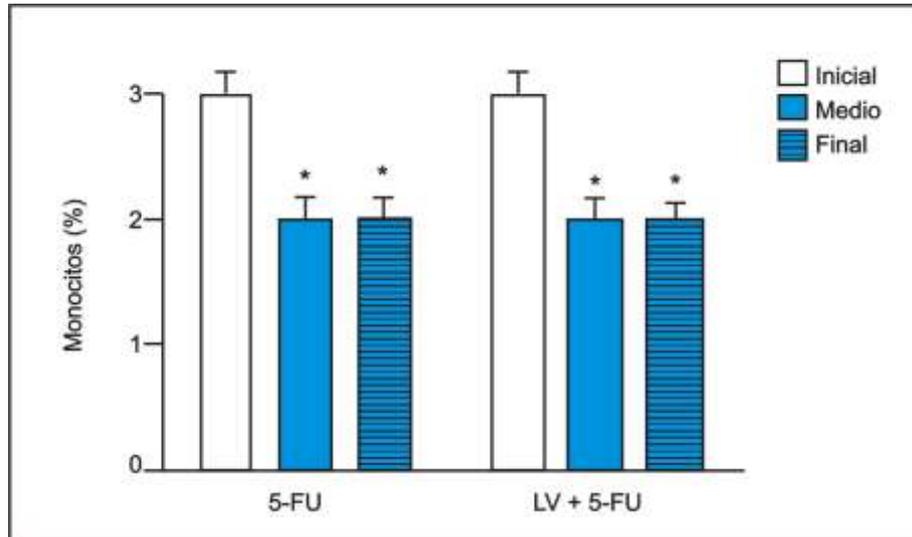


Figura 29. Efecto de 5-Fu y 5-FU + LV sobre el porcentaje de monocitos. (*): $p < 0.05$ 5-FU y 5-FU + LV medio y final vs. inicial.

PLAQUETAS

El número de plaquetas disminuyó significativamente en ambos tratamientos, siendo mayor el efecto en la etapa final (Fig. 30).

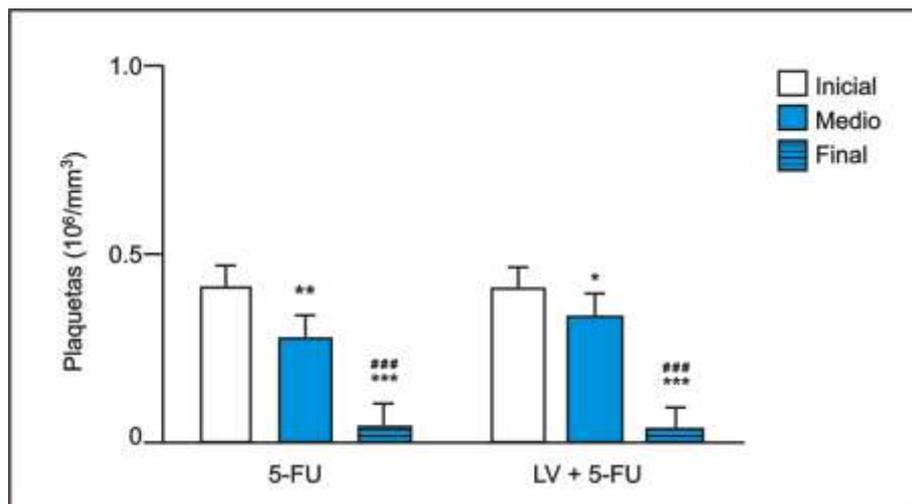


Figura 30. Efecto de 5-Fu y 5-FU + LV sobre el recuento plaquetario. (*): $p < 0.05$ 5-FU + LV medio vs. inicial; (**): $p < 0.01$ 5-FU medio vs. inicial. (***): $p < 0.001$: 5-FU y 5-FU + LV final vs. inicial. ###: $p < 0.001$: 5-FU y 5-FU + LV final vs. medio.

Determinación de glucógeno tisular

Ambos grupos, controles y con dieta apareada, muestran un descenso del glucógeno tisular a los 60 minutos de incubación en un medio sin glucosa, lo que se interpreta como consumo de este sustrato metabólico. Por el contrario, los grupos tratados con drogas oncológicas, experimentaron un incremento del glucógeno basal (Tiempo 0), pero su concentración no se modificó al finalizar el periodo experimental (Tiempo 60) (Fig. 31).

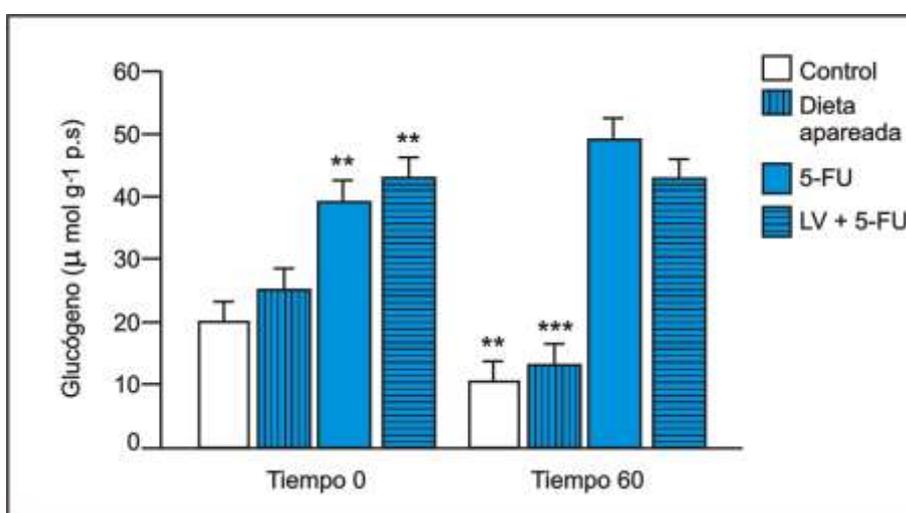


Figura 31. Concentración de glucógeno glandular en los diferentes grupos experimentales. (**): $p < 0.01$ Tiempo 0 5-FU y 5-FU + LV vs. control y dieta apareada. Tiempo 60 control vs. tiempo 0. (***): $p < 0.001$: Tiempo 60 alimentación apareada vs. tiempo 0.

Efecto de Isoproterenol y pilocarpina sobre el glucógeno de glándula submandibular de rata

El agregado de drogas agonistas adrenérgicas y colinérgicas (isoproterenol y pilocarpina) al medio de incubación, no provocó modificaciones en los grupos control y de alimentación apareada.

En cambio, en los dos grupos tratados con citostáticos disminuyó significativamente el nivel de este sustrato al final del período experimental (Fig. 32a y 32b).

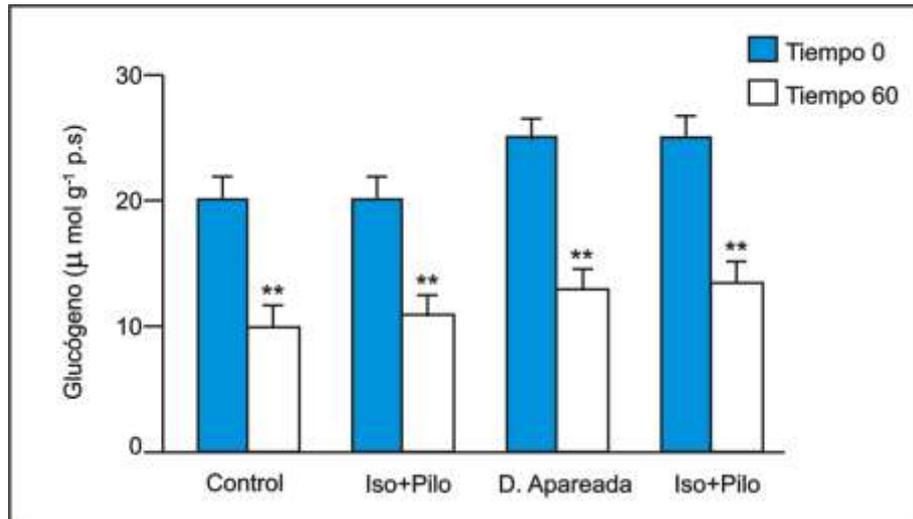


Figura 32a. Efecto de Isoproterenol (ISO) y Pilocarpina (PILO) sobre la concentración de glucógeno glandular en el grupo control y dieta apareada. (**): $p < 0.01$ Tiempo 60 vs. Tiempo 0.

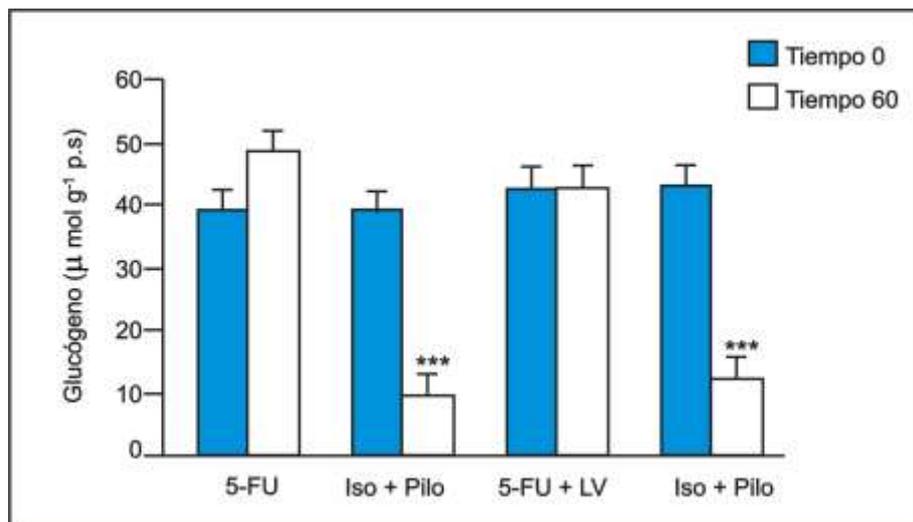


Figura 32b. Efecto de Isoproterenol y pilocarpina sobre el glucógeno de glándula submandibular de ratas tratadas con citostáticos. (**): $p < 0.001$ 5- FU y 5- FU + LV con isoproterenol y pilocarpina Tiempo 60 vs. Tiempo 0.

Curvas dosis-respuesta

La respuesta secretora frente a dosis crecientes de isoproterenol, mostró variaciones en los diferentes grupos experimentales.

A dosis de 2 µg/Kg de peso corporal, no hubo variaciones en las respuestas secretorias. Por el contrario, las dosis mayores ensayadas (3, 10 y 30 µg/Kg) mostraron diferencias entre los grupos experimentales (Fig. 33).

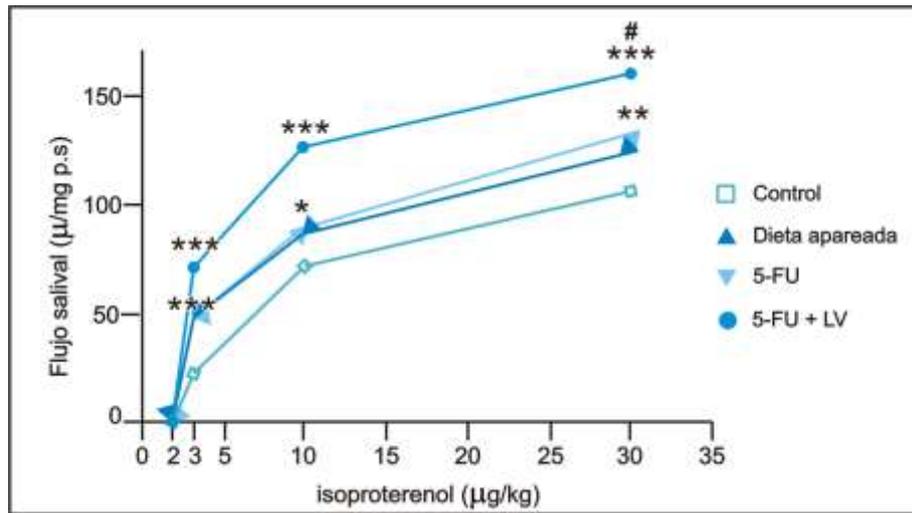


Figura 33. Efecto de dosis crecientes de Isoproterenol sobre el flujo submandibular de ratas en los diferentes grupos experimentales. (*) $p < 0.05$: 5-FU + Iso (10 g) vs. control y alimentación apareada; (**) $p < 0.01$: 5-FU + Iso (30 g) vs. control y alimentación apareada; (***) $p < 0.001$ 5-FU 5-FU + Iso (3 g) vs. control y alimentación apareada; (#) $p < 0.05$: 5-FU + LV + Iso (30 g) vs. 5-FU+ Iso (30 g).

Las curvas dosis-respuesta a pilocarpina, agonista de receptores muscarínicos, no registraron modificaciones en los diferentes grupos experimentales (Fig. 34).

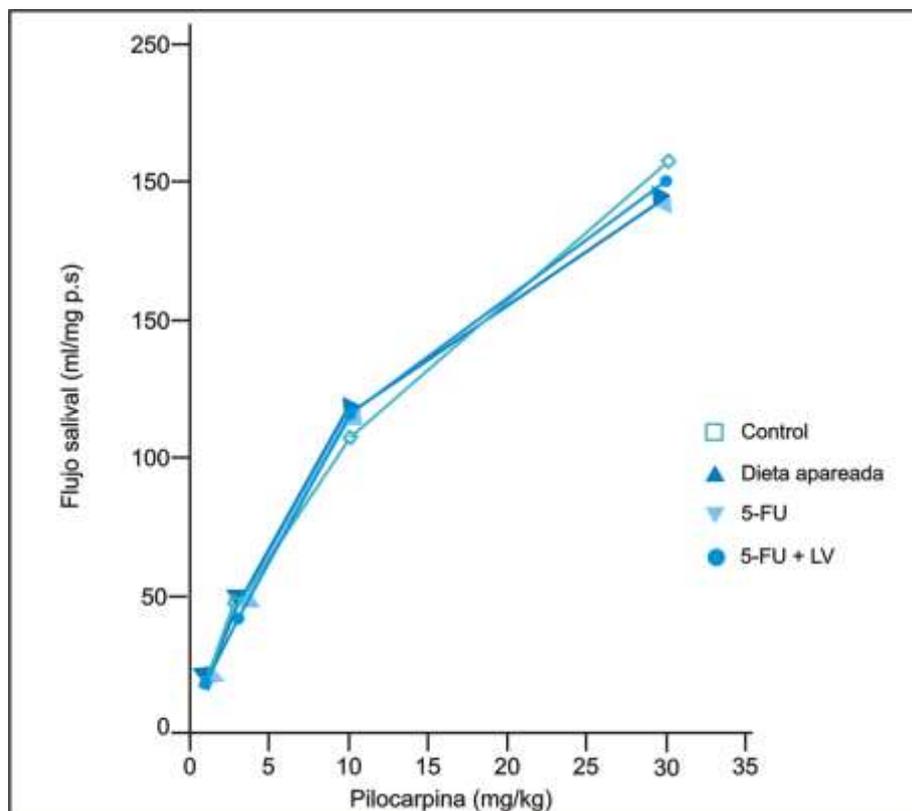


Figura 34. Efecto de dosis crecientes de pilocarpina sobre el flujo submandibular de ratas en los diferentes grupos experimentales.

DISCUSIÓN:

a) EN PACIENTES

En el presente trabajo se analizaron los efectos de algunos esquemas oncológicos destinados al tratamiento de carcinoma de colon y mama, sobre la secreción salival y en el sistema estomatognático. Fueron considerados aspectos clínicos y experimentales.

La planificación del estudio clínico fue observacional y longitudinal. Se evaluaron los efectos adversos de la quimioterapia en saliva total, por medio de procedimientos no invasivos, como la recolección de muestras de saliva basal y estimulada (193). Su naturaleza longitudinal, permitió el seguimiento a distancia de los pacientes. Además del estudio sialométrico, fueron analizados el pH, componentes orgánicos e inorgánicos y algunos índices usuales de salud bucal.

En concordancia con otros autores, se observó que la saliva juega un rol importante en la modulación de la homeostasis del sistema estomatognático y que perturbaciones en la cantidad y calidad excretada por las glándulas salivales pueden colaborar en el desarrollo de numerosas alteraciones (194).

Independientemente de la acción que los citostáticos podrían ejercer sobre la fisiología de las glándulas salivales, diversos investigadores discutieron los mecanismos tóxicos que poseen los agentes quimioterapéuticos sobre la mucosa bucal. Algunos sostuvieron el mecanismo de “difusión directo”, donde la droga se alojaría en la interfase del epitelio basal y tejido conectivo (195). Otros, afirmaron que la droga vehiculizada a través de la saliva, afectaría rápidamente el mecanismo de división celular en las mucosas (196, 197).

Al respecto, Curtis y Davies informaron hipofunción de las glándulas salivales, sosteniendo que esta alteración junto a la xerostomía serían dos de las manifestaciones más comunes en pacientes con cáncer avanzado (198, 199).

Existe un escaso conocimiento en el ámbito médico sobre el concepto de xerostomía. La confusión parte de asociar erróneamente este síntoma con

hipofunción glandular (200) y Senn definió a la xerostomía como “un tópico huérfano en los cuidados paliativos” (201).

Como este síntoma suele afectar un importante porcentaje de pacientes sometidos a quimioterapia, uno de los objetivos de nuestro estudio, consistió en investigar su posible etiología e influencia sobre algunos rasgos clínicos.

Diversos autores asociaron la xerostomía con otros síntomas bucales: sensación de boca ardiente, sed, disgeusia, halitosis, disfagia, incomodidad para masticar, dificultad en la utilización de prótesis removibles, infecciones bucofaríngeas, acumulación de mucus, retención de alimentos, presencia de placa bacteriana, cambios en la flora microbiana, alteraciones clínicas de la mucosa, malestar general y dolor (202, 203).

Puede advertirse que todos los síntomas descriptos, reflejan alteraciones salivales, por ausencia de su acción reguladora en el equilibrio de la cavidad bucal. Gupta y col. informaron que para el diagnóstico de hiposalivación, es importante basarse en la historia y el examen clínico del paciente (204).

Estos antecedentes, junto a nuestra experiencia en la clínica, nos permitieron afirmar la necesidad de efectuar la medición del flujo salival basal y estimulado, por medio de la sialometría, que es la técnica diagnóstica que lo confirma.

McCarthy y col. en un estudio realizado en pacientes con cáncer colorrectal tratados con 5-fluorouracilo, demostraron xerostomía junto a una reducción de la secreción salival en la totalidad de los casos. Además, asociaron xerostomía con incremento de mucositis (205).

Observaciones similares fueron hechas por Sonis y McGuire, quienes concluyeron que junto a otras drogas citostáticas como metotrexato, irinotecan y etoposido, 5-fluorouracilo aumenta el riesgo de aparición de mucositis (206, 207).

Nuestros resultados demostraron que en los pacientes sometidos a quimioterapia, los efectos a nivel de xerostomía y secreción salival, fueron variables en función del esquema terapéutico. En disidencia con estos investigadores, la muestra analizada no permitió observar lesiones de mucositis. Según Dawes, la xerostomía obedecería a una relativa disminución

del flujo salival basal, que muchos autores sostienen debiera ser igual o menor al 50% de los valores alcanzados en condiciones fisiológicas (208). En nuestro caso, el esquema para carcinoma de colon mostró hiposalivación basal y estimulada durante el tratamiento, con la consecuente sensación de xerostomía en la mayoría de los pacientes analizados. En tanto que de los tres tratamientos para carcinoma de mama, sólo el esquema AC, demostró hiposialia por estimulación mecánica.

Harrison y col. manifestaron disminución significativa de la secreción salival estimulada y una ligera reducción de la concentración de IgA_s en un grupo de siete mujeres sometidas al esquema ciclofosfamida - metrotexato - fluorouracilo (209). Si bien estos resultados no se correlacionan con los nuestros, son un ejemplo del variado comportamiento de los pacientes, en función de distintos tratamientos farmacológicos.

Es importante destacar que, a pesar de que las pacientes de los tres grupos tratadas por carcinoma de mama no revelaron hiposalivación basal, la mayoría manifestó algún grado de xerostomía. Esto refuerza el concepto de que no necesariamente debe haber reducción del flujo salival para que la sensación de boca seca o ardiente se manifieste. Por este motivo y en acuerdo con Nederfors consideramos que la hipofunción glandular y la sensación subjetiva de xerostomía pueden considerarse como “dos entidades separadas pero ampliamente interrelacionadas entre sí” (210).

Respecto al tratamiento con quimioterapia en cáncer de mama, Jensen y col. dudaron si la misma constituiría la causa de hipofunción de las glándulas salivales, a pesar de los cambios agudos en el flujo salival y composición observada durante el tratamiento, señalando la importancia de considerar la dosis aplicada, ya que los pacientes sometidos a dosis moderadas de quimioterapia, presentaban una gran dispersión en los resultados (211). Cabe aclarar, que el término “dosis moderadas” aplicado a quimioterapias ambulatorias, no provocan los mismos efectos que “altas dosis” administradas a pacientes sometidos a trasplante de médula ósea, donde las complicaciones

bucales junto a otros trastornos sistémicos, son potencialmente más agresivos, observables y registrables (212).

Además de estos antecedentes, Jensen reiteró en dos publicaciones, el error de incorporar en un mismo estudio variables tales como distintos diagnósticos de cáncer y regímenes de quimioterapia, diferencias farmacogenéticas en el metabolismo de las drogas y una variación interindividual respecto al flujo salival y composición. En su conclusión, comunicó la dificultad de establecer deducciones firmes, dada la variedad de diagnósticos de cáncer, drogas antineoplásicas y dosis aplicadas (213, 214). Un ejemplo de ello, se corresponde con una publicación reciente en la que se analizaron en forma conjunta algunos parámetros salivales en una muestra reducida de pacientes con carcinoma de mama, tratadas con variados esquemas oncológicos (215).

Teniendo como base estos antecedentes, los pacientes incluidos en la muestra fueron divididos en función del diagnóstico de cáncer y del esquema terapéutico indicado por el oncólogo. Asimismo, establecimos el seguimiento de nuestros pacientes en tres momentos críticos del tratamiento: antes, durante y 21 días posteriores de su finalización. Este modelo nos permitió considerar como grupo "control" a cada paciente previo al inicio de la quimioterapia.

Conjuntamente a las alteraciones del flujo, se observó acidificación del pH basal en los esquemas (5-FU + LV), (AC) y (FAC). Un estudio efectuado por Pajari y col. relacionaron el pH, concentración de lisozimas e inmunoglobulinas con el nivel de microorganismos en saliva. Estableció que la quimioterapia causó una importante acidificación, responsable del incremento de microorganismos (216).

Al respecto, Galbraith y col. confirmaron la importancia del mantenimiento del pH alcalino y la prevención del síndrome de boca seca para el correcto equilibrio de la salud bucal (217).

Según Almstahl y col. puede esperarse que al disminuir la secreción salival, se incremente el número de microorganismos anaeróbicos gram negativos, disminución de la capacidad buffer, seguido de aumento de especies microbianas asociadas con infecciones oportunistas (218). Los resultados obtenidos en este trabajo, en función de la hiposalivación y acidificación del pH

basal salival, demostrarían efectos similares. Es probable que la disminución de la ecuación flujo / pH sean indicadores de un incremento de patogenicidad bacteriana. En relación a las complicaciones que se derivan de la quimioterapia sobre los tejidos bucales, Sonis y col. aseveraron que los mismos sufren alteraciones entre las que destaca xerostomía e infecciones locales (219).

Por su parte, autores como Nieuw Amerongen y col. indicaron que la depresión de la secreción salival, deriva en procesos inflamatorios y cambios en la percepción del gusto (220).

Estas alteraciones fueron confirmadas durante la inspección clínica de nuestros pacientes, por medio de la medición del índice de Løe y Silness.

De ello se infiere que es posible cualificar el grado de incremento de riesgo y persistencia inflamatoria. Si bien todos los grupos estudiados mostraron inflamación durante la quimioterapia, algunos esquemas revirtieron este efecto al finalizar el tratamiento. Esto dependería de múltiples factores como asociación de drogas, grado de evolución de la enfermedad y respuesta del huésped entre otros. Por ejemplo, para el caso de carcinoma de mama, los regímenes (FAC) y (DD) provocaron inflamación gingival que no revirtió en la etapa final. En coincidencia con estos resultados, un trabajo efectuado por Jensen en carcinoma de mama, con otros esquemas terapéuticos, expresó que el índice de inflamación gingival había aumentado notablemente durante la quimioterapia con reversión a los valores basales, luego de seis meses de concluido el tratamiento (221). La normalización del proceso inflamatorio en el esquema AC, si bien no pudo ser confrontada con otra bibliografía, podría atribuirse a un régimen de menor cantidad de ciclos de quimioterapia.

Los distintos esquemas oncológicos mostraron un efecto hematológico variado en la etapa intermedia del tratamiento.

No obstante, el sangrado gingival se incrementó durante la etapa intermedia en todos los grupos, con remisión en la etapa final. Esto estaría indicando la presencia de otros factores determinantes del sangrado, como el vascular que es alterado por la quimioterapia.

La toxicidad por quimioterapia sobre el sistema hematopoyético, alcanzaría al sistema de irrigación capilar presente en el periodonto de protección. Esto explicaría el fenómeno de sangrado luego de efectuado el sondaje periodontal y evaluado por el índice de hemorragia (222).

Según Viera y col. el desequilibrio entre los microorganismos y los mecanismos de defensa del huésped, promueve el desarrollo de cambios patológicos en el periodonto, agravados por terapias asociadas al cáncer. El proceso de gingivitis durante el tratamiento, fue un hecho generalizado en todos los pacientes a pesar de que al inicio sus encías se mostraron clínicamente sanas (223).

Los grupos observados comenzaron sus tratamientos con una profundidad de sondaje periodontal normal. Al finalizar, si bien los valores se mantuvieron dentro del promedio que se considera clínicamente sano (igual o menor a 4 mm de profundidad) la media estándar arrojó un incremento significativo. Pero, los pacientes tratados con régimen por recaída (DD), tuvieron al inicio y al finalizar el tratamiento un promedio de profundidad de sondaje mayor a los otros grupos. Esta situación nos indicaría que la sumatoria de quimioterapias potenciaría el riesgo de enfermedad periodontal, alcanzando prácticamente valores patológicos.

Cabe destacar, que aquellos pacientes con higiene deficiente, mostraron un incremento notorio de los índices evaluados. Esto demostraría el grado de beneficio de la higiene bucal durante la quimioterapia y la importancia del tratamiento periodontal en los casos de gingivitis y/o periodontitis instalada, previo al tratamiento oncológico. Raber Durlacher y col. informaron sobre el grado de morbilidad que provocan las infecciones periodontales durante el seguimiento de pacientes sometidos a altas dosis de quimioterapia. Destacaron la necesidad de efectuar más estudios que evalúen el comportamiento de gingivitis y periodontitis en sus formas agudas o crónicas, en mayor número de pacientes y en función del tratamiento de cáncer, considerando variables como la edad, severidad de enfermedad periodontal pre-existente y otras infecciones bucales (224).

Nuestras observaciones nos permitirían advertir la importancia de efectuar análisis sobre posibles modificaciones de la biota del periodonto en pacientes sometidos a dosis moderadas de quimioterapia.

Respecto a la percepción del gusto, un reducido porcentaje de pacientes manifestó este síntoma, asociado con aversión a las carnes, disminución del umbral del sabor amargo y ageusia. No obstante, la mayoría expresó una alteración de la percepción del gusto salado. Es sabido que los botones gustativos que perciben este sabor primario, ubicados en las caras laterales de la lengua, se caracterizan por desencadenar un potencial de receptor frente a la presencia de Cl^- , Na^+ y K^+ entre otros. El análisis bioquímico de los componentes inorgánicos mostró incremento en saliva de Na^+ , K^+ y Cl^- . Esto podría explicar, un proceso de saturación o de adaptación de estos quimiorreceptores por la presencia permanente de un estímulo gustativo a través de estas sales ionizadas en la propia saliva, bloqueando de algún modo, la vía sensitiva para ese tipo de gusto (225). Otros estudios evaluaron cambios similares en la percepción del sabor, como aumento del umbral para los sabores dulce, salado y ácido y disminución para el sabor amargo (226, 227).

En acuerdo con otros investigadores, pudimos registrar que la aparición de los síntomas de xerostomía, náuseas y disgeusia ocurrieron especialmente durante la semana posterior a cada ciclo de quimioterapia, con consecuente impacto negativo sobre la calidad de vida de estos pacientes (228, 229, 230).

Estos síntomas disminuyeron significativamente o desaparecieron por completo, luego de haber finalizado la quimioterapia (231).

La disminución de la concentración de fosfatos en el esquema (DD) pondría en evidencia una mayor sensibilización del sistema buffer de tales pacientes, manifestando un posible incremento del deterioro de la segunda línea tamponadora (232).

El aumento de la concentración de la urea podría atribuirse al efecto sinérgico de la toxicidad de 5-fluorouracilo en presencia de leucovorina, cuya capacidad sobre el catabolismo de las proteínas ha sido ampliamente demostrado (233).

La significativa disminución de las proteínas totales en los esquemas (FAC) y

(DD) con relación al esquema (AC) indicaría que los dos primeros podrían alterar en mayor proporción la función glandular a nivel acinar, afectando la producción y secreción de proteínas (234, 235).

Este trabajo ha permitido demostrar la reversibilidad de la mayoría de las alteraciones observadas a nivel del sistema estomatognático al concluir la quimioterapia. Esto explicaría la capacidad de las glándulas salivales de recuperar su funcionamiento normal, una vez que han sido eliminados los componentes citotóxicos de las drogas. Dicha capacidad ha sido advertida por varios autores (236, 237).

b) EXPERIMENTOS EN RATAS

El esquema farmacológico utilizado en el presente trabajo se definió en función de los siguientes parámetros:

- a. Nuestros resultados en la actividad clínica.
- b. Imposibilidad de efectuar actividades invasivas complementarias en pacientes según los hallazgos observados.
- c. Manipulación de drogas considerando los límites de bioseguridad de nuestro laboratorio.

En base a estos criterios, los experimentos en ratas se efectuaron utilizando el esquema (5-FU+LV) observado en carcinoma de colon (238, 239).

Esto permitió evaluar el grado de influencia de este esquema, sobre la función de las GSM, a través del análisis sialométrico, niveles de glucógeno tisular y curvas dosis-respuesta. Los experimentos mencionados facilitaron la comprensión de los cambios informados en la fase clínica.

A nivel experimental, numerosos trabajos abordaron los efectos sistémicos de (5-FU+LV) en esquemas con o sin carcinogénesis inducida. La metodología utilizada en el empleo de estas drogas fue variado: combinando ambas drogas o por separado, alternando distintas dosis, forma y períodos de administración (240, 241, 242, 243).

A partir del conocimiento del mecanismo de acción de (5-FU) a nivel intracelular, su acción antitumoral y reacciones adversas sobre otros sistemas orgánicos, varias investigaciones fueron orientadas a minimizarlos facilitando una mejor tolerancia sin reducir su efectividad terapéutica. Tales experiencias evaluaron el modo de administración, farmacocinética (absorción y distribución en mucosa intestinal, médula ósea, hígado y otros tejidos), metabolismo hepático, eliminación, dosificación, etc. (244, 245, 246).

Son escasos los reportes sobre alteraciones en la actividad de glándulas salivales en ratas Wistar tratadas con (5-FU) (247, 248).

A partir de la revisión bibliográfica analizada, diseñamos un esquema experimental considerando una dosis máxima de tolerancia del citostático y la acción potenciadora del biomodulador (LV). Otra variable tenida en cuenta fue

el tiempo de administración, que permitiera analizar cambios cualitativos y cuantitativos en la secreción salival estimulada, sus componentes y actividad funcional de la glándula submandibular (249, 250).

Es conocido el hecho que la actividad salival secretoria en estos roedores puede reproducirse experimentalmente mediante estimulación farmacológica, a través de drogas agonistas del sistema nervioso autónomo (251).

El uso concomitante de isoproterenol y pilocarpina provocó un incremento significativo en la producción de saliva submandibular en el grupo (LV + 5-FU), interpretada como una mayor respuesta autónoma glandular. No obstante, esta determinación no permitió dilucidar los efectos de las drogas citostáticas sobre la división simpática y/o parasimpática.

En base a estos antecedentes, se efectuaron curvas dosis-respuesta frente a agonistas simpáticos y parasimpáticos, demostrándose un incremento en la sensibilidad para receptores β adrenérgicos, en ratas tratadas con (LV + 5-FU).

Nuestros resultados se asemejan a los de Mc Bride, que demostró un incremento en el número de receptores β adrenérgicos en glándula submandibular de ratas por efecto de metotrexato, considerado un antimetabolito similar a (5-FU) (252).

En condiciones fisiológicas, los procesos de secreción salival requieren del aporte de sustratos metabólicos como hidratos de carbono (253).

Varios investigadores han establecido la dependencia de las glándulas submandibulares de los mecanismos de glucogenólisis y glucólisis como principales fuentes metabólicas para llevar a cabo la secreción salival (254). De este modo, las variaciones del metabolismo del glucógeno glandular, son utilizadas "*in vitro*" como indicador de la actividad funcional de las mismas (255, 256).

En el presente trabajo, la concentración basal de glucógeno glandular aumentó significativamente en los grupos tratados con citostáticos, pero su concentración no se modificó al finalizar el período experimental. Por el contrario, los grupos (C) y (A.A.) mostraron una caída significativa de este sustrato al final del periodo experimental. El agregado de isoproterenol y pilocarpina, no modificó el

comportamiento de estos últimos dos grupos, en tanto que los grupos tratados con drogas oncológicas revirtieron la situación inicial, mostrando consumo de glucógeno al finalizar la experiencia. Esto podría sugerir, que el tratamiento con citostáticos altera significativamente el metabolismo de los hidratos de carbono independientemente del efecto provocado por una menor ingesta. En consecuencia, no sería la restricción alimenticia, sino el efecto del citostático el que promovería una disminución de la actividad secretoria funcional de la (GSM). En la bibliografía consultada no hemos registrado antecedentes que permitan confrontar nuestros resultados sobre consumo de glucógeno con otros autores que hayan utilizado la misma droga con dosis similares o diferentes.

Con relación a posibles cambios en los componentes orgánicos e inorgánicos analizados, solo el grupo (LV+ 5-FU) manifestó aumento en la concentración de fosfato y calcio. En esta instancia podemos inferir que, ante una situación de hiposalivación, se incrementaría la concentración del ión calcio o deberse a un efecto del metabolismo de la leucovorina cálcica a nivel glandular.

El uso de estas drogas en dosis mayores, provocaron otros efectos sistémicos como agrandamiento de la (GSM), edema, inmunosupresión, reducción del flujo salival e infección (257). Nuestras observaciones nos permitieron probar en dosis significativamente menores, depresión de la función glandular por alteración del arco reflejo autónomo, sin agrandamiento de la (GSM).

De este modo, se podría inferir que la secreción salival se afectaría por un doble mecanismo. El primero sería una toxicidad a nivel acinar, inducido por (5-FU), por depresión del proceso de utilización de glucógeno como principal sustrato en la actividad funcional de las células acinares. El segundo mecanismo, afectaría el arco reflejo autónomo simpático mediado por receptores β . En esta instancia, la acción sinérgica de ambas drogas (LV+5-FU), deprimirían la actividad nerviosa con disminución de la secreción salival. Esta sería la razón que explicaría la hiposialia citada por varios autores, en pacientes sometidos a este esquema oncológico (258, 259).

Los cambios sistémicos se pudieron verificar por el aspecto general de los animales, en los que se observó piloerección, pérdida de pelo, hemorragia

espontánea en falanges de las extremidades delanteras y traseras y zona nasobucal, diarrea y pérdida de peso corporal (260).

Con relación al peso corporal, los tres grupos experimentales disminuyeron en relación al control. En disidencia con Branda y col. que atribuyen la disminución de peso corporal al efecto de (5-FU), no se encontró diferencia con el grupo de alimentación apareada. Esto indicaría que la pérdida de peso se debería a una menor ingesta y no a la acción de las drogas (261).

Por el contrario, al comparar el peso glandular húmedo y seco, se observó que en el grupo de ratas tratadas con (LV+5FU) disminuyó el peso de las (GSM). De ello se sugiere que estas drogas serían capaces de alterar el tejido glandular.

En concordancia con otros investigadores, los signos de toxicidad hematológica se tradujeron en alteraciones tales como anemia, trombocitopenia y leucopenia, con marcada disminución de heterófilos y monocitos (262, 263, 264). La linfocitosis observada, estaría en disidencia con Ewens y Hagiwara que informaron linfopenia en un esquema similar pero con dosis significativamente mayores (265, 266).

CONCLUSIONES:

a) ESTUDIO LONGITUDINAL EN PACIENTES CON CARCINOMA DE COLON:

- 1)** Se corroboró el efecto adverso del esquema (5-FU + LV) sobre la salud bucal.
- 2)** Este esquema provocó hiposalivación basal y estimulada. Esta sería la causa de xerostomía o sensación de sequedad bucal, con síntomas de ardor, incomodidad para usar prótesis dentales, dificultad para masticar y deglutir alimentos y disgeusia.
- 3)** La saliva estimulada mostró acidificación en la etapa intermedia.
- 4)** El incremento de Na^+ y K^+ en saliva basal en la etapa intermedia, permitiría sugerir una alteración de los mecanismos de transporte ductal durante la etapa de reacomodamiento de la composición de iones que se produce en la formación de la saliva secundaria.
- 5)** El incremento de la urea en la etapa intermedia, podría interpretarse como un efecto catabólico proteico proveniente del plasma sanguíneo o de la misma glándula.
- 6)** El aumento de la profundidad de sondaje vestibular, único índice de salud que no revirtió al finalizar el tratamiento, nos permitiría inferir la posibilidad de una alteración en los mecanismos inmunitarios de la cavidad bucal por efecto de los citostáticos, con incremento del riesgo de enfermedad periodontal. Este resultado es de particular importancia con el fin de concientizar al paciente sobre la necesidad de adoptar medidas terapéuticas previas al inicio del tratamiento y durante el mismo, evitando complicaciones que afecten la salud del sistema estomatognático.

b) ESTUDIO LONGITUDINAL EN PACIENTES CON CARCINOMA DE MAMA:

1) Con relación al flujo salival basal, los grupos observados no mostraron alteraciones significativas. No obstante, durante la anamnesis en la mitad del tratamiento, el 75% de los pacientes manifestó síntoma de xerostomía.

Frente a la estimulación mecánica, solamente en el grupo tratado con (AC), se corroboró disminución del flujo salival.

2) Sólo los esquemas (AC) y (FAC) mostraron una acidificación de la saliva basal en la etapa intermedia del tratamiento. Este efecto podría relacionarse con el incremento del ión cloro en la etapa intermedia de ambos tratamientos, así como la aparición de síntoma de disgeusia.

3) El análisis de los componentes orgánicos no arrojó cambios estadísticamente significativos a lo largo del tratamiento en ninguno de los protocolos analizados. No obstante, la concentración de proteínas totales y fosfatos fue mayor en los grupos (AC) y (FAC), decreciendo su valor en el esquema (DD). Esto explicaría una disminución de la capacidad de los acinos para secretar proteínas y una reducción del efecto buffer salival mediado por fosfatos.

4) Los tres grupos mostraron inflamación gingival en la mitad de tratamiento; en el caso de los esquemas (FAC) y (DD) no revirtieron. Es posible que este hecho pueda atribuirse a otros factores que requieren observaciones futuras.

5) Los tres esquemas incrementaron el índice de hemorragia durante la etapa intermedia, que revirtió en la etapa final. Este hecho se podría atribuir a la acción adversa de la quimioterapia a nivel vascular y plaquetario.

6) No se corroboró lesión de mucositis oral descrita en la literatura por acción de agentes quimioterapéuticos en ninguno de los pacientes de los tres esquemas oncológicos.

7) La afección bucal más visible se ubicó a nivel periodontal. Dado que la profundidad de sondaje fue el único índice que no revirtió en los tres esquemas estudiados para carcinoma de mama, se podría concluir que en estos pacientes aumenta el riesgo de enfermedad periodontal.

- 8)** Es de destacar la necesidad de efectuar futuras investigaciones que permitan profundizar estudios periodontales con seguimiento del paciente a distancia, debido a la asociación de factores locales y sistémicos desencadenados durante la quimioterapia ambulatoria.
- 9)** Programar planes terapéuticos que prevengan o minimicen los efectos perjudiciales de la quimioterapia en la cavidad bucal, que alteran aún más la calidad de vida del paciente oncológico.

c) CONCLUSIONES PARA AMBOS ESQUEMAS ONCOLÓGICOS:

1) Si bien algunos de los resultados son coincidentes con la literatura científica, no se puede desconocer algunos informes contradictorios debido a los diferentes tipos de cáncer y consecuentemente variados protocolos terapéuticos, la falta de métodos estandarizados y períodos de seguimiento relativamente cortos, que reducen la obtención de resultados contundentes. En el presente, hemos delineado y sugerido un modelo de análisis de los resultados en base al diagnóstico de cáncer y de esquema terapéutico, tomando como grupo control cada paciente previo al inicio del tratamiento.

2) La inclusión de los profesionales odontólogos en el equipo interdisciplinario oncológico, permitirá que las afecciones bucales acaecidas durante el tratamiento con citostáticos puedan ser prevenidas y/o monitoreadas con especial atención, por su influencia dentro de las numerosas complicaciones secundarias que pueden afectar la calidad de vida del paciente.

3) Se sugiere efectuar estudios periodontales en pacientes que hayan recibido quimioterapia con el objetivo de evaluar a distancia posibles cambios en el tejido periodontal de protección y de inserción y su correlación con nuevos tratamientos oncológicos en la medida que la patología de base manifieste recaída. Así mismo se enfatiza en la necesidad de realizar estudios microbiológicos de la cavidad bucal en pacientes con indicación de quimioterapia, antes, durante y luego de finalizado el tratamiento.

4) Se recomienda concretar estudios multidisciplinarios que permitan profundizar el tema, por tratarse de una temática multicausal, mostrando la influencia de cada uno de ellos en los trastornos bucales por quimioterapia. El mismo debería estar conformado por odontólogos (especialistas en periodoncia, estomatología y clínica general), oncólogos, hematólogos, infectólogos y bioquímicos entre otros, para abordar en forma integral cada uno de los aspectos vinculantes a los efectos adversos de la poliquimioterapia en la cavidad bucal.

- 5)** Resultaría conveniente individualizar cuáles son los efectos tóxicos de cada uno de los agentes quimioterapéuticos y su asociación, para desarrollar estrategias de prevención, eliminación y/o reducción de éstos en el medio bucal.
- 6)** Potenciar la utilización de la saliva como fluido diagnóstico y el monitoreo de drogas. A tal efecto, se enfatiza la necesidad de incrementar las investigaciones que aporten un mayor conocimiento sobre sus distintas aplicaciones que permitan al Odontólogo no sólo la detección de enfermedades bucales, sino en el diagnóstico precoz de patologías de orden sistémico.
- 7)** Consideramos que la investigación básica con transferencia a la clínica odontológica debe extenderse y profundizarse, para evitar de este modo la desvinculación entre el conocimiento científico que permite la comprensión de muchos fenómenos clínicos.

d) CONCLUSIONES SOBRE EXPERIMENTOS EN RATAS:

- 1)** Ambos tratamientos (5-FU) y (LV + 5-FU), redujeron la ingesta normal diaria, sin diferencias significativas en la cantidad consumida entre ambos esquemas. La disminución de la misma no afectó los cambios observados con (LV), sin descartar la influencia de algunos efectos de (5-FU).
- 2)** La disminución del peso corporal fue similar en ambos tratamientos y en el grupo con alimentación apareada. Esto indicaría que el efecto observado se debe a una menor ingesta y no a la acción de los citostáticos.
- 3)** Ambas drogas alteraron los índices hematológicos. En la serie roja el efecto se manifestó antes que sobre los glóbulos blancos.
- 4)** El comportamiento de la fórmula leucocitaria mostró una marcada disminución de heterófilos y linfocitosis. Esto indicaría cambios en la respuesta inmunitaria en ambos esquemas.
- 5)** La severa trombocitopenia se tradujo en un sangrado espontáneo en la región nasobucal, extremidades y durante la obtención del fluido salival.
- 6)** El peso glandular disminuyó en el esquema (LV + 5-FU), por otra parte los efectos observados en (5-FU) fueron semejantes al grupo de alimentación apareada, por lo que pudieron atribuirse a una menor ingesta.
- 7)** El flujo estimulado por drogas agonistas del sistema nervioso autónomo, se incrementó por la asociación del (LV + 5-FU), lo que significó un aumento de la sensibilidad en la respuesta vegetativa glandular (hipersensibilidad).
- 8)** La disminución de la actividad funcional en (GSM) de animales tratados con (LV), obedecería a una alteración de la inervación autónoma simpática mediada por receptores β , sin cambios significativos en la inervación parasimpática.
- 9)** El tratamiento con citostáticos bloqueó la utilización de glucógeno glandular como fuente de energía para la actividad secretoria, lo que se relacionó con la hipofunción glandular. Ésta pareciera obedecer a un deterioro de la inervación autónoma, ya que el agregado de agonistas del sistema nervioso vegetativo (isoproterenol y pilocarpina) revirtió el efecto.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Gómez de Ferraris ME, Campos Muñoz A. Histología, Embriología e Ingeniería tisular bucodental. Ed. Médica Panamericana, 3ra. Edición, 2009.
- 2) Bradley RM, Fisiología oral. Capítulo 11: Secreción de Saliva. Editorial Médica Panamericana, 1984.
- 3) Edgar WM. Saliva: its secretion, composition and functions. Br. Dent J. 172(8):305-12, 1992.
- 4) Llena-Puy C. The role of saliva in maintaining oral health and as an aid to diagnosis. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 11(5):E449-55, 2006.
- 5) Fox PC. Saliva composition and its importance in dental health. Compend Suppl (13): S457-60, 1989.
- 6) Scheyer LH. Method for the collection of separate submaxillary and sublingual saliva in man. J Dent Res 34(2):257-61, 1955.
- 7) Pedersen AM, Bardow A, Nauntofte B. Salivary changes and dental caries as potential oral markers of autoimmune salivary gland dysfunction in primary Sjögren's syndrome. BMC Clin Pathol 5(1): 4, 2005.
- 8) Bardow A, Moe D, Nyvad B, Nauntofte B. The buffer capacity and buffer systems of human whole saliva measured without loss of CO₂. Arch Oral Biol 45 (1): 1-12, 2000.
- 9) Bardow A, Moe D, Nyvad B, Nauntofte B. The buffer capacity and buffer systems of human whole saliva measured without loss of CO₂. Arch Oral Biol 45:1-12, 2000.
- 10) Heintze U, Birkhed D, Björn H. Secretion rate and buffer effect of resting and stimulated whole saliva as a function of age and sex. Swed Dent J 7(6): 227-38, 1983.
- 11) Laine M, Leimola-Virtanen R. Effect of hormone replacement therapy on salivary flow rate, buffer effect and pH on perimenopausal and postmenopausal women. Arch Oral Biol 41(1):91-6, 1996.
- 12) Laine M, Pienihäkkinen K, Ojanotko-Harri A, Tenovuo J. Effects of low-dose oral contraceptives on female whole saliva. Arch Oral Biol 36(7): 549-52, 1991.
- 13) Jensen SB, Pedersen AM, Reibel J, Nauntofte B. Xerostomia and hypofunction of the salivary glands in cancer therapy. Support Care Cancer 11:207-25, 2003.
- 14) Beeley JA. Clinical applications of electrophoresis of human salivary proteins. J Chromatogr 569 (1-2): 261-80, 1991.
- 15) Humphrey SP, Williamson RT. A review of saliva: normal composition, flow and function. J Prosthet Dent. 85(2): 162-9, 2001.
- 16) Screebny LM. Saliva in health and disease: an appraisal and update. Int Dent J 50(3):140-61, 2000.
- 17) Mandel ID. The functions of saliva. J Dent Res 66: 623-7, 1987.
- 18) Pedersen AM, Bardow A, Jensen SB, Nauntofte B. Saliva and gastrointestinal functions of taste, mastication, swallowing and digestion. Oral Dis. 8 (3): 117-29, 2002.
- 19) Pedersen AM, Bardow A, Jensen SB, Nauntofte B. Saliva and gastrointestinal function of taste, mastication, swallowing and digestion. Oral Dis 8:117-29, 2002.
- 20) Turner RJ, Paulais M, Manganel M, Lee SI, Moran A, Melvin JE. Ion and water transport mechanisms in salivary glands Crit Rev Oral Biol Med 4(3-4): 385-91, 1993.
- 21) Nauntofte B. Regulation of electrolyte and fluid secretion in salivary acinar cells. Am J Physiol 263 (6Pt 1):G823-37, 1992.

- 22) Castle D, Castle A. Intracellular transport and secretion of salivary proteins. *Crit Rev Oral Biol Med* 9(1): 4-22, 1998.
- 23) Bertam U. Xerostomia. Clinical aspects, pathology and pathogenesis. *Acta Odontol Scand* 25: Suppl 49:1-126, 1967.
- 24) Baum BJ, Dai Y, Hiramatsu Y, Horn VJ, Ambudkar IS. Signaling mechanisms that regulate saliva formation. *Crit Rev Oral Biol Med* 4 (3-4): 379-84, 1993.
- 25) Nauntofte B. Regulation of electrolyte and fluid secretion in salivary acinar cells. *Am J Physiol* 263: G 823-37, 1992.
- 26) Kerr MA. The structure and function of human IgA. *Biochem J* 271: 285-96, 1990.
- 27) Pedersen AM, Bardow A, Jensen SB, Nauntofte B. Saliva and gastrointestinal functions of taste, mastication, swallowing and digestion. *Oral Dis* 8(3):117-29, 2002.
- 28) Dawes C. Circadian rhythms in human salivary. Flow rate and composition. *J Physiol* 220:529-45, 1972.
- 29) Dawes C. Circadian rhythms in the flow rate and composition of unstimulated and stimulated human submandibular saliva. *J Physiol* 244: 535-48, 1975.
- 30) Ghezzi EM, Lange LA, Ship JA. Determination of variation of stimulated salivary flow rates. *J Dent Res* 79: 1874-8, 2000.
- 31) Skopouli F, Siouna-Fatourou H, Ziciadis C, Moutsopoulos H. Evaluation of unstimulated whole saliva flow rate and stimulated parotida floz as confirmatory tests for xerostomia, 1989.
- 32) Lenander-Lumilcari M, Loimaranta V. Saliva and dental caries. *Adv Dent Res.* 14: 40-7, 2000.
- 33) Actis AB, Perovic NR, Defagó D, Beccacece C, Eynard AR. Fatty acid profile of human saliva:a possible indicator of dietary fat intake. *Arch Oral Biol* 50 (1):1-6, 2005.
- 34) Dawes C. Physiological factors affecting salivary flor rate, oral sugar clearance and the sensation of dry mouth in man. *J Dent Res.* 66: 648-53, 1987.
- 35) Bergdahl M, Bergdahl J. Low unstimulated salivary flow and subjetive oral dryness: association with medication, anxiety, depression and stress. *J Dent Res* 79 (9): 1652-58, 2000.
- 36) Young W, Khan F, Brandt R, Savage N, Abdul Razek A, Huang Qoing. Syndromes with salivary disfunction predispose to tooth wear: Case reports of congenital dysfunction of major salivary glands, Prader-Willi, congenital rubella and Sjögren´s Síndromes. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 92(1):38-48, 2001.
- 37) Sreebny L, Valdin A, Yu A. Xerostomia. Prt II: realtionship tp non oral symptoms, drugs and diseases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 68:419-427, 1987.
- 38) Brown C. The parotid puzzle: A review of the literarture on human salivation and its application to psychophysiology. 7:66-85, 1970.
- 39) Dawes C. Physiological factors affecting salivary flow rate, oral sugar clearance and the sensation of dry mouth in man. *J Dent Res* 66: 648-53, 1987.
- 40) Rice DH. Advances in diagnosis and management of salivary glands diseases. *The West J Med* 140: 238-249, 1984.
- 41) Emmelin N. Nerve interactions in salivary glands. *D Dent Res* 66(2): 509-17, 1987.
- 42) Scully C. Drug effects on salivary glands: dry mouth. *Oral Dis* 9(4):165-76, 2003.
- 43) Turner RJ, Sugiya H. Understanding salivary fluid and protein secretion. *Oral Dis* 8(1): 3-11, 2002.

- 44) Lanfri Aguilar, N. Efecto de la dieta restringida sobre el metabolismo de hidratos de carbono en glándulas submaxilares de ratas hembras prepúberes. Tesis Doctoral. p: 23, 2002.
- 45) Anttila SS, Knuutila ML, Saki TK. Depressive symptoms as an underlying factor of the sensation of dry mouth. *Psychosom Med* 60: 215-8, 1998.
- 46) Melvin JE, Yule D, Shuttleworth T, Begenisich T. Regulation of fluid and electrolyte secretion in salivary gland acinar cells. *Annu Rev Physiol* 67:445-69, 2005.
- 47) Proctor GB, Carpenter GH, Regulation of salivary gland function by autonomic nerves. *Auton Neurosci* 30:133(1):3-18, 2007.
- 48) Llena- Puy C. The role of saliva in maintaining oral health and as an aid to diagnosis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 11(5): E449-55, 2006.
- 49) Serrano-Dueñas M. Sialorrhea in patients with Parkinson. A six year prospective study. *Rev Neurol* 37(7):623-6, 2003.
- 50) Shah J, Zhai H, Fuerst D, Watson C. Hypersalivation in temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 47(3):644-51, 2006.
- 51) Hockstein NG, Samadi DS, Gendron K, Handler SD. Sialorrhea: a management challenge. *Am Fam Physician* 69(11):2628-34, 2004.
- 52) Chaushu S, Becker A. Behaviour management needs for the orthodontic treatment of children with disabilities. *Eur J Orthod*. 22(2):143-49, 2000.
- 53) Meningaud JP, Pitak-Arnop P, Chikhani L, Bertrand JC. Drooling of saliva: a review of the etiology and management options. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 101(1): 48-57, 2006.
- 54) Dawes C. How much saliva is enough for avoidance of xerostomia. *Caries Res* 38: 236-40, 2004.
- 55) Hershkovich O, Nagler RM. Biochemical analysis of saliva and taste acuity evaluation in patients with burning mouth syndrome, xerostomia and/or gustatory disturbances. *Arch Oral Biol* 49 (7): 515-22, 2004.
- 56) Guggenheimer J, Moore PA. Xerostomia: etiology, recognition and treatment. *J Am Dent Assoc* 134 (1): 61-69, 2003.
- 57) Kaplan MD, Baum BJ. The functions of saliva. *Dysphagia* 8 (3): 225-9, 1993.
- 58) Kamagata-Kiyoura Y, Abe S, Yamaguchi H, Nitta T. Reduced activity of Candida detachment factors in the saliva of the elderly. 10(1): 59-61, 2002.
- 59) Navazesh M, Wood GJ, Brightman VJ. Relationship between salivary flow rates and Candida albicans counts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 80(3):240-8, 1995.
- 60) Ikebe K, Sajima H, Kobayashi S, Hata K, Morii K, Nokubi T, Ettinger RL. Association of salivary flow rate with oral function in a sample of community-dwelling older adults in Japan. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 94(2): 184-90, 2002.
- 61) Nagler RM, Hershkovich O. Sialochemical and gustatory analysis in patients with oral sensory complaints. *J Pain* 5(1): 56-63, 2004.
- 62) Femiano F. Damage to taste system and oral pain: burning mouth syndrome. *Minerva Stomatol* 53(9): 471-8, 2004.
- 63) Carda C, Mosquera-Lloreda N. Salom L, Gómez de Ferraris ME, Peydró A. Structural and functional salivary disorders in Type 2 diabetic patients. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 11 (4): E309-14, 2006.

- 64) Sorlí J, Doménech IE, Valderrama Zuríán FJ, Gutiérrez VM, Mingarro Castillo M, García Ribes M, Ortiz Uriarte R. Síndrome de Sjögren. *Aten Primaria*. 41(7): 417-19, 2009.
- 65) Scully C. Drug effects on salivary glands: dry mouth. *Oral Dis*. 9 (4): 165-76, 2003.
- 66) Atkinson JC, Baum BJ. Salivary enhancement: current status and future therapies. *J Dent Educ* 65 (10): 1096-101, 2001.
- 67) Bressier R, Bahl JJ. Principles of drug therapy for the elderly patient. *Mayo Clin Proc* 78(12): 1564-77, 2003.
- 68) Salort Llorca C, Minguez Serra María Paz, Silvestre FJ. Drug-induced burning mouth síndrome: a new etiological diagnosis. *Med Oral Pathol Oral Cir Bucal*. 13(3): E 167-70, 2008.
- 69) Mattila MJ, Pakkari I. Variations among non-sedating antihistamines: are there real difference. *Eur J Clin Pharmacol* 55(2): 85-93, 1999.
- 70) Dickstein K, Manhenke C, Aarsland T, McNay J, Wiltse C, Wright T. The effects of chronic, sustained-release moxonidine therapy on clinical and neurohumoral status in patients with heart failure. In *J Cardiol* 75(2-3):167-76; 2000.
- 71) Thomson WM, Chalmers JM, Spencer AJ, Slade GD. Medication and dry mouth: findings from a cohort study of older people. *J Public Health Dent*. 60 (1):12-20, 2000.
- 72) Janket SJ, Jones J, Rich S, Miller D, Wehler CJ, Van Dyke TE, García R, Meurman JH. The effects of xerogenic medications on oral mucosa among the veterans dental study participants. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 103(2): 223-30, 2007.
- 73) Bray GA. Drug treatment of obesity. *Rev Endocr Metab Disord* 2 (4): 403-18, 2001.
- 74) Wellington K, Jarvis B. Cetirizine/pseudoephedrine. *Drugs* 61(15): 2231-40; discussion 2241-2, 2001.
- 75) Thomson WM, Spencer AJ, Slade GD, Chalmers JM. Is medication a risk factor for dental caries among older people?. *Community Dent Oral Epidemiol* 30(3): 224-32, 2002.
- 76) Taricco M, Adone R, Pagliacci C, Telaro E. Pharmacological interventions for spasticity following spinal cord injury. *Cochrane Database Syst Rev* CD001131, 2000.
- 77) Winner P, Lewis D, Visser WH, Jiang K, Ahrens S, Evans JK. Rizatriptan 5 mg for the acute treatment of migraine in adolescents: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Headache* 42(1): 49-55, 2002.
- 78) Diz Dios P, Scully C. Adverse effects of antiretroviral therapy: focus on orofacial effects. *Expert Opin Drug Saf* 1(4): 304-17, 2002.
- 79) Chi KH, Myers JN, Chow KC, Chan WK, Tsang YW, Chao Y, Yen SH, Lotze MT. Phase II trial of systemic recombinant interleukin-2 in the treatment of refractory nasopharyngeal carcinoma. *Oncology*. 60(2):110-15, 2001.
- 80) Jensen SB, Pedersen AM, Reibel J, Nauntofte B. Xerostomia and hypofunction of the salivary glands in cancer therapy. *Support Care Cancer*. 11(4): 207-25, 2003.
- 81) Najat MA Farsi. Signs of oral dryness in relation to salivary flow rate, pH, Buffering capacity and dry mouth complaints. *BMC Oral Health* nov 9; 7:15, 2007.
- 82) Naito M, Yuasa H, Nombra Y, Nakayama T, Hamajima N, Hanada N. Oral health status and health related quality of life: a systematic review. *Adv Dent Res* 19: 118-21, 2006.
- 83) De Vita VT, Hellman S, Rosemberg SA, eds. "Cancer principles & Practice of oncology" Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins 6·Ed, 2002.

- 84) Steimberg SM, Barkin JS, Kaplan RS, Stablein DM. Prognostic indicators of colon tumors. The Gastrointestinal Tumor Study Group experience. *Cancer* 57 (9): 1866-70, 1986.
- 85) Fililla X, Molina R, Grau JJ, Piqué JM, García-Vildecasas JC, Astudillo E, Biete A, Bordas JM, Novell A, Campo E, et al. Prognostic value of CA 19.9 levels in colorectal cancer. *Ann Surg.* 216 (1): 55-9, 1992.
- 86) Torzón AG, Knezetic JA, Lynch HT. A century of progress in hereditary nonpolyposis colorectal (Lynch syndrome). *Dis Colon Rectum* 42(1):1-9, 1999.
- 87) Fuchs CS, Giovannucci EL, Colditz GA, Hunter DJ, Speizer FE, Willett WC. A prospective study of family store and the risk of colorectal cancer. *N Engl J Med* 331(25):1669-74, 1994.
- 88) Compton CC, Greene FL. The staging of colorectal cancer: 2004 and beyond. *CA Cancer J Clin* 54(6): 295-308, 2004.
- 89) Sargent DJ, Goldberg RM, Jacobson SD, Macdonald JS, Labianca R, Haller DG, Shepherd LE, Seitz JF, Francini G. A pooled analysis of adjuvant chemotherapy for resected colon cancer in elderly patients. *N Eng J Med* 345(15): 1091-7, 2001.
- 90) Radice D, Radaelli A. Breast cancer managment: quality of life and cost considerations. *Pharmacoeconomics* 21(6): 383-396, 2003.
- 91) Kerlikowske K, Grady D, Rubin SM, Sandrock C, Ernster VL. Efficacy of screening mammography. A meta-analysis. *JAMA* 273(2): 149-154, 1995.
- 92) Morrison AS. Screening for cancer of the breast. *Epidemilol Rev* 15 (1): 244-255, 1993.
- 93) Breast In: American Joint Comité on Cancer: AJCC Cancer Staging Manual. 6th ed. New Cork: Springer, 171-80, 2002.
- 94) Simpson JF, Gray R, Dressler LG, -cobau CD, Falkson CI, Gilchrist KW, Pandya KJ, Page DL, Robert NJ. Prognostic vaalue of histologic grade and proliferative activity in axillary node-positive breast cancer: results from the Eastern Cooperative Oncology Group Companion Study, EST 4189. *J Clin Oncol* 18 (10): 2059-69, 2000.
- 95) Singletary SE, Allred C, Ashley P, Basset LW, Berry D, Bland KI, Borgen PI, Clark G, Edge SB, Hayes DF, Hughes LL, Hutter RV, Morrow M, Page DL, Rect. A, Theriault RL, Thor A, Weaver DL, Wieand HS, Greene FL. Revision of the American Joint Committee on Cancer staging system for breast cancer. *J Clin Oncol* 20 (17): 3628-36, 2002.
- 96) Woodward WA, Strom EA, Tucker SL, Mc Neese MD, Perkins GH, Schechter NR, Singletary SE, Theriault RL, Hortobagyi GN, Hunt KK, Buchhoz TA. Changes in the 2003 American Joint Comité on Cancer staging for breast cancer dramatically afect stage-specific survival. *J Clin Oncol* 21 (17) 3244-8, 2003.
- 97) Martínez MT, García F, Hernández MJ, Manzanera Saura JT, Garrigós JA. Los citostáticos. *Enfermería Global.* 1:1-16, 2002.
- 98) Sargent DJ, Goldberg RM, Jacobson SD, Macdonald JS, Labianca R, Haller DG, Shepherd LE, Seitz JF, Francin G. A pooled analysis of adjuvant chemotherapy for resected colon cancer in elderly patients. *N Engl J Med* 345(15): 1091-7, 2001.
- 99) Branda RF, Chen Z, Brooks EM, Naud SJ, Trainer TD, McCormack JJ. Diet modulates the toxicity of cancer chemotherapy in rats. *J Lab Clin Med.* 14 (5): 358-68, 2002.
- 100) Thirion P, Michiels S, Pignon JP, Buyse M, Braud AC, Carlson RW, O'Connell M, Sargent P, Peidbois P, Meta-Analysis Group Cancer. Modulation of fluorouracil by leucovorin in patients with advanced colorectal cancer: an updated meta-analysis. *J Clin Oncol* 22(18):3766-75, 2004.

- 101) Rojas-Morales T, Lugo Z, Santana Y, Navas R, Zambrano O, Viera N, García I. Capacidad buffer de la saliva en niños y adolescentes con cáncer: variaciones inducidas por la administración de metotrexate o ciclofosfamida. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 10 (2): E 103-8, 2005.
- 102) Bonadonna G, Brusamolino E, Valagussa P, Rossi A, Brugnattelli L, Brambilla C, De Lena M, Tancini G, Bajetta E, Musumeci R, Veronesi U. Combination chemotherapy as an adjuvant treatment in operable breast cancer. *N Engl J Med* 294(8): 405-10, 1976.
- 103) Martin M, Villar A, Sole-Calvo A, Gonzalez R, Massuti B, Lizon J, Camps C, Carrato A, Casado A, Candel MT, Albanell J, Aranda J, Munarriz B, Campbell J, Diaz- Rubio E. Doxorubicin in combination with fluorouracil and cyclophosphamide (i.v. FAC regimen, day 1,21) versus methotrexate in combination with fluorouracil and cyclophosphamide (i.v. CMF regimen, day 1,21) as adjuvant chemotherapy for operable breast cancer: a study by the GEICAM group. *Ann Oncol* 14(6): 833-42, 2003.
- 104) Goble S, Bear HD. Emerging role of taxanes in adjuvant and neoadjuvant therapy for breast cancer: the potential and the questions. *Surg Clin North Am* 83(4): 943-71, 2003.
- 105) Nabholz JM, Gligorov J. The role of taxanes in the treatment of breast cancer. *Expert Opin Pharmacother* 6(7):1073-94, 2005.
- 106) Nabholz JM, Vannetzel JM, Llory JF, Bouffette P. Advances in the use of taxanes in the adjuvant therapy of breast cancer. *Clin Breast Cancer* 4(3):187-92, 2003.
- 107) Mandel ID. The diagnostic uses of saliva. *J Oral Pathol Med* 19 (3): 119-25, 1990.
- 108) Aguirre A, Testa-Weintraub LA, Banderas JA, Haraszthy GG, Reddy MS, Levine MJ. Sialochemistry: a diagnostic tool? *Crit Rev Oral Biol Med* 4 (3-4): 343-50, 1993.
- 109) Wong D. Salivary diagnostics powered by nanotechnologies, proteomics and genomics. *J Dent Assoc* 137: 313-21, 2006.
- 110) Kaufman E, Lamster IB. The diagnostic applications of saliva- A Review. *Crit Rev Oral Biol Med* 13(2):197-212, 2002.
- 111) Malamud D. Salivary diagnostics: the future is now. *J Am Dent Assoc* 137 (3):284-286, 2006.
- 112) Streckfus CF, Bigler LR. Saliva as a diagnostic fluid. *Oral Dis* 8(2):69-76, 2002.
- 113) Mandel ID. The diagnostic uses of saliva. *J Oral Pathol Med*, 19:119:25, 1990.
- 114) Martínez JR. Alterations in salivary gland structure and function in cystic fibrosis. In: Quinton PM, Martínez JR, Hopfer U. Fluid and electrolyte abnormalities in exocrine glands in cystic fibrosis. San Francisco Press, 125-42, 1982.
- 115) Fox PC. Acquired salivary dysfunction. Drugs and radiation. *Ann N Y Acad Sci* 842: 132-7, 1998.
- 116) Bagán JV, Alapont L, Sanz C, del Olmo JA, Morcillo E, Cortijo J, et al. Dental and salivary alterations in patients with liver cirrhosis: a study of 100 cases. *Med Clin (Barc)* 111 (4): 125-8, 1998.
- 117) Ben-Aryeh H, Srouya R, Kanter R, Laufer D. Oral Health and salivary composition in diabetic patients. *J Diabetes Complications* 7 (1): 57-62, 1993.
- 118) Mandel ID. Salivary diagnosis: more than a lick and a promise. *J Am Dent Assoc* 124(1):85-7, 1993.
- 119) Ozmeric N. Advances in periodontal disease markers. *Clin Chim Acta* 343 (1-2): 1-16, 2004.
- 120) Todorovic T, Dozic I, Vicente Barrero M, Ljuskovic B, Pejovic J, Marjanovic M, Knezevic M. Salivary enzymes and periodontal disease. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 11(2): E115-9, 2006.
- 121) Miller CS, King CPJr, Langub MC, Kryscio RJ, Thomas MV. Salivary biomarkers of existing periodontal disease: a cross-sectional study. *J Am Dent Assoc* 137(3):322-9, 2006.

- 122) Hou LT, Liu CM, Lin SJ, Liao CS, Rossomando EF. Interleukin-1 beta, clinical parameters and matched cellular-histopathologic changes of biopsied gingival tissue from periodontitis patients. *J Periodontal Res* 38(3): 247-54, 2003.
- 123) Christodoulides N, Mohanty S, Millar CS, Langub MC, Floriano PN, Dharshan P, Ali MF, Bernard B, Romanovicz D, Anslyn E, Fox PC, Mc Devitt JT. Application of microchip assay system for the measurement of C-reactive protein in human saliva. *Lab Chip* 5(3):261-9, 2005.
- 124) Steckslen-Blicks C. Salivary counts of lactobacilli and streptococcus mutans in caries prediction. *Scand J Dent Res* 93:204-12, 1985.
- 125) Kingman A, Little W, Gomez I et al. Salivary levels of streptococcus mutans and lactobacilli and dental caries experiences in a U.S. adolescent population. *Community Dent Oral Epidemiol* 16:98-103, 1988.
- 126) Epstein JB, Pearsall NW, Truelove EL. Quantitative relationship between *Candida albicans* in saliva and the clinical status of human subjects. *J Clin Microbiol* 12:475-6, 1980.
- 127) Bartels H, Günther E, Wallis S. Monitoring therapy by analysis of the drug concentration of saliva. *Monatsschr Kinderheilkd* 131(1) 13-6, 1983.
- 128) Fox PC. Acquired salivary dysfunction. *Drugs and radiation Ann NY Acad Sci* 842:132-37, 1998.
- 129) Knott C, Reynolds F. The place of saliva in antiepileptic drug monitoring. *Ther Drug Monit* 6(1):35-41, 1984.
- 130) Hofman LF. Human saliva as a diagnostic specimen. *J Nutr* 131(5):1621S-5S, 2001.
- 131) Haeckel R, Hänecke P. Application of saliva for drug monitoring. An in vivo model transmembrane transport. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 34(3): 171-91, 1996.
- 132) Gorodischer R, Koren G. Salivary excretion of drugs in children: theoretical and practical issues in therapeutic drug monitoring. *Dev Pharmacol Ther* 19(4):161-77, 1992.
- 133) Kaufman E, Lamster IB. The diagnostic applications of saliva. A Review. *Crit Rev Oral Biol Med* 13(2): 197-212, 2002.
- 134) Crouch DJ, Walsh JM, Cangianelli L, Quintela O. Laboratory evaluation and field application of roadside oral fluid collectors and drug testing devices. *Ther Drug Monit* 30(2):188-95, 2008.
- 135) Huestis MA, Cone EJ. Relationship of delta 9- tetrahydrocannabinol concentrations in oral fluid and plasma after controlled administration of smoked cannabis. *J Anal Toxicol* 28(6):394-9, 2004.
- 136) Shannon IL, Prigmore JR, Brooks RA, Feller RP. The 17-hydroxycorticosteroids of parotid fluid, serum and urine, following intramuscular injection of repository corticotropin. *J Clin Endocrinol* 19: 1477-80, 1959.
- 137) Ferguson DB. Current diagnosis uses of saliva. *J Dent Res* 66(2):420-4, 1987.
- 138) Jacobs MH, Blasco L, Sondheimer SJ. Ovulation prediction by monitoring salivary and vaginal electrical resistance with the PEAK Ovulation Predictor. *Obstet Gynecol.* 73(5 Pt 1):817-22, 1989.
- 139) Marchetti P, Grossi C, Giannarelli R et al. Salivary immunoreactive insulin: a new entry in clinical chemistry. *Clin Chem* 34: 1478-80, 1988.
- 140) Miles A, Philbrick DRS, Thomas DR, Grev J. Diagnostic and clinical implications of plasma and salivary melatonin assay. *Clin Chem* 33: 1295-7, 1987.
- 141) ben Ayreh H, Naon H, Horovitz G, Szargel R, Gutman D. Salivary and lacrimal secretions in patients on lithium therapy, 18 (3): 299-306, 1984.

- 142) Coates JE, Lam SF, Mac Gaw WT. Radioimmunoassay of salivary cyclosporine with use of ¹²⁵I-labeled cyclosporine. *Clin Chem* 34(8): 1545-51, 1988.
- 143) Jufer Ra, Wstadik A, Walsh SL, Levine BS, Cone EJ. Elimination of cocaine and metabolites in plasma, saliva and urine following repeated oral administration to human volunteers. *J Anal Toxicol* 24(7):467-77, 2000.
- 144) José G, Wahlländer A, von Mandach U, Preisig R. Overnight salivary caffeine clearance: a liver function test suitable for routine use. *Hepatology* 7(2): 338-44, 1987.
- 145) Anil S, Beena VT, Fair RG, Verghese BJ. Detection of HIV antibodies in saliva and its implications. *Indian J Dent Res* 6(3): 95-98, 1995.
- 146) Scully C. HIV topic update: salivary testing for antibodies. *Oral Dis.* 3(4): 212-5, 1997.
- 147) Streckfus C, Bigler L, Dellinger T, Pfeifer M, Rose A, Thigpen JT. CA 15-3 and c-erbB-2 presence in the saliva of women. *Clin Oral Invest* 3: 138-43, 1999.
- 148) Bigler LR, Streckfus CF, Copeland L, Burns R, Dai X, Kuhn M, Martin P, Bigler SA. The potential use of saliva to detect recurrence of disease in women with breast carcinoma. *J Oral Pathol Med* 31(7):421-31, 2002.
- 149) Takahashi T, Fujiwara Y, Sumiyoshi H, Isobe T, Yamaoka N, Yamakido M. Salivary drug monitoring of irinotecan and its active metabolite in cancer patients. *Cancer Chemother Pharmacol* 40(5):449-52, 1997.
- 150) Holding JD, Lindup WE, Roberts NB, Salvatori P, Stell PM. Measurement of platinum in saliva of patients treated with cisplatin. *Ann Clin Biochem* 36(Pt5):655-9, 1999.
- 151) Van Warmerdam LJ, van Tellingen O, ten Bokkel Huinink WW, Rodenhuis S, Maes RA, Bijen JH. Monitoring carboplatin concentrations in saliva: a replacement for plasma ultrafiltrate measurements?. *Ther Drug Monit* 17(5): 465-70, 1995.
- 152) Joulia JM, Pinguet F, Ychou M, Duffoour J, Astre C, Bressolle F. Plasma and salivary pharmacokinetics of 5-fluorouracil (5-FU) in patients with metastatic colorectal cancer receiving 5-FU bolus plus continuous infusion with high dose folinic acid. *Eur J Cancer* 35(2):296-301, 1999.
- 153) Milano G, Chamorey AL. Clinical pharmacokinetics of 5-fluorouracil with consideration of chronopharmacokinetics. *Chronobiol Int.* 19(1):177-89, 2002.
- 154) Bressolle F, Jacques JM, Galtier M, Jourdan J, Donadio D, Rossi JF. Doxorubicin and doxorubicinol plasma concentrations and excretion in parotid saliva. *Cancer Chemother Pharmacol.* 30(3):215-8, 1992.
- 155) Patterson AJ, Ritschel WA, Zellner D, Kim SH. Methotrexate serum and saliva concentrations in patients. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol.* 19(9):381-5, 1981.
- 156) Tabak L. A revolution in biomedical assessment: the development of salivary diagnostics *J Dent Educ* 65 (12): 1335-9, 2001.
- 157) Mandel ID. The diagnostic uses of saliva. *J Oral Pathol Med* 19(3): 119-25, 1990.
- 158) Jensen SB, Pedersen AM, Reibel J, Nauntofte B. Xerostomia and hypofunction of the salivary glands in cancer therapy. *Support Care Cancer* 11(4):207-25 2003.
- 159) Nieuw Amerongen AV, Veerman EC. Current therapies for xerostomia and salivary gland hypofunction associated with cancer therapies. *11(4):226-31, 2003.*
- 160) Martin M, Lluch A, Seguí MA, Ruiz A, Ramos M, Adrover E. et al. Toxicity and health-related quality of life in breast cancer patients receiving adjuvant docetaxel, doxorubicin and cyclophosphamide (TAC)

- or 5-fluorouracil, doxorubicin and cyclophosphamide (FAC): impact of adding primary prophylactic granulocyte-colony stimulating factor to the TAC regimen. *Ann Oncol* 17(8):1205-12, 2006.
- 161) Sonis ST. Oral mucositis in cancer therapy. *J Support Oncol* 2(6 Suppl 3): 3-8, 2004.
- 162) Keefe DM. Mucositis management in patients with cancer. *Supp Care Cancer Ther* 3(3): 154-7, 2006.
- 163) Sonis ST, Fey EG. Oral complications of cancer therapy. *Oncology (Williston Park)* 16 (5):680-6, 2002.
- 164) Jensen SB, Pedersen AM, Reibel J, Nauntofte B. Xerostomia and hypofunction of the salivary glands in cancer therapy. *Support Care Cancer* 11(4): 207-25, 2003.
- 165) Davies AN, Broadley K, Beighton D. Salivary gland hypofunctions in patients with advanced cancer. *Oral Oncol* 38(7):680-5, 2002.
- 166) Epstein JB, Schubert MM. Oral mucositis in myelosuppressive cancer therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 88:273-76, 1999.
- 167) Oliff A, Bleyer WA, Poplack DG. Methotrexate induced oral mucositis and salivary methotrexate concentration. *Cancer Chemother Pharmacol* 2:225.26, 1979.
- 168) Milano G, Thyss A, Santini J, Frenay M, Francois E, Schneider M, Demard F. Salivary pasaje of 5-fluorouracil during continuous infussion. *Cancer Chemother Pharmacol*. 24:197-99, 1989.
- 169) Jankovic J, Jelic S, Filipovic-Ljeskovic L, Ristic Z. Salivary inmunoglobulins in cancer patients with chemotherapy- related oral mucose damage. *Eur J Cancer B Oral Oncol* 31:160-65, 1995.
- 170) Dens F, Boogaerts M, Boute P, Dederek D, Demuyneck H, Vinckier F et al. Quantitative determination of immunological components of salivary gland secretion in transplant recipients. *Bone Marrow Trasplant* 17:421-23, 1996.
- 171) Harrison T, Bigler L, Tucci M, Pratt L, Malamud F, Thigpen J et al. Salivary' s IgA concentrations and stimulated whole saliva flor rates among women undergoing chemotherapy for breast cancer: an exploratory study. *Spec Care Dent* 18:109-112,1998.
- 172) Vissinik A, Burlage FR, Spijkervet FK, Veerman EC, NET Amerongen AV. Prevention and treatment of salivary gland hypofunction related to head and neck radiation therapy and chemotherapy. *Support Cancer Ther* 1(2):111-8, 2004.
- 173) Peterson DE. Research advances in oral mucositis. *Curr Opin Oncol* 11:261-66, 1999.
- 174) Kwong KK. Prevention and treatment of oropharyngeal mucositis following cancer therapy: are there new approaches. *Cancer Nurs* 27(3): 183-205, 2004.
- 175) Revised Guide for the care and use of laboratory animals NIH guide, volume 25, Number 28, August 16, 1996.
- 176) Karagözoglu S, Filiz Ulusoy M. Chemotherapy: the effect of oral cryotherapy on the development of mucositis. *J Clin Nurs* 14(6): 754-65, 2005.
- 177) Hershkovich O, Nagler RM. Biochemical analysis of saliva and taste acuity evaluation in patients with burning mouth sindrome, xerostomia and/or gustatory disturbances. *Arch Oral Biol* 49 (7): 512-22, 2004.
- 178) Jensen JL, Lamkin MS, Oppenheim FG. Adsorption of Human Salivary Proteins to Hydroxyapatite: A comparison between whole saliva and glandular salivary secretions. *J Dent Res* 71 (9): 1569-76, 1992.
- 179) Navazesh M, Christensen C. A comparison of whole mouth resting and stimulated salivary measurements. *J Dent Res* 61 (10): 1158-62, 1982.

- 180) Mancini G, Carbonara AO, Heremans JF, Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. *Immunochemistry*. 2:235-54, 1985.
- 181) Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Meth Enzymol*. 299:152-78, 1999.
- 182) Huggins, C Russell PS. *Ann Surg*. 128:668, 1948) (Young, DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*. AACC Press, 3^o Ed., 1990.
- 183) Fawcett, JK, Scott, JE. *Brit. J. Clin. Path.* 13:156, 1960.
- 184) Vanderlinde, R, Kowalski, P. *Clin. Biochem.* 4:76, 1971.
- 185) Martinek, RC. *J. Am. Med. Technol.* 32:337, 1970.
- 186) Drappo, G, Lorenzo L. *Revista ABA N° 239:230*, 1979.
- 187) Hershkovich O, Nagler RM. Biochemical analysis of saliva and taste acuity evaluation in patients with burning mouth syndrome, xerostomia and/or gustatory disturbances. *Arch Oral Biol*. 49:515-22, 2004.
- 188) Løe H, Silness J. Periodontal Disease in pregnancy. I. Prevalence and severity. *Acta Odontol Scand*. 21:533-51, 1963.
- 189) Mühlemann HR, Son S. Gingival sulcus bleeding-a leading symptom in inicial gingivitis. *Helv Odontol Acta*. 15:107-13, 1971.
- 190) Ramfjord SP. Indices for prevalence and incidence of periodontal disease. *J Periodontol*. 30:51-9, 1959.
- 191) Silness J, Løe H. Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand*. 22:121-35, 1964.
- 192) Johann C, Lentini EA. Simultaneous determination of glycogen and lipids from Herat muscle. *Anal Biochem* 46: 186-187, 1971.
- 193) Davies AN, Broadley K, Beighton D. Xerostomia in patients with advanced cancer. *J Oral Symptom Manage* 22: 820-25, 2001.
- 194) Epstein JB, Tsang AHF, Warkentin D, Ship JA. The role of salivary function in modulating chemotherapy- induced oropharyngeal mucositis: a review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 94: 39-44, 2002.
- 195) Epstein JB, Schubert MM. Oral mucositis in myelosuppressive cancer therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 88(3):273-6, 1999.
- 196) Oliff A, Bleyer WA, Poplack DG. Methotrexate-induced oral mucositis and salivary methotrexate concentrations. *Cancer Chemother Pharmacol* 2: 225-6, 1979.
- 197) Baum BJ, Bodner L, Fox PC, Isutzu KT, Pizzo PA, Wright WE. Therapy-induced dysfunction of salivary glands: implications for oral health. *Spec Care Dentist* 5: 274-7, 1985.
- 198) Curtis EB, Krech R, Walsh TD. Common symptoms in patients with advanced cancer. *J Palliat Care* 7(2): 25-29, 1991.
- 199) Davies AN, Broadley K, Beighton D. Salivary gland hypofunction in patients with advanced cancer. *Oral Oncol* 38(7):680-5, 2002.
- 200) Billings RJ, Proskin HM, Moss ME. Xerostomia and associated factors in a community-dwelling adult population. *Community Dent Oral Epidemiol* 24:312-16, 1996.

- 201) Senn HJ. Orphan topics in supportive care: how about xerostomia? *Support Care Cancer* 5(4): 261-62, 1997.
- 202) Screebny LM, Valdini A. Xerostomia Part1: Relationship to other oral symptoms and salivary gland hypofunction. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 66: 451-58, 1988.
- 203) Atkinson JC, Wu AJ. Salivary gland dysfunction: causes, symptoms, treatment. *J Am Dent Assoc* 125(4):409-16, 1994.
- 204) Gupta A, Epstein JB, Sroussi H. Hyposalivation in elderly patients. *J Can Dent Assoc* 72 (9): 841-6, 2006.
- 205) Mc Carthy GM, Awde JD, Ghandi H, Vincent M, KochaWI. Risk factors associated in cancer patients receiving 5-fluorouracil. *Oral Oncol.* 34 (6): 484-90, 1998.
- 206) Sonis ST. Oral mucositis in cancer Therapy. *J Support Oncol* 2 (6 Suppl 3):3-8, 2004.
- 207) McGuire DB. Mucosal tissue injury in cancer therapy. More than mucositis and mouthwash. *Cancer Pract.* 10(4): 179-91, 2002.
- 208) Dawes C. Physiological factors affecting salivary flow rate, oral sugar clearance and the sensation of dry mouth in man. *J Dent Res* 66: 648-53, 1987.
- 209) Harrison T, Bigler L, Tucci M, Pratt L, Malamud F, Thigpen JT, Streckfus C, Younger H. Salivary sIgA concentrations and stimulated whole saliva flow rates among women undergoing chemotherapy for breast cancer: an exploratory study. *Spec Care Dentist.* 18(3):109-12, 1998.
- 210) Nederfors T. Xerostomia and hypofunction. *Adv Dent Res* 14: 48-56, 2000.
- 211) Jensen SB, Mouridsen HT, Reibel J, Brünner N, Nauntofte B. Adjuvant chemotherapy in breast cancer patients induces temporary salivary gland hypofunction. *Oral Oncology* 44: 162-73, 2008.
- 212) Laine P, Meurman JH, Tenuovo J, Murtonaa H, Lindqvist C, Pyrhönen S Teerenhovi L. Salivary flow and composition in lymphoma patients before, during and after treatment with cytostatic drugs. *Eur J Cancer B Oral Oncol* 28 B (2):125-8, 1992.
- 213) Jensen SB, Pedersen AM, Reibel J, Nauntofte B. Xerostomia and hypofunction of the salivary glands in cancer therapy. *Support Care Cancer.* 11(4):207-25, 2003.
- 214) Jensen SB, Mouridsen HT, Reibel J, Brünner N, Nauntofte B. Adjuvant chemotherapy in breast cancer patients induces temporary salivary gland hypofunction. *Oral Oncol* 44(2): 162-73, 2008.
- 215) Emekli-Alturfan E, Demir G, Kasikci E, Tunali-Akbay T, Pisirciler R, Caliskan E, Yarat A. Altered biochemical parameters in the saliva of patients with breast cancer. *Tohoku J Exp Med.* 214(2): 89-96, 2008.
- 216) Pajari U, Poikonen K, Larmas M, Lanning M. Salivary immunoglobulins, lysozyme, pH and microbial counts in children receiving anti-neoplastic therapy. *Scand J Dent Res* 97 (2): 171-7, 1989.
- 217) Galbraith LK, Bailey D, Kelly L, Rehn K, Spear S, Steinle C, Vaughn G, Wehage S. Treatment for alteration in oral mucosa related to chemotherapy. *Pediatr Nurs* 17(3):233-6, 1991.
- 218) Almstahl A, Wikström M. Oral microflora in subjects with reduced salivary secretion. *J Dent Res* 78 (8): 1410-16, 1999.
- 219) Sonis ST, Fey EG. Oral complications of cancer therapy. *Oncology (Williston Park)* 16(5): 680-6, 2002.
- 220) Nieuw Amerongen AV, Veerman ECI. Current therapies for xerostomia and salivary gland hypofunction associated with cancer therapies. *Support Care Cancer* 11: 226-31, 2003.

- 221) Jensen SB, Mouridsen HT, Bergmann OJ, Reibel J, Brüner N, Nauntofte B. Oral mucosal lesions, microbial changes and taste disturbances induced by adjuvant chemotherapy in breast cancer patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 106(2):217-26, 2008.
- 222) Raber-Durlacher JE, Barasch A, Peterson DE, Lalla RV, Schubert MM, Fibbe WE. Oral complications and Management considerations in patients treated with high-dose chemotherapy. *Support Cancer Ther.* 1(4):219-29, 2004.
- 223) Viera NT, Rojas de Morales T, Navas RM, Zambrano OR, Paz de Gudiño M. Gingivitis and anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in children and adolescents suffering from leucemia. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 9 (5): 399-492; 396-8, 2004.
- 224) Raber Durlacher JE, Epstein JB, Raber J, van Dissel JT, van Winkerhoff AJ, Guiot HF, van der Velden U. *Support Care Cancer*, 10 (6): 466-73, 2002.
- 225) Guyton AC. *Tratado de Fisiología Médica*. Ed. Interamericana 10 Edición p.744, 2001.
- 226) Dewys WD, Walters K. Abnormalities of taste sensation in cancer patients. *Cancer* 36(5): 1888-96, 1975.
- 227) Carlson JA, Gormican A. Taste acuity and food attitudes of selected patients with cancer. *J Am Diet Assoc* 70(4): 361-5, 1977.
- 228) Griffin AM, Butow PN, Coates AS, Childs AM, Ellis PM, Duna SM, Tattersall MH. On the receiving end. V: Patient perceptions of the side effects of cancer chemotherapy in 1993. *Ann Oncol* 7(2): 189-95, 1996.
- 229) Knobf MT. Symptoms and rehabilitation needs of patients with early stage breast cancer during primary therapy. *Cancer* 66(6 Suppl): 1392-401, 1990.
- 230) Jensen SB, Mouridsen HT, Bergmann OJ, Reibel J, Brüner N, Nauntofte B. Oral mucosal lesions, microbial changes and taste disturbances induced by adjuvant chemotherapy in breast cancer. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 106 (2): 217-26, 2008.
- 231) Pavlatos J, Gillian KK. Oral care protocols for patients undergoing cancer therapy. *Gen Dent* 56 (5): 464-78; quiz 479-80, 495-6, 2008.
- 232) Dawes, C. Salivary flow patterns and the health of hard and soft oral tissues. *J. Am. Dent. Assoc.* 139:18-24, 2008.
- 233) Ardalan B, Luis R, Jaime M, Franceschi D. Biomodulation of Fluorouracil in colorectal cancer. *Cancer Invest.* 16(4):237-51, 1998.
- 234) Helmerhorst EJ, Oppenheim FG. Saliva: a dynamic proteome. *J Dent Res.* 86(8):680-693, 2007.
- 235) Dawes, C. Salivary flow patterns and the health of hard and soft oral tissues. *J. Am. Dent. Assoc.* 139:18-24, 2008.
- 236) Wahlim YB. Salivary secretion rate, yeast cells, and oral candidiasis in patients with acute leucemia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 71(6):689-95, 1991.
- 237) Harrison T, Bigler L, Tucci M, Pratt L, Malamud F, Thigpen JT, Streckus C, Younger H. Salivary sIgA and stimulated whole saliva flow rates among women undergoing chemotherapy for breast cancer: an exploratory study. *Spec Care Dentist.* 18(3):109-12, 1998.
- 238) van del Wilt CL, Backus HH, Smid K, Comijin L, Veerman G, Wouters D, Voorn DA, Priest DG, Bunni MA, Mitchell F, Jackman AI, Jansen G, Peters GJ. Modulation of both endogenous folates and thymidine enhance the therapeutic efficacy of thymidylate synthase inhibitors. *Cancer Res*, 61(9): 3675-81, 2001.

- 239) Milano G, Ferrero JM, Francois E. Comparative pharmacology of oral fluoropyrimidines: a focus on pharmacokinetics, pharmacodynamics and pharmacomodulation. *Be. J Cancer* 91(4):613-17, 2004.
- 240) Murakami Y, Fujii H, Ichumura A, Murata A, Yamashita N, Takagi H, Tauchi K. Effects of levofolinate calcium on subacute intravenous toxicity of 5-fluorouracil in rats. *J Toxicol Sci.* 23(Suppl.1): 11-29, 1998.
- 241) Archer S, Gray B. Intraperitoneal 5-fluorouracil infusion for treatment of both peritoneal and liver micrometastases. *Surgery.* 108(3): 502-7, 1990.
- 242) Nordlinger B, Panis Y, Puts JP, Herve JP, Delelo R, Ballet F. Experimental model of colon cancer: recurrences after surgery alone or associated with intraperitoneal 5-fluorouracil chemotherapy. *Dis Colon Rectum.* 34(8): 658-63, 1991.
- 243) Kanellos I, Kavouni A, Zaraboukas T, Odisseos C, Galovatsea K, Dadoukis I. Influence of intraperitoneal 5-fluorouracil plus folinic acid on the healing of colonic anastomoses in rats. *Eur Surg Res.* 28(5): 374-9, 1996.
- 244) Mossa MA, Osman AM, el-Sayed M, el-Aaser AA, Ismael N, el-Merzabani MM. Distribution and toxicity of 5-fluorouracil after intraperitoneal and anal submucosal administration. *J Pharm Belg.* 47(2): 129-34, 1992.
- 245) Hacıyanlı M, Fuzum M, Unek T, Rokgoz Z. Does the administration route of leucovorin have any influence on the impairment of colonic healing caused by intraperitoneal 5-fluorouracil treatment?. *Eur Surg Res.* 33(2): 80-5, 2001.
- 246) Hirata K, Horie T. Changes in intestinal absorption of 5-fluorouracil-treated rats. *Pharmacol Toxicol* 85(1): 33-6, 1999.
- 247) Rustum YM, Cao S, Zhang Z. Rationale for treatment design: biochemical modulation of 5-fluorouracil by leucovorin. *Cancer J Sci Am.* 4 (1):12-8, 1998.
- 248) Sonis ST, Tracey C, Shklar G, Jonson J, Florine D. An animal model for mucositis induced by cancer chemotherapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 69(4): 437-43, 1990.
- 249) Ewens AD, Mihich E, Ehrke MJ. Fluorouracil plus Leucovorin induces submandibular salivary glands enlargement in rats. *Toxicologic Pathology* 33(4) 507-15, 2005.
- 250) el-Malt M, Ceelen W, Van den Broecke C, Cuvelier C, Van Belle S, de Hemptinne B, Pattym P. Influence of neo-adjuvant chemotherapy with 5-fluorouracil on colonic anastomotic healing: experimental study in rats. *Acta Chir Belg* 103(3): 309-14, 2003.
- 251) Martinez JR. Developmental aspects of fluid and electrolyte secretion in salivary glands. *Crit Rev Oral Biol Med.* 5 (3-4):281-90, 1994.
- 252) Mc Bride RK, Harper C, Siegel IA. Methotrexate-induced changes in rat parotid and submandibular gland function. *J Dent Res.* 66(9): 1445-48, 1987.
- 253) Nicolau J, Sasaki KT. Metabolism of carbohydrate in the major salivary glands of rats. *Arch Oral Biol.* 21(11): 659-61, 1976.
- 254) Nicolau J, Souza DN, Martins HR. Pilocarpine-induced increases in the activity of 6-phosphofructo-2-kinase and the fructosa-2,6-bisphosphate content of rat salivary glands. *Archs Oral Biol.* 37 (6): 483-487, 1992.
- 255) Nicolau J, Sasaki KT. Metabolism of carbohydrate in Vitro of the submandibular salivary glands (SMG) from mice injected with isoproterenol. *Gen Pharmac.* 14 (6): 705-08, 1983.
- 256) Lanfri-Aguilar N, Gallar R, Linares JA, Campos L, Finkelberg A. Restricted diet modifies carbohydrate metabolism in immature rats. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 75 (6): 351-55, 2006.

- 257) Ewens AD, Mihich E, Ehrke MJ. Fluorouracil plus leucovorin induces submandibular salivary gland enlargement in rats. *Toxicologic Pathology*. 33 (4): 507-515, 2005.
- 258) Scully C. Drug effects on salivary glands: dry mouth. *Oral Dis*. 9 (4): 165-76, 2003) (Jensen SB, Pedersen AM, Reibel J, Nauntofte B. Xerostomia and hypofunction of the salivary glands in cancer therapy. *Support Care Cancer*. 11(4):207-25, 2003.
- 259) Epstein JB, Tsang AH, Warkentin D, Ship JA. The role of salivary function in modulating chemotherapy-induced oropharyngeal mucositis: a review of the literatura. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 94 (1): 39-44, 2002.
- 260) Rustum YM, Cao S, Zhang Z. Rationale for treatment design: biochemical modulation of 5-fluorouracil by leucovorin. *Cancer J Sci Am*. 4 (1):12-8, 1998.
- 261) Branda RF, Chen Z, Brooks EM, Naud SJ, Trainer TD, Mc Cormack JJ. Diet modulates the toxicity of cancer chemotherapy in rats. *J Lab Clin Med*. 140(5):385-68, 2002.
- 262) Rustum YM, Cao S, Zhang Z. Rationale for treatment design: biochemical modulation of 5-fluorouracil by leucovorin. *Cancer J Sci Am*. 4 (1):12-8, 1998.
- 263) de Haan G, Donte B, Ángel C, Loeffler M, Nijhof W. Prophylactic pretreatment of mice with hematopoietic growth factors induces expansión of primitive cell compartments and results in protection against 5-fluorouracil-induced toxicity. *Blood* 87(11):4581-8, 1996.
- 264) Branda RF, Nigels E, Lafayette AR, Hacker M. Nutricional folate status influences the efficacy and toxicity of chemotherapy in rats. *Blood*. 92(7):2471-6, 1998.
- 265) Ewens AD, Mihich E, Ehrke MJ. Fluorouracil plus Leucovorin induces submandibular salivary glands enlargement in rats. *Toxicologic Pathology* 33(4) 507-15, 2005.
- 266) Hagiwara A, Sakakura C, Tsujimoto H, Ohgaki M, Imanishi T, Yamazaki J, Hawaii K, Takahashi T, Yamamoto A, Muramishi S, Tata Y, Ikada Y. New formulation of 5-fluorouracil in microspheres reduces toxicity in mice. *Anticancer drugs* 7(7):780-4, 1996.

ANEXOS

HISTORIA CLINICA N:.....
DATOS DE USO RESERVADO

APELLIDO Y NOMBRES.....

CODIFICACION ALFANUMERICA.....

LUGAR Y FECHA DE NACIMIENTO.....

EDAD..... DOCUMENTO DE IDENTIDAD N:.....

DOMICILIO

TELEFONO.....

OCUPACION.....

FECHA DE REALIZACION DE HISTORIA CLINICA.....

SINTESIS DE HISTORIA CLINICA ONCOLOGICA.....

TRATAMIENTO ONCOLOGICO EFECTUADO.....

TRATAMIENTO ONCOLOGICO ACTUAL (incluir características del mismo, tipo/s de
drogas citostáticas utilizadas, dosis, duración del tratamiento).....

Médico especialista tratante.....

Teléfono:.....

ANTECEDENTES FISIOPATOLOGICOS HEREDO FAMILIARES DE INTERES
ONCOLOGICO.....

ANTECEDENTES FISIOPATOLOGICOS PERSONALES.....

ODONTOGRAMA

18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28			
48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38			
							55	54	53	52	51	61	62	63	64	65		
Derecha														Izquierda				
							85	84	83	82	81	71	72	73	74	75		

REFERENCIAS

COLOR ROJO: Prestaciones existentes

COLOR AZUL: Prestaciones requeridas por Diente ausente o a extraer

PROTESIS FIJA

PROTESIS REMOVIBLE

CORONAS

CANTIDAD DE DIENTES EXISTENTE

TOTAL ELEMENTOS DENTARIOS SANOS:.....
 TOTAL ELEMENTOS DENTARIOS OBTURADOS:.....
 TOTAL ELEMENTOS DENTARIOS TRATADOS CON PROTESIS FIJA:.....
 TOTAL ELEMENTOS DENTARIOS EXTRAIDOS:.....

DATOS DE INTERES ODONTOLOGICO

FUMA? SI NO CUANTOS?.....
 BEBE? SI NO TIPO Y CANTIDAD DE BEBIDA ING.....

PORTADOR DE PROTESIS REMOVIBLE SI NO

APARTADO : ENFERMEDAD PERIODONTAL

DIAGNOSTICO: GINGIVITIS
 PERIODONTITIS : LEVE . MODERADA. GRAVE

HIGIENE BUCAL DEL PACIENTE:

(Consignar lo que corresponda)

- muy buena
- buena
- regular
- mala

FRECUENCIA DE CEPILLADO

(cantidad de veces al día)

- 1
- 2
- 3
- más de 3
- no se cepilla.....

LESIONES ESTOMATOLOGICAS

(Incluir las posibles lesiones estomatológicas halladas antes, durante y al finalizar el tratamiento)

SITIO	FECHA	DIAGNOSTICO PRESUNTIVO
-------	-------	------------------------

.....		
.....		
.....		
.....		
.....		
.....		

observaciones.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

LABORATORIO:

(Se considera etapa 1: previo al tratamiento con citostáticos, etapa 2: durante la fase de tratamiento con quimioterapia, etapa 3: al finalizar el tratamiento)

P..... etapa 1 etapa 2 etapa 3

CITOLOGICO COMPLETO

F.L.A.

F.L.R.

NEUTROFILOS

BASOFILOS

EOSINOFILOS

LINFOCITOS

MONOCITOS

RECUENTO PLAQUETAS

ERITROSEDIMENTACION

OBSERVACIONES:.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

CUESTIONARIO SOBRE PERFIL DEL PACIENTE COMO INTEGRANTE DE LA POBLACION SELECCIONADA

ENFERMEDADES METABOLICAS SI - NO - CUAL.....

CONSUMO DE FARMACOS QUE PRODUCEN XEROSTOMIA (EJ. Hipotensores, inhibidores colinergicos, antidepresores etc.) SI - NO - CUAL.....

PACIENTE CON TRATAMIENTO RADIANTE SI - NO - CUANDO.....

RECOLECCIÓN DE SALIVA BASAL Y ESTIMULADA

PREVIO AL TRATAMIENTO ONCOLÓGICO

FECHA	HORA	CANTIDAD (ml)	RESULTADO
-------	------	---------------	-----------

B -----

E-----

DURANTE EL TRATAMIENTO ONCOLÓGICO

FECHA	HORA	CANTIDAD (ml)	RESULTADO
-------	------	---------------	-----------

B -----

E-----

POST- TRATAMIENTO ONCOLÓGICO

FECHA	HORA	CANTIDAD (ml)	RESULTADO
-------	------	---------------	-----------

B -----

E-----

CONSIDERACIONES FINALES.....

.....

.....

.....

	FASE INICIAL		FASE MEDIA		FASE FINAL	
INDICE DE LOE Y SILNESS	0.....		0.....		0.....	
	1.....		1.....		1.....	
	2.....		2.....		2.....	
	3.....		3.....		3.....	
INDICE DE HEMORRAGIA	0.....		0.....		0.....	
	1.....		1.....		1.....	
INDICE DE RAMFJORD	0.....		0.....		0.....	
	1.....		1.....		1.....	
	2.....		2.....		2.....	
	3.....		3.....		3.....	
INDICE DE PROFUNDIDAD DE SONDAJE	El(v-mm)	El(v-mm)	El(v-mm)	El(v-mm)	El(v-mm)	El(v-mm)
	13	16	13	16	13	16
	23	26	23	26	23	26
	33	36	33	36	33	36
	43	46	43	46	43	46
INDICE DE PLACA	Supragingival		Supragingival		Supragingival	
	Infragingival		Infragingival		Infragingival	

Nombre y Apellido.....

Inicial

18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28	
X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38	
X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	

Intermedio

18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28	
X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38	
X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	

Final

18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28	
X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38	
X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	

FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

TITULO DEL ESTUDIO: " ESTUDIO PROSPECTIVO DESCRIPTIVO OBSERVACIONAL, SOBRE LOS EFECTOS ADVERSOS DE LAS DROGAS QUIMIOTERICAS EN LA CAVIDAD ORAL"

NOMBRE DEL PACIENTE:

INVESTIGADOR: DR GUSTAVO JARCHUM

INSTITUCION: SANATORIO ALLENDE
HIPOLITO IRIGOYEN 384 . (5000) CORDOBA

INVITACION PARA PARTICIPAR

Ud. ha sido invitada a participar en un estudio de investigación sobre efectos de la quimioterapia en la boca. En los ensayos clínicos solo se permite el ingreso de pacientes que desean tomar parte en el estudio. Antes que usted acepte participar en este estudio de investigación, es importante que lea y entienda la siguiente explicación acerca del propósito del estudio y de los procedimientos que se llevara a cabo. Si tiene dudas acerca del estudio o de sus derechos como participante, asegúrese de aclararlas antes de tomar parte en esta investigación clínica.

Este documento describe el propósito, la cantidad de pacientes que participaran, los procedimientos a realiza, los beneficios, los posibles riesgos, los inconvenientes y las precauciones que están asociadas con este estudio.

INTRODUCCION

La saliva es de vital de importancia en la protección de los tejidos orales duros y blandos y la prevención de enfermedades de la cavidad bucal. Los individuos que tienen alterada la secreción salival padecen de xerostomia, que afecta la salud del sistema estomatognatico.

Diversas investigaciones aducen causas multifactoriales que participan del desarrollo y la severidad de la acción de los citostaticos en la cavidad oral.

OBJETIVOS

Evaluar diferentes parámetros de salud oral en pacientes tratados con citostaticos.

Correlacionar el tipo de citostaticos aplicados con la incidencia y severidad de las alteraciones a nivel de la cavidad bucal.

Analizar las alteraciones fisicoquímicas de la saliva en pacientes bajo tratamiento con citostaticos y su relación con las manifestaciones orales.

- Relacionar la concentración de droga en saliva con las alteraciones de la salud oral.
- Correlacionar el estado inmunitario sistémico del paciente con alteraciones clínicas a nivel de cavidad bucal.
- Evaluar los cambios citológicos de las células obtenidas por citología exfoliativa de mucosa bucal antes, durante y después del tratamiento con citostáticos.
- Evaluar la actividad celular por medio de organizadores nucleolares.

3- MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizará en una población de 60 pacientes que ingresen al Servicio de Oncología del Sanatorio Allende durante el periodo 2005, con diagnóstico de cáncer y tratamiento con citostáticos por vía endovenosa. El criterio de exclusión para el estudio comprende: pacientes que no acepten el consentimiento informado, pacientes menores de 18 años y mayores de 70 años, quimioterapia o radioterapia que afecten la región craneofacial previa, tumores en región de cabeza y cuello, desórdenes psiquiátricos, alteraciones metabólicas generales como diabetes, hipotiroidismo, etc. Síndromes generales y aquellos que presenten manifestaciones asociadas a la cavidad bucal.

Luego de obtenido el consentimiento informado (se adjunta modelo), se procederá a la Evaluación clínica de la cavidad oral en base a ficha clínica adjunta, antes, durante y 15 días después de finalizado el esquema de tratamiento con citostáticos.

1-Evaluación clínica de la cavidad oral.

Constará de una inspección de tejidos duros y blandos de la cavidad oral, analizando los siguientes ítems: elementos con caries, movilidad, presencia de prótesis fijas, removibles e implantes, inflamación gingival, índice de sangrado, mucosa yugal, lengua (borde anterolateral), paladar duro y toma de saliva en las diferentes etapas. Se remarcará la importancia de la higiene oral como medida tendiente a reducir la frecuencia y severidad de las complicaciones más frecuentes.

2-Recolección de muestras de saliva basal y estimulada

2-a-Recolección de saliva basal espontánea:

La misma se efectuará teniendo en cuenta a modo de constante los siguientes parámetros:

- a) Horario estipulado: Paciente en ayunas o a la primera o segunda hora posterior al desayuno (considerando el ritmo circadiano de la secreción salival)

b) Paciente en reposo , sentado sin hablar.

Procedimiento: El paciente se enjuaga la boca con agua, seguidamente en función de los parámetros antes mencionados, se le solicita que mantenga su boca cerrada y sin tragar contando a partir de ese instante cinco minutos. Durante este período la saliva formada y acumulada en su cavidad bucal se recolecta en un tubo de centrifuga descartable, que inmediatamente se conservará a $-18C^{\circ}$ para su posterior análisis. Las tomas se realizarán en grupos a tratar con citostáticos en las distintas etapas del tratamiento oncológico (durante y al finalizar), considerándolas al inicio como grupo control. (19)

2-b-Recolección de saliva estimulada:

Una vez recolectada la muestra de saliva basal,el paciente reposará durante diez minutos con el objeto de efectuar la recolección de saliva estimulada.

A tal fin se suministrará al paciente un cuadrado de parafilm de 4cm por 4cm, que deba introducir en su boca y masticar sin tragar por espacio de cinco minutos. La saliva así formada se recolectará en un segundo tubo de centrifuga descartable y procesado del mismo modo que en el caso anterior.

Análisis de las muestras :

- a- Volumen total : expresado em ml/min.
- b- Compuestos orgánicos: Proteínas totales, Amilasa salival, sIgA, urea
- c- Compuestos inorgánicos: fósforo, calcio, Na, K y Cl.

3-Citología exfoliativa:

Se tomarán frotis de borde anterolateral de lengua, paladar duro y mucosa yugal a los pacientes antes, durante y después del tratamiento con citostáticos. Las muestras serán obtenidas con espátulas de madera descartables y fijadas con fijador citológico spray en base a alcohol. Dichas muestras recibirán tinción de hematoxilina- eosina, Papanicolau y AgNORs.(20)

4-Toma de imágenes:

Se levantarán imágenes digitalizadas con procesador IMAGE-PROPLUS para su análisis.

- En el siguiente ensayo clínico no se utilizarán drogas ni ninguna otra sustancia para realizar el procedimiento.

- La recolección de la muestra no presenta riesgo para su salud.

- No existe ninguna contraindicación absoluta ni relativa para participar de este ensayo clínico.

- AUTORIZACION PARA REVISAR LOS REGISTROS, CONFIDENCIALIDAD Y ACCESO A LA INFORMACION

Su médico en el estudio, y el personal que colabora con él, reunirá información acerca de Usted; su nombre no figurará en ningún momento ya que será reemplazado por un código.

Los registros médicos de su participación en este estudio serán confidenciales

Consentimiento de la paciente

Me han sido proporcionados detalles sobre el ensayo clínico, como se desarrollara el mismo, y los riesgos que se pudieran ocasionar.

Entiendo que mi participación en este estudio es voluntaria. Comprendo que puedo retirar mi consentimiento en cualquier momento, sin que ello ponga en riesgo mi atención médica futura.

Al firmar este formulario voluntariamente no estoy renunciando a ninguno de mis derechos legales.

He leído y comprendido la información contenida en este formulario de consentimiento. Me han dado la oportunidad de hacer las preguntas que considere necesarias, las que fueron contestadas a mi entera satisfacción en un lenguaje comprensible.

Recibiré una copia firmada y fechada de este formulario de consentimiento informado.

Nombre de la paciente

Firma de la paciente

Fecha

Nombre del Investigador o
subinvestigador

Firma

Fecha



Córdoba, 17 de marzo 2005

Dr. Gustavo Jarchum
Investigador Principal
Sanatorio Allende

Del Comité Institucional de Ética de Investigación en Salud del Sanatorio Allende:

De nuestra mayor consideración:

Por medio de la presente, nos dirigimos a Ud. con el fin de poner en su conocimiento que el Comité Institucional de Investigación y Ética en Salud del Sanatorio Allende se ha reunido para evaluar el estudio Observacional. **" Estudio Prospectivo Observacional Evaluación de Efectos Adversos de Drogas Quimioterápicas en la Cavidad Oral "**.

Realizado por Servicio de Hematología y Oncología Sanatorio Allende, Cátedra de Fisiología, Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Córdoba.

Habiendo evaluado y analizado Protocolo de fecha **02/03/05**

Consentimiento informado:----

Este Comité resuelve **autorizar** la realización del estudio en ésta institución al no encontrar conflictos éticos que impidan su realización. Esta decisión está basada en la Declaración de Helsinki y en las Buenas Prácticas en Investigación Clínica. El estudio clínico es aprobado para realizarse en el término de **1 año**. En el caso de extenderse este periodo se necesitará una nueva aprobación de éste Comité.

Para evaluar el estudio se tuvo en cuenta información sobre:

*Relevancia y extensión de la información brindada: **Adecuada. Sin embargo el Comité recomienda que se incluya una adhesión a "Principios Éticos" para las investigaciones Médicas en seres humanos. Declaración de Helsinki, versión 2000.**

*Forma de recolección de datos en relación a objetivos, análisis estadístico y eficiencia científica: **Muy Adecuada.**

*Potencial de extraer información con la menor exposición de los sujetos. **El Estudio Observacional, donde se garantiza el anonimato de los pacientes.**

*Justificación de los riesgos e inconvenientes predecibles con los beneficios para el sujeto. **Al ser Observacional no hay riesgos ni inconvenientes.**

*Justificación de los riesgos e inconvenientes predecibles con los beneficios para la sociedad.

*Adecuación del investigador al proyecto propuesto según experiencia en el tema. **El Dr. Gustavo Jarchum forma parte del Servicio de Oncohematología del Sanatorio Allende desde hace largo**

Hipólito Yrigoyen 384 - (5000) - Córdoba - Rep. Argentina
Tel.: (0351) 426-9200 - Fax: (0351) 426-9209
e-mail: direccion@sanatorioallende.com



tiempo. Ha participado en varios estudios clínicos que se han llevado a cabo en la Institución. Cuenta con la formación y experiencia adecuada para llevar a cabo dicho proyecto.

***Adecuación del lugar de realización considerando los recursos que dispone. El Sanatorio Allende, cuenta con el lugar adecuado para la realización del estudio.**

***Adecuación de la supervisión médica y seguimiento de los sujetos.**

***Adecuación de las previsiones para monitorear el curso de investigación.**

***Adecuación de la información a ser brindada al paciente, representantes, testigos, etc. Se le solicita que lea el siguiente material para asegurar que está suficientemente informado acerca de la naturaleza de este estudio y de la forma en la que Ud. participará en el mismo. Cualquier información adicional que requiera se la puede solicitar al investigador, Dr. Gustavo Jarchum al teléfono : 4269277-4269275. Su participación es voluntaria, y puede retirarse del estudio sin ningún perjuicio. Si usted diera su consentimiento para hacerlo, su firma del formulario de consentimiento indicará que ha sido informado y que usted acepta participar en el estudio de investigación.**

***Medios para dar la información y el consentimiento.**

Seguridades de que los participantes tendrán durante la investigación toda la información relevante disponible. **Adecuada*

***Previsiones para responder a las preguntas y requerimientos de los participantes durante el estudio.**

Puede requerirse mayor información al Investigador ó a este Comité Institucional de Ética de Investigación en Salud, y solicitar información al T.E. 4269212.

Previsiones de compensación de daños. **No hay por ser Observacional*

Seguro de responsabilidad del investigador. **No hay por ser Observacional*

Requisitos de confidencialidad. **El investigador principal garantiza el anonimato de los datos del paciente.*

Sin otro particular, lo saluda atentamente.

COMITE INSTITUCIONAL DE ÉTICA
DE INVESTIGACIÓN EN SALUD
DEL SANATORIO ALLENDE
DR. EDUARDO ALBIRO
PRESIDENTE

Hipólito Yrigoyen 384 - (5000) - Córdoba - Rep. Argentina
Tel.: (0351) 426-9200 - Fax: (0351) 426-9209
e-mail: direccion@sanatorioallende.com



SERVICIO DE HEMATOLOGIA Y ONCOLOGIA
PROGRAMA DE TRANSPLANTE DE MEDULA OSEA
Dr. Gustavo Jarchum
Dr. Marcelo Lavarda
Dra. Maria Rizzi

Av. Hipolito Yrigoyen 384 Cordoba 5000 Argentina
TE 054 351 4269200- 275- FAX 0 54 351 4269277

Cordoba , Argentina , 16 marzo de 2005

Por la presente autorizo al Dr. MARCELO ADRIAN MAZZEO, a realizar estudios de control odontologico a los pacientes que acuden a nuestro Servicio , desde el dia de la fecha y por el termino de dieciocho meses .

Gustavo Jarchum
Jefe Servicio Hematologia y Oncologia
Programa de Transplante de Medula Osea

**SA SANATORIO
+ ALLENDE**
Hípólito Yrigoyen 384
Tel.: (0351) 426-9294 / 9275 - Fax: 426-9277 - Cba.

Servicio Oncología y Hematología Clínica

CERTIFICO

Que el Sr **MARCELO ADRIAN MAZZEO** presentó su trabajo : **ALTERACIONES FISIOPATOLOGICAS ENSALIVA HUMANA Y SU REPERCUSION EN LA CAVIDAD BUCAL EN PACIENTES CON DROGAS ONCOLOGICAS** , en la Sesion del Comité de Tumores del dia 5 de julio de 2006 .

Cordoba , 12 de Julio de 2006



DR GUSTAVO JARCHUM

JEFE DE SERVICIO
COORDINADOR COMITÉ DE TUMORES



SECRETARIA DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA

Córdoba, 10 de Agosto de 2007.-

Al Sr. Decano de la
Fac. de Cs. Médicas UNC
Prof. Dr. José M. Willington
S/D

Distinguido Sr. Decano:

Los que suscriben, Miembros de la Comisión de Bioética de esta Facultad, se dirigen a Ud. para comunicarle lo siguiente:

que tras haber estudiado el proyecto de Investigación intitolado: "ALGUNOS FACTORES QUE INCIDEN EN LA FISIOPATOLOGÍA DE LAS GLÁNDULAS SALIVALES, IMPLICANCIA EN LA SALUD ORAL", presentado por las Profesoras Doctoras A.B. Finkeñberg y R.V. Gallará, se aprueba el CITADO PROYECTO.

Saludan a Ud. muy atentamente.

Prof. Dr. Pedro L. Saracho Cornet

Sra. Prof. Dra. Marta Zapata

Prof. Dr. Mario Forteza

Prof. Dr. Victor Cinelli

Lic. Cristina Arrambide de Nores

Prof. Dr. LUIS SANTOS CRITALE
VICE DECANO
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

Journal section: Oral Medicine and Pathology

Publication Type: Research

Oral signs of intravenous chemotherapy with 5- Fluorouracil and Leucovorin calcium in colon cancer treatment

Marcelo A. Mazzeo¹, Jorge A. Linares¹, María L. Campos¹, Beatriz E. Busamía¹, Claudio Dubersarsky², Marcelo Lavarda², Gustavo Jarchum², Ana B. Finkelberg¹

¹Cátedra de Fisiología, Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Córdoba

²Servicio de Oncología y Hematología del Sanatorio Allende

Correspondence:
Cátedra de Fisiología,
Facultad de Odontología,
Ciudad Universitaria,
Córdoba, Argentina
finkelberg1@yahoo.com

Mazzeo MA, Linares JA, Campos ML, Busamía BE, Dubersarsky C, Lavarda M, Jarchum G, Finkelberg AB. Oral signs of intravenous chemotherapy with 5- Fluorouracil and Leucovorin calcium in colon cancer treatment. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2009 Mar 1;14 (3):E108-13. http://www.medoralcirbucal.com/index.php?id=1403_moaab1403p108.pdf

Received: 18/04/2008
Accepted: 16/11/2008

Article Number: 31293337 <http://www.medoralcirbucal.com>
© Medicina Oral S. L. C.I.F. B 96091316 - pISSN 1698-4447 - eISSN: 1698-6948
doi:10.4233/medoralcirbucal.com
Indexed in:
-SCI EXPANDED
-JOURNAL CITATION REPORTS
-Index Medicus / MEDLINE / PubMed
-EMBASE, Excerpta Medica
-SCOPUS
-Index Médico Español

Abstract

Several studies have shown how cytostatics may cause hypofunction of salivary glands but failed to elucidate any potentially related side effects. Keeping in mind the sialochemical assistance and the role of saliva on the homeostasis of the stomatognathic system, the aim of this study was to establish potential gland disorders in patients submitted to 5- Fluorouracil (5-Fu) and Leucovorin calcium(LV) as well as their correlation with certain oral health disorders that diminish the quality of life.

Materials and methods: the focus of this research was observational and longitudinal. Twenty-five patients diagnosed with colon cancer at an initial, intermediate and late phase submitted to specifically devised therapy were assessed. Clinical history, oral health indexes and basal or stimulated saliva samples were recorded.

Results: Basal and stimulated flow dropped in the intermediate stage. Stimulated saliva pH decreased during treatment. On basal saliva, urea, sodium and potassium rose during the intermediate phase. L₀e and Silness rates as well as simplified bleeding increased during therapy but reverted by the end of the treatment. Depth index of the vestibular gingival sulcus rose during the intermediate phase but did not return.

Conclusion: This treatment caused functional salivary gland disorders as evidenced by basal and stimulated hyposialia, and acidification of stimulated saliva pH during the intermediate phase. Increase in basal urea may be due to proteic catabolism arising from plasma or glands. Variation in Na⁺ and K⁺ of basal saliva concentrates might be assumed as a possible duct disorder. Recovery of bleeding and L₀e and Silness rates may point to a transient inflammatory effect associated to a decrease in salivary flow. Increase in the depth rates of the periodontal vestibular sulcus could be correlated with a higher risk of periodontal disease.

Key words: 5- Fluorouracil + Leucovorin Calcium, salivary glands, dysfunction, xerostomia, oral health indexes.

E108

Introduction

Numerous side effects in the oral cavity are caused by chemotherapy, which should be minimized to relieve discomfort and maintain its healthy performance.

It is hard to reach definite conclusions about the influence of chemotherapy over salivary gland activity due to the limited or lack of suitable methods of recording small samples, short time of assays, and variety of management for different types of cancer.

Among the various therapeutical schemes, 5-Fluorouracil (5-Fu) and Leucovorin Calcium (LV), are two widely used drugs for the treatment of colon and rectum cancer (1-5). 5-Fu is classified as an analogue of pyrimidine bases that adds a fluor atom in position 5, replacing a hydrogen and damaging malignant cells two ways: by inhibiting thymidylate synthetase and by RNA bonding.

On the other hand, Leucovorin calcium, acts as a modulator of 5-Fu amplifying its range of action. Concomitant use of both drugs enhances the therapeutical and toxic effects of 5-Fu (6). An alternative in the administration of these cytostatics is the ambulatory management, with six 1.V. cycles during five consecutive days and a twenty-five day intermission.

The administration of these drugs is designed keeping in mind the body surface of the patient. This way, pharmacological induction of 5-Fu and LV can be extended for approximately six months.

This treatment exerts deleterious effects on several organic systems. Within the oral cavity, it initiates morphologic, structural and ultra structural disorders that promote dysfunctions, namely, salivary gland hypofunction (7,8).

Several authors claim these drugs would directly affect glands and thereby the product of their secretion, while others suggest that saliva would become the vehicle of such drugs inside the oral cavity, thus causing cytotoxicity (9).

Clinical assessment may elicit a subjective response from the patient such as dry mouth sensation or xerostomia or objective findings like flow and sialochemical assays. Dry mouth sensation does not necessarily agree with objective evaluations (10).

Based on these records and keeping in mind the relevant role of this complex exocrine secretion vital to the homeostatic balance of the stomatognathic system (11), the aim of the present work was to assess within a therapeutical frame work, the possible alterations in human saliva and their impact on oral health of colon cancer patients during the different stages of their treatment.

Material and Methods

The observational and longitudinal study was performed on twenty -five patients from the Oncology Unit of Sanatorio Allende, Cordoba, Argentina diagnosed with colon cancer and submitted to 5-Fu and LV treatment

during six cycles of five consecutive days with a twenty -one day intermission between them.

Patients were assessed based on the following scheme:

- 1- Initial phase: Prior to treatment.
- 2- Intermediate phase: Prior to the fourth drug administration.
- 3- Late phase: Twenty-one days after the end of the treatment.

Patients of both sexes between 21 and 75 years of age with colon cancer diagnosis and no previous stomatologic complaints were included in this survey. Patients exposed to neck and head radiation suffering from metabolic and mental disorders were not included in this survey.

Clinical management warranted risk free procedures or any discomfort inflicted on the patients, complying with anonymity, and confidentiality policies.

Once the written consent was granted and signed according to the standard model approved by the ethical committee of Sanatorio Allende, a clinical history was made. Oral exam of the mouth and samples of basal and stimulated saliva were collected in the morning so as not to disturb the circadian rhythm of secretion (12-14). The following oral health parameters were assessed for each patient:

- a- odontogram
- b- Loe and Silness rates (14,15)
- c- simplified bleeding indexes (16)
- d- Ramfjord index (17)
- e- plaque index (18)
- f- Probing depth of the vestibular sulcus of the elements 13-23-33 and 43 plus 16-26-36 and 46.

Collection of stimulated and basal saliva was carried out for five minutes using a 1 square cm inert rubber piece (19,20). Samples were maintained at -4°C for further assay. The following assays were made:

- a- Salivary flow and pH.
- b- Organic components: whole proteins, salivary amylase, Ig A and urea.
- c- Inorganic components: ionogram in saliva (Na⁺, K⁺, Cl⁻), Ca⁺⁺, PO₄⁻

Statistical Analysis: data were analyzed by Student "T" test for paired data to compare the different stages of treatment, setting a P value < 0.05 for statistical significance.

Results

Mean age of the patients with colon cancer was 55 years old, with 43% and 57% of subjects respectively younger or older than the mean. Regarding genetic predisposition, only 36% reported cancer history (only first and second degree line ancestors were taken into account). Both basal and stimulated flow dropped significantly in the intermediate stage as compared with the initial phase but reverted 21 days after treatment had ended. (p < 0.05 and p > 0.01 respectively). (Fig.1). As regards pH,

Med Oral Pathol Oral Cir Oncol. 2009 Mar; 134 (3):E108-13.

Oral signs induced by colon cancer chemotherapy

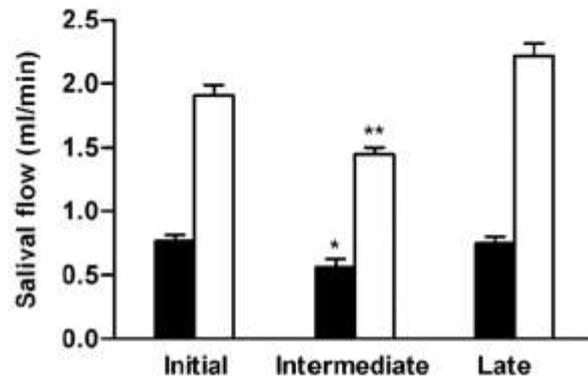


Fig. 1. Effect of 5 - FU and LV over basal and stimulated saliva flow from patients at different treatment phases: basal flow; stimulated flow. (*) p< 0.05, intermediate basal flow versus initial and final, (**) p< 0.01 intermediate stimulated flow versus initial and final.

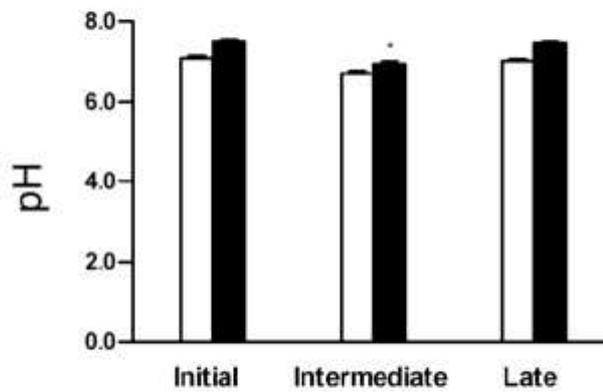


Fig. 2. Effect of 5 - FU and LV over basal and stimulated saliva pH of patients at different treatment phases: basal flow; stimulated flow. (*) p< 0.05, intermediate, stimulated flow versus initial and final.

E110

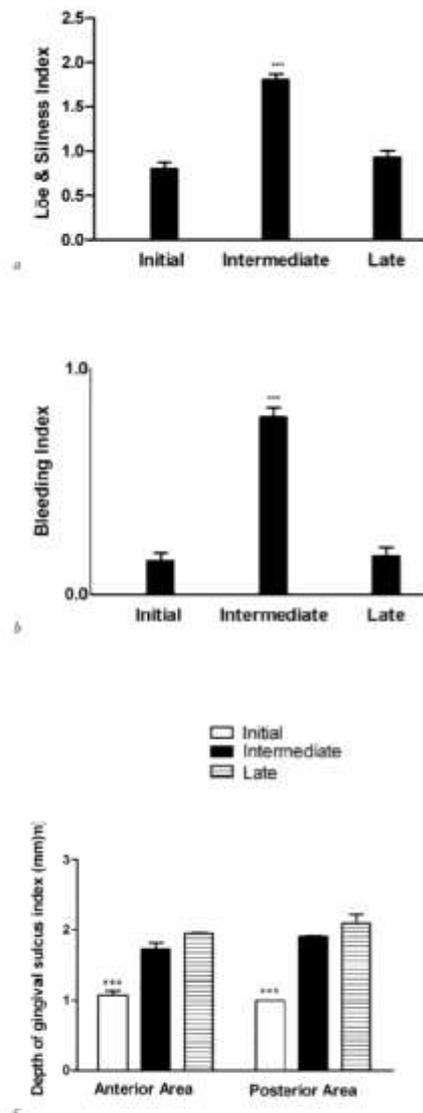


Fig. 3. Effect of 5-FU and LV over Loe and Silness index, bleeding index and depth of gingival sulcus index of patients at different treatment phases. (***) $p < 0.0001$, intermediate versus initial and final (a and b), mesial phase anterior and posterior areas, versus intermediate and final (c)

basal saliva showed no statistically significant changes, but stimulated saliva acidified in the intermediate as compared with the initial phase. This effect reverted during the final stage, when mechanical stimulation promoted saliva secretion with a pH similar to that of the initial stage ($p < 0.05$) (Fig. 2).

As for basal saliva composition, inorganic components such as Na^+ and K^+ increased during the intermediate unlike the initial stage but recovered in the final phase.

Among organic components, only a significant increase in urea concentration was evidenced during cytostatics administration that reverted in the late stage. (Table 1). Oral health indexes yielded the following results:

Gingival inflammatory response, evaluated by Loe and Silness rates, increased in the intermediate unlike the initial stage ($p < 0.0001$), and reverted by the end of the treatment (Fig. 3a). The simplified bleeding index exhibited a rise over the periodontal probing in the intermediate as compared with the initial phase ($p < 0.0001$). Such an effect was reverted in the late stage (Fig. 3b).

Depth index of the vestibular sulcus of anterior and posterior elements significantly increased in the intermediate phase but did not revert at the end of the treatment ($p < 0.0001$) (Fig. 3c). Odontogram, plaque and Ramfjord indexes revealed no significant differences in the studied sample.

Depth index of the vestibular sulcus of anterior and posterior elements significantly increased in the intermediate phase but did not revert at the end of the treatment ($p < 0.0001$) (Fig. 3c). Odontogram, plaque and Ramfjord indexes revealed no significant differences in the studied sample.

Conclusions

It is well known that many cytostatic drugs disturb the health status of the stomatognathic system but their real impact on gland tissue is not fully elucidated.

The current paper ratified the deleterious effect of these drugs discarding certain issues that complicate data analysis such as interpersonal variations since every individual in the survey was evaluated during the different stages of the therapy. The schedule of treatment applied mainly caused stimulated salivary glands disorders and basal hyposalivation. This might be the cause of xerostomia or dry mouth sensation with burning, dorsal lingual distress, lips and corners of the month cracking, discomfort in the use of removable dentures, and impaired swallowing and chewing in addition to dysgeusia (21). Basal and stimulated saliva pH was affected differently. Even though basal saliva pH experienced no changes, stimulated saliva pH acidified in the intermediate stage. This finding, along with a drop in the amount of flow released, would modify healthy flora (22-24).

Many physiologic processes involved in electrolyte exchange are susceptible to chemotherapy effects. As regards inorganic substances, increase in Na^+ and K^+ , would suggest a disorder in duct transport mechanisms during ions re-arrangement which occurs during secondary saliva formation.

Urea, which rose in the intermediate stage was the only

Table 1. Effect of 5-FU and Leucovorin Calcium over organic and inorganic components of basal and stimulated saliva of patients at different stages of treatment.

saliva	Basal			Stimulated		
	Treatment phases					
	Initial	Intermediate	Final	Initial	Intermediate	Final
Na ⁺ mEq/l	5.5±2.3	9.66±3.2 (**)	5.0±2.1	11.1±1.5 (###)	11.6±2.04	9.5±2.4
Cl ⁻ mEq/l	15.3±1.5	16.5±1.4	13.2±1.1	23.0 ± 1.5 (#)	21.1± 1.7	20.9 ±2.6
K ⁺ mEq/l	17.2±1.3	22.6±4.8 (**)	16.3±4.0	11.3±1.6 (#)	16.3±0.9	10.7±2.0
Phos- phate mg/dl	24.6±2.0	22.4±2.3	18.2±1.4	12.6±1.8 (###)	9.9±1.1	9.4±1.0
Ca ⁺⁺ mg/dl	3.3±0.3	3.8±0.3	3.1±0.3	5.7±2.3	3.1±0.2	2.5±0.4
whole proteins mg/dl	145±12.9	167±12.9	153±10.9	88.7±31 (##)	79.7±21.0	50.7±5.0
IgA, mg/dl	25.8±4.9	24.3±5.3	19.1±6.6	15.8±2.7 (##)	20.3±3.3	17.8±2.3
α amylase UA/μl	38.0±7.9	55.7±8.8	40.9±5.8	27.3±6.7	38.0±6.2	32.3±10.9
Urea mg/dl	29.8±4.8	47.6±4.2 (*)	25.4±2.9	20.1±3.2 (##)	19.9±3.0	17.8±4.5

(*) p< 0.05 intermediate Urea versus initial and final. (**) p<0.001 intermediate Na⁺ and K⁺ versus initial. (#) p<0.5 Chlorine and potassium initial stimulated saliva versus basal. (##) p<0.01: whole proteins, IgAs and urea initial stimulated saliva versus basal. (###) p<0.0001: Sodium and phosphate initial stimulated saliva versus basal.

organic component that exhibited significant difference. This change may be a catabolic protein effect arising either from blood plasma or from the gland itself. Results related to whole protein concentration and salivary alpha amylase among patients were variable. This finding might be due to countless factors, such as age, sex, diet, stress, medication or habits.

Changes in stimulated saliva composition over basal saliva were detected. Such modifications would not necessarily depend on drug action but rather on the increase in salivary flow since no significant differences in either the concentration of organic or in the inorganic stimulated saliva were found at different times of therapy. Current results let us suggest the finding of pathogenic bacteria increase would enhance the risk of periodontal disease as evidenced by the depth of the vestibular sulcus; the single oral health index that did not revert after treatment. This result is particularly relevant since it will draw patients' awareness to the need of developing therapeutical care at the very start of therapy, thus preventing complications that jeopardize the health of the stomatognathic system during oncologic management (25,26).

Although some results are in agreement with scientific reviews, we cannot ignore contradictory reports due to

the different types of cancer and consequently varied therapeutical protocols, lack of standardized methods and relatively short follow-up lapses which limit the possibility of gathering consistent results (27,28). Including dental dentistry specialists in the interdisciplinary oncologic team will aid cancer treatment.

The prevention and screening of oral disorders detected during cytostatic treatment will potentially prevent those side effects which may negatively affect the patients' quality of life.

References

1. Pinedo HM, Peters GF. Fluorouracil: biochemistry and pharmacology. *J Clin Oncol*. 1988;6:1653-64.
2. Diaz-Rubio E, Aranda E, Martín M, Gonzalez-Mancha R, Gonzalez-Larriba J, Barneo J. Weekly high-dose infusion of 5-fluorouracil in advanced colorectal cancer. *Eur J Cancer*. 1990;26:727-9.
3. Koenig H, Patel A. Biochemical basis for fluorouracil neurotoxicity. The role of Krebs cycle inhibition by fluorooacetate. *Arch Neurol*. 1970;23:155-60.
4. Bathe OF, Dowden S, Sutherland F, Dixon E, Butts C, Begam D, et al. Phase II study of neoadjuvant 5-FU + leucovorin + CPT-11 in patients with resectable liver metastases from colorectal adenocarcinoma. *BMC Cancer*. 2004;4:32.
5. Rustum YM, Harstick A, Cao S, Vanhoefler U, Yin MB, Wilke H, et al. Thymidylate synthase inhibitors in cancer therapy: direct and indirect inhibitors. *J Clin Oncol*. 1997;15:389-400.
6. Sargent DJ, Goldberg RM, Jacobson SD, Macdonald JS, Lanza R, Haller DG, et al. A pooled analysis of adjuvant chemo-

E112

- therapy for resected colon cancer in elderly patients. *N Engl J Med*. 2001;345:1091-7.
7. Sonts ST, Peterson DE, McGuire DB, Williams DA. Prevention of mucositis in cancer patients. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 2001;29:1-2.
 8. Scully C. Drug effects on salivary glands: dry mouth. *Oral Dis*. 2003;9:165-76.
 9. Epstein JB, Tsang AH, Warkentin D, Shup JA. The role of salivary function in modulating chemotherapy-induced oropharyngeal mucositis: a review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2002;94:39-44.
 10. Mandel ID. The role of saliva in maintaining oral homeostasis. *J Am Dent Assoc*. 1989;119:298-304.
 11. Denny PC, Denny PA, Klausner DK, Hong SH, Navazesh M, Tabak LA. Age-related changes in mucins from human whole saliva. *J Dent Res*. 1991;70:1320-7.
 12. Nurus Amersongen AV, Vreeman EC. Current therapies for xerostomia and salivary gland hypofunction associated with cancer therapies. *Support Care Cancer*. 2003;11:226-31.
 13. Shaw MJ, Kumar ND, Duggal M, Fiske J, Lewis DA, Kimella T, et al. Oral management of patients following oncology treatment: literature review. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2000;38:519-24.
 14. Loe H, Silness J. Periodontal disease in pregnancy. I. Prevalence and severity. *Acta Odontol Scand*. 1963;21:533-51.
 15. Loe H. The Gingival Index, the Plaque Index and the Retention Index Systems. *J Periodontol*. 1967;38:610-6.
 16. Muhlemann HR, Sen S. Gingival sulcus bleeding—a leading symptom in initial gingivitis. *Helv Odontol Acta*. 1971;15:107-13.
 17. Ramfjord SP. Indices for prevalence and incidence of periodontal disease. *J Periodontol*. 1959;30:51-9.
 18. Silness J, Loe H. Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand*. 1964;22:121-35.
 19. Hunter KD, Wilson WS. The effects of antidepressant drugs on salivary flow and content of sodium and potassium ions in human parotid saliva. *Arch Oral Biol*. 1995;40:983-9.
 20. Hershkovitch O, Nagler RM. Biochemical analysis of saliva and taste acuity evaluation in patients with burning mouth syndrome, xerostomia and/or gustatory disturbances. *Arch Oral Biol*. 2004;49:515-22.
 21. Jensen SB, Pedersen AM, Reibel J, Nannofte B. Xerostomia and hypofunction of the salivary glands in cancer therapy. *Support Care Cancer*. 2003;11:207-25.
 22. Davies AN, Broadley K, Beighton D. Xerostomia in patients with advanced cancer. *J Pain Symptom Manage*. 2001;22:820-5.
 23. Overholser CD, Peterson DE, Williams LT, Schimpff SC. Periodontal infection in patients with acute nonlymphocyte leukemia. Prevalence of acute exacerbations. *Arch Intern Med*. 1982;142:551-4.
 24. Reynolds MA, Minah GE, Peterson DE, Weikel DS, Williams LT, Overholser CD, et al. Periodontal disease and oral microbial successions during myelosuppressive cancer chemotherapy. *J Clin Periodontol*. 1989;16:185-9.
 25. Sonts ST, Fey EG. Oral complications of cancer therapy. *Oncology (Williston Park)*. 2002;16:680-6.
 26. Rojas de Morales T, Navas R, Viera N, Alvarez CJ, Chaparro N, Griman D. pH and salivary sodium bicarbonate during the administration protocol for methotrexate in children with leukemia. *Med Oral Patol Oral Cir Buceal*. 2007;12:E435-9.
 27. McCarthy GM, Awde JD, Ghaoui H, Vincent M, Kocha WI. Risk factors associated with mucositis in cancer patients receiving 5-fluorouracil. *Oral Oncol*. 1998;34:484-90.
 28. Peterson DE. Xerostomia—any progress? *Support Care Cancer*. 2003;11:199-200.

Acknowledgements

This work was possible thanks to SECyT and Agencia Córdoba Ciencia support.