

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
UNIDAD DE POST GRADO**



**EL EFECTO DEL AGUA OXIGENADA EN LA CARCINOGENÉSIS
ORAL DE HÁMSTERS**

**TESIS
para optar el Grado Académico
de Magister en Estomatología**

**AUTORA
Marieta Petkova Gueorguieva de Rodríguez**

**Lima-Perú
2007**

*DEDICO ESTE TRABAJO MUY MODESTO
A MI FAMILIA Y AMIGOS*

*AGRADEZCO
LA AYUDA DE MI ASESOR Y COLEGAS*

*AL DR. MÁXIMO SALAZAR POR EL
VALIOSO Y SINCERO APOYO EN LA
EJECUCIÓN PRÁCTICA*

INDICE

DEDICATORIA
AGRADECIMIENTOS
LISTA DE TABLAS Y GRÁFICOS

INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	
Antecedentes	2
Bases teóricas	
Radicales libres	8
Defensas contra la toxicidad del oxígeno	15
Capacidad antioxidante de la saliva	20
Mucosa bucal	22
Inflamación y RL	24
Carcinogénesis	27
Lesiones precancerosas y cáncer bucal	32
Blanqueadores dentales	37
Definición de abreviaciones	45
Sistema de hipótesis	45
Operacionalización de variables	46
II. PROBLEMA DE ESTUDIO	
2.1. Planteamiento del problema	47
2.2. Justificación	48
2.3. Objetivos de la investigación	49
III. MATERIAL Y MÉTODOS	
3.1. Tipo de Estudio	50
3.2. Población y muestra	50
3.3. Material y métodos	52
3.4. Procedimientos y Técnicas	52
3.5. Recolección de Datos	53
3.6. Procesamiento y análisis de la información	53
IV. RESULTADOS	55
V. DISCUSIÓN	87
VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	92
RESUMEN	94
ABSTRACT	95
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	96
ANEXOS	103

LISTA DE TABLAS Y GRÁFICOS

Tabla 1. Comparación del grosor total del epitelio poliestratificado (mm) entre los grupos con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%, 3% y agua destilada. LADO DE APLICACIÓN. GRÁFICO 1.

Tabla 2. Comparación del grosor total del epitelio poliestratificado (mm) entre los grupos con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%, 3% y agua destilada. LADO DE NO APLICACIÓN. GRÁFICO 2.

Tabla 3. Comparación del grosor del epitelio poliestratificado (mm) en el grupo con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%. LADO DE APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN. GRÁFICO 3.

Tabla 4. Comparación del grosor total del epitelio poliestratificado (mm) en el grupo con H₂O₂ al 3%. LADO DE APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN. GRÁFICO 4.

Tabla 5. Comparación del grosor total del epitelio poliestratificado (mm) en el grupo con aplicación de AGUA DESTILADA. LADO DE APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN. GRÁFICO 5.

Tabla 6. Comparación del grosor de la capa de queratina del epitelio poliestratificado (mm) entre los grupos con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%, 3% y agua destilada. LADO DE APLICACIÓN. GRÁFICO 6.

Tabla 7. Comparación del grosor de la capa de queratina del epitelio poliestratificado (mm) entre los grupos con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%, 3% y agua destilada. LADO DE NO APLICACIÓN. GRÁFICO 7.

Tabla 8. Comparación del grosor de la capa de queratina del epitelio poliestratificado (mm) en el grupo con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%. LADO DE APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN. GRÁFICO 8.

Tabla 9. Comparación del grosor de la capa de queratina del epitelio poliestratificado (mm) en el grupo con aplicación de peróxido de hidrógeno al 3%. LADO DE APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN. GRÁFICO 9.

Tabla 10. Comparación del grosor de la capa de queratina del epitelio poliestratificado (mm) en el grupo con aplicación de AGUA DESTILADA. LADO DE APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN. GRÁFICO 10.

Tabla 11. Comparación de las capas de células espinosas del epitelio poliestratificado entre los grupos con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%, 3% y agua destilada. LADO DE APLICACIÓN. GRÁFICO 11.

Tabla 12. Comparación de las capas de células espinosas entre los grupos con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%, 3% y agua destilada. LADO DE NO APLICACIÓN. GRÁFICO 12.

Tabla 13. Comparación de las capas de células espinosas del epitelio poliestratificado en el grupo con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%. LADO DE APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN. GRÁFICO 13.

Tabla 14. Comparación de las capas de células espinosas en el grupo con aplicación de peróxido de hidrógeno al 3%. LADO DE APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN. GRÁFICO 14.

Tabla 15. Comparación de las capas de células espinosas del epitelio poliestratificado en el grupo con aplicación de AGUA DESTILADA. LADO DE APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN. GRÁFICO 15.

Tabla 16. Comparación de la presencia de papilomatosis en el epitelio poliestratificado entre los grupos con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%, 3% y agua destilada.

LADO DE APLICACIÓN. GRÁFICO 16.

Tabla 17. Comparación de la presencia de papilomatosis en el epitelio poliestratificado entre los grupos con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%, 3% y agua destilada.
LADO DE NO APLICACIÓN. GRÁFICO 17.

Tabla 18. Comparación de la presencia de crestas epiteliales pronunciadas en el epitelio poliestratificado entre los grupos con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%, 3% y agua destilada. **LADO DE APLICACIÓN. GRÁFICO 18.**

Tabla 19. . Comparación de la presencia de crestas epiteliales pronunciadas en el epitelio poliestratificado entre los grupos con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%, 3% y agua destilada. **LADO DE APLICACIÓN. GRÁFICO 19.**

Tabla 20. Comparación de la presencia de hiperchromatismo nuclear en el epitelio poliestratificado entre los grupos con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%, 3% y agua destilada. **LADO DE APLICACIÓN GRÁFICO 20.**

Tabla 21. Comparación de la presencia de hiperchromatismo nuclear en el epitelio poliestratificado entre los grupos con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%, 3% y agua destilada. **LADO DE NO APLICACIÓN. GRÁFICO 21.**

Tabla 22. Comparación de interrupción de la membrana basal del epitelio poliestratificado entre los grupos con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%, 3% y agua destilada. **LADO DE APLICACIÓN. GRÁFICO 22.**

Tabla 23. Comparación de interrupción de la membrana basal del epitelio poliestratificado entre los grupos con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%, 3% y agua destilada. **LADO DE NO APLICACIÓN GRÁFICO 23.**

Tabla 24. Comparación de las características del epitelio poliestratificado en el grupo con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%.
LADO DE APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN. GRÁFICO 24.

Tabla 25. Comparación de las características del epitelio poliestratificado en el grupo con aplicación de peróxido de hidrógeno al 3%.
LADO DE APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN. GRÁFICO 25.

Tabla 26. Comparación de la presencia de displasia y carcinoma en el epitelio poliestratificado entre los grupos con aplicación de H₂O₂ 30%, H₂O₂ 3% y agua destilada. **LADO DE APLICACIÓN. GRÁFICO 26.**

Tabla 27. Comparación de la presencia de displasia y carcinoma en el epitelio poliestratificado entre los grupos con aplicación de H₂O₂ 30%, H₂O₂ 3% y agua destilada. **LADO DE NO APLICACIÓN. GRÁFICO 27.**

Tabla 28. Comparación de la presencia de células inflamatorias a nivel del tejido conectivo entre los grupos con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%, 3% y agua destilada. **LADO DE APLICACIÓN. GRÁFICO 28.**

Tabla 29. Comparación de la presencia de células inflamatorias a nivel del tejido conectivo entre los grupos con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%, 3% y agua destilada. **LADO DE NO APLICACIÓN. GRÁFICO 29.**

Tabla 30. Comparación de la presencia de células inflamatorias a nivel del tejido conectivo en el grupo con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%.
LADO DE NO APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN. GRÁFICO 30.

Tabla 31. Comparación de la presencia de células inflamatorias a nivel del tejido conectivo en el grupo con aplicación de peróxido de hidrógeno al 3%.
LADO DE NO APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN. GRÁFICO 31.

RESUMEN

El objetivo del presente estudio de tipo experimental, transversal con diseño de casos y controles fue determinar los cambios histológicos que produce la aplicación tópica del peróxido de hidrógeno en diferentes concentraciones sobre la mucosa oral del hámster. La muestra fue constituida por 60 hámsteres dorados de aproximadamente un mes y medio de edad asignados aleatoriamente a uno de los tres grupos de H₂O₂ al 30%, al 3% y agua destilada. La duración del experimento fue de 6 meses con aplicaciones mediante una micropipeta en la mejilla derecha del hámster 3 veces semanales. Al cabo de ello se sacrificaron los especímenes y se hicieron cortes histológicos y coloración con H.E. Se utilizaron pruebas estadísticas no paramétricas como Kolmogorov – Smirnov, Kruskal Wallis, Mann Whitney, Test de Wilcoxon de rangos con signo y Chi cuadrada para analizar las diferencias entre las condiciones experimentales. El análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico SPSS versión 13. Se compararon los grupos, encontrando diferencias significativas produciéndose aumento del grosor del epitelio debido a hiperqueratosis y acantosis en los grupos con aplicación de peróxido de hidrógeno; también en estos grupos hubo mayor porcentaje, de células hiperplásicas, y crestas epiteliales pronunciados. Todos los cambios producidos se expresaron con mayor intensidad en el grupo con peróxido de hidrógeno al 30%. Es también en este grupo donde se produjo el desarrollo de displasias de diferente grado y carcinoma epidermoide con interrupción de la membrana basal. La conclusión fue que en dosis altas y uso por tiempo prolongado el peróxido de hidrógeno puede expresar su potencial carcinogénico. Sin embargo, debido a los cambios preneoplásicos observados también con la concentración de 3 % se recomienda mayores estudios con muestras más grandes y mayor periodo de seguimiento, así como la necesidad de vigilancia epidemiológica en los tratamientos que implican el uso de peróxidos y la conveniencia de proporcionar información de los beneficios y riesgos con el uso de productos dentales que contienen peróxidos.

Palabras Claves: Radicales libres; Radicales de Oxígeno; Especies Reactivas de Oxígeno Peróxido de hidrógeno; Carcinogénesis

ABSTRACT

Effect of Hydrogen Peroxide on Oral Carcinogenesis in Hamsters.

The aim of this experimental, cross- sectional study was to evaluate the histologic changes in buccal mucosa of male Syrian golden hamsters with three weekly topical applications of different concentrations of hydrogen peroxide for six months. The 60 animals were randomly assigned to one of the three groups with 30% H₂O₂, 3% H₂O₂ and destilate water. Hydrogen peroxide was applied with micropipets (0.1ml) in the right cheek pouch. Animals were sacrificed and histologic slides and H.E. stainings were made. The statistical analysis was performed using the statistical program SPSS 13. Nonparametric tests as Kruskal – Wallis, Mann – Whitney, Wilcoxon signed rank test and Chi square were used to test for differences between experimental conditions. 30%H₂O₂ group showed significantly greater number of cells with hyperkeratosis, squamous hyperplasia, hypercromatism and deep epithelial crests than 3% H₂O₂ group. In 30% H₂O₂ group there were 11/20 (65%) cases of dysplasia and 3/20 (15%) of animals developed epidermoid carcinoma. While in 3% H₂O₂ group 6/20 (30%) of animals developed mild dysplasia and carcinoma were not observed.

These findings suggest that hydrogen peroxide used in high dose for long time can be carcinogenic. On the other hand use of 3% H₂O₂ need for more observations in longitudinal studies. Finally it is necessary epidemiological monitoring on use of dental products containing hydrogen peroxide.

Key Words: Free Radicals; Oxygen Radicals; Reactive Oxygen Species; Hydrogen Peroxide; Carcinogenesis

INTRODUCCIÓN

Al analizar los avances de nuestra época en el área de salud bucal podemos encontrar muchos logros en el esfuerzo a controlar los principales problemas como son la caries dental, enfermedad periodontal y las maloclusiones. Otra tendencia actual es el incremento del interés de la población por el factor estético. Los medios de comunicación y patrones de estética occidentales nos presentan la imagen de una sonrisa brillante como sinónimo de belleza y calidad de vida y han contribuido mucho con la intensificación del uso de blanqueadores dentales hasta en niños y adolescentes. Como profesionales en el área debemos evaluar los beneficios y riesgos del uso de estos productos en odontología.

Por otro lado se conoce que las especies reactivas de oxígeno, entre los cuales se encuentra el peróxido de hidrógeno son implicados en muchos procesos fisiológicos y patológicos del organismo. El peróxido de hidrógeno es componente de la mayor parte de productos blanqueadores dentales. Es una molécula altamente reactiva y formadora de radicales libres. Estas moléculas ejercen efectos de peroxidación lipídica a nivel de membranas, alteración de proteínas y ácidos nucleicos. Para defenderse el organismo posee el sistema de antioxidantes que establece un equilibrio con los procesos de oxidación. Sin embargo este equilibrio se puede alterar produciéndose el estrés oxidativo. Este ha sido implicado en numerosos procesos degenerativos como cáncer, artritis, ateroesclerosis, enfermedad de Alzheimer y otros.

Es por ello que el presente estudio se propuso por objetivo determinar si el uso de peróxido de hidrógeno en concentraciones de 3 y 30% en forma tópica sobre la mucosa bucal del hámster tiene potencial carcinogénico evaluando los cambios histológicos a nivel de epitelio y tejido conectivo, tomando como grupo control la aplicación de agua destilada.

I. MARCO TEÓRICO

Antecedentes

WEITZMAN S. ET AL ⁽⁸⁴⁾ en 1985 estudiaron los efectos del peróxido de hidrógeno en la carcinogénesis oral de hámsteres. El diseño del estudio incluyó hámsteres dorados de aproximadamente 3 meses de edad con peso promedio de 100 mg. Los animales fueron divididos en cuatro grupos experimentales y dos grupos de control. En el grupo A (16) se pinceló la bolsa bucal izquierda con una solución de 0.25% de dimetilbenzantraceno (DMBA) en aceite mineral pesado dos veces por semana con pincel de marta No.10; en el grupo B (17) se pintó dos veces por semana la bolsa bucal con la misma concentración de DMBA y otros dos días con 3% de peróxido de hidrógeno; en el grupo C (15) el tratamiento fue similar al del grupo B excepto que la concentración del peróxido de hidrógeno fue de 30% y en el grupo D (18) se pinceló la bolsa bucal de los hámsteres sólo con 30% de peróxido de hidrógeno. Se tomó dos grupos control: en uno no se realizó ningún pincelado y en el otro la bolsa bucal se pinceló con aceite mineral pesado. Los animales fueron sacrificados a las 19 y 22 semanas y se estudiaron los hallazgos histológicos.

Los resultados mostraron la presencia de más de 85% de hiperqueratosis en los animales de los cuatro grupos a las 19 semanas. Con respecto al desarrollo del carcinoma epidermoide a las 22 semanas se encontró en 43% en el grupo A (sólo DMBA), en 55% en el grupo B (DMBA y 3% de peróxido de hidrógeno), en 100% en el grupo C (DMBA y 30% de peróxido de hidrógeno) y no se desarrolló ninguno en el grupo D (30% de peróxido de hidrógeno sólo). Estos hallazgos sugirieron que el peróxido de hidrógeno aumentó la prevalencia del carcinoma epidermoide cuando fue asociado con el carcinógeno dimetilbenzantraceno.

En el grupo D, donde se aplicó el peróxido de hidrógeno al 30% sólo, se encontró a las 19 semanas: presencia de células hipercromáticas en un 11% de los animales (1/9), células inflamatorias crónicas en un 22% (2/9) y displasia en 11% (1/9). A las 22 semanas hubo incremento en estos porcentajes encontrándose células

hipercromáticas en 44% (4/9), células de inflamación crónica en 89% (8/9) y displasia leve en 44% (4/9). En conclusión en el grupo D se encontró algunos de los cambios patológicos asociados con lesiones preneoplásicas (células hipercloróticas y displasia leve).

REES T. Y ORTH Ch. ⁽⁶⁸⁾ en 1986, reportaron dos casos clínicos. El primero de ellos de un estudiante de odontología de 32 años de edad con severo dolor oral de tres días de duración, relacionado con el uso de peróxido de hidrógeno al 3% de tres a cinco veces por día para controlar las úlceras aftosas recurrentes que presentaba. El uso una cucharada de peróxido de hidrógeno al 3% no diluido que mantenía 1 o 2 minutos en la boca antes de escupirlo, experimentando una sensación de quemazón severa. Al examen que se le realizó presentaba pequeñas ulceraciones en la lengua y en la mucosa alveolar y labial. Al paciente se le instruyó a descontinuar el uso de peróxido de hidrógeno, y se le recetó el uso de anestésico tópico y colutorios de gluconato de clorexidina al 0.2% tres veces al día, observándose una rápida recuperación en tres días.

El segundo caso clínico fue de una mujer de 63 años de edad con múltiples ulceraciones en la encía marginal y la mucosa oral. La paciente notó la aparición de las lesiones desde aproximadamente nueve meses con períodos breves de remisión, pero en los dos meses anteriores a la consulta éstas estaban en forma permanente. La señora refería fumar 1 a 1 y medio paquetes de cigarros diariamente desde hace 50 años. Después de haberse instalado las lesiones ella visitó varios médicos y dentistas y recibió variedad de tratamientos que incluían antibióticos y corticoesteroides tópicos y sistémicos. Como no notó beneficios, ella decidió usar peróxido de hidrógeno al 3% tres veces al día por recomendación de un amigo. Al examen oral se observó áreas localizadas de leucoplasia de color blanco a amarillo-marrón con hiperqueratosis y ulceraciones dispersas. Inicialmente la paciente insistía que no había usado el peróxido de hidrógeno hasta la instalación del periodo más reciente de incomodidad oral. Sin embargo, después de reflexionar cuidadosamente determinó que la instalación de las lesiones coincidió con el inicio de un régimen de cuidado que incluía bicarbonato de sodio y sal de mesa como dentífrico, combinados con peróxido de hidrógeno para lograr una pasta. La paciente usaba cepillo blando, pero demostró un método de cepillado vigoroso. Se le realizaron exámenes completos de laboratorio y una biopsia. Los exámenes fueron normales, excepto la observación del hierro y hematocrito que

fueron muy bajos. La biopsia reveló la presencia de inflamación crónica. Se aconsejó a la paciente a descontinuar el actual método de higiene oral. Se le recetó una pasta dental muy suave con un cepillo ultrasuave. En tres días se logró que se siente libre del discomfort.

FRENKEL K. and CHRZAN K. ⁽³⁵⁾ en 1987, reportaron que la generación de peróxido de hidrógeno por leucocitos polimorfonucleares humanos activados con promotores tumorales de potencia variada se relacionan con las actividades de estos promotores en vivo. Fueron analizados el 12-O-tetradecanoil-forbol-13-acetato (TPA), un promotor completo, el 12-O-retinoil-forbol-13-acetato (RPA), un derivado sintético del TPA y mezcrein (Mez), un promotor potente del segundo estadio y débil del primer estadio. Los PMNs TPA estimulados causaron mayor producción de H₂O₂ y mayores modificaciones de la estructura del ADN co incubada con estas células (formación de 5-hidroximetil-2-deoxyuridina HMdU y glicol timidita dTG) en comparación con los demás promotores tumorales. Por lo tanto, ya sea la formación de H₂O₂ por fagocitos estimulados por promoción tumoral o de HMdU en el ADN, puede servir como medida para la potencia de un promotor de 1er estadio.

ADA (ASOCIACIÓN DENTAL AMERICANA) ⁽¹⁾ en el enero del 2000, en declaración acerca de la seguridad de uso del peróxido de hidrógeno contenido en los blanqueadores dentales afirma lo siguiente: el peróxido de carbamida al 10% se descompone en peróxido de hidrógeno al 3% y urea en solución acuosa. Los datos acumulados en los últimos 10 años sobre el 10% del peróxido de carbamida con acidez neutral mantienen la seguridad y efectividad de estos materiales. El efecto común más frecuente es la sensibilidad a cambios térmicos de las piezas dentarias e irritación ocasional de la mucosa oral. En la mayoría de los casos factores relacionados con la férula son los que se asocian con la irritación de la mucosa más que los agentes dentales blanqueadores. Ambas condiciones son transitorias y cesan con el tratamiento.

HERRIN ET AL ⁽⁴⁵⁾ en 1987 encontraron que el uso de peróxido de hidrógeno al 3% con bicarbonato de sodio no causa lesiones bucales en individuos saludables. Sin embargo se observaron lesiones gingivales en pacientes que utilizaban solución casera de peróxido de hidrógeno con bicarbonato de sodio a la cual adicionaron 5 mg de cloruro de sodio.

WINER ET AL ⁽⁸⁹⁾, 1991 y **Shybly et al** ⁽⁷³⁾, 1997 reportaron ausencia de efectos adversos con el uso diario de enjuague de 1.5% de peróxido de hidrógeno hasta por 4 veces en el primer estudio. Mientras que **TOMBES ET AL**, 1993 si encontraron decoloración de la superficie mucosa y de la lengua después de 5 semanas de enjuague 4 veces al día con solución de peróxido de hidrógeno de 0.75% o 1.5%.

ITO ET AL ⁽⁵⁰⁾ en 1981 realizaron un estudio en ratones C57BL/6J, hembras y machos de ocho semanas de edad a quienes se les administró peróxido de hidrógeno en el agua de beber con 0 (control), 0.1% y 0.4% por 100 semanas. En el grupo control se observaron sólo pocos casos de hiperplasia. Al incrementarse la concentración se observó mucho más casos de hiperplasias, adenomas y carcinomas principalmente a nivel del duodenum. La primera lesión ocurrió aproximadamente a las 42 semanas.

ITO ET AL ⁽⁵¹⁾ en 1982 modificaron algunas variables y trajeron ratones C57BL/6N hembras y machos con 0.4% de peróxido de hidrógeno en el agua de beber. Grupos de animales fueron sacrificados cada 30 días y los últimos fueron sacrificados el día 700 cuando terminó el experimento. Se observaron erosiones gástricas a los primeros 30 días y estos persistieron posteriormente. Se observaron nódulos de lesiones hiperplásicas, adenomas y carcinomas en el duodenum y en el estómago desde el día 90 hasta el final.

ITO ET AL ⁽⁵²⁾, en 1984 desarrollaron una investigación en ratones con diferentes niveles de actividad de la catalasa en el duodenum administrándoles 0.4% de peróxido de hidrógeno en el agua de beber por aproximadamente 7 meses. La incidencia de nódulos duodenales fue mucho mayor en aquellas cepas de ratones con actividad de la catalasa baja. Es así que en la actividad de la catalasa de 5.3 (10^{-4} K/mg proteína) la presencia de tumores se dio en 2/18 (11%); en 1.7 (10^{-4} K/mg proteína) de actividad de la catalasa en 7/22 (31.8%) y en los de 0.7 y 0.4 de actividad de catalasa la frecuencia de tumores fue de 21/21 (100%) y 22/24 (91.7%) respectivamente.

HIROTA N. AND YOKOYAMA ⁽⁴⁶⁾, en 1981 se interesaron por el efecto promotor tumoral del peróxido de hidrógeno al 1.5% en agua de beber a nivel del duodenum y yeyunum de ratas Fischer 344. Después de administración de metilazoxymetianolacetato (MAM) por 4 semanas se siguió con administración de peróxido de hidrógeno hasta finalizar 8 semanas. Después se dividieron en dos grupos: uno que continuó con peróxido de hidrógeno, mientras que el otro recibió agua corriente por 5 semanas adicionales. Un tercer grupo recibió sólo peróxido de

hidrógeno durante todo el estudio. Un cuarto grupo recibió sólo agua corriente. Los animales fueron sacrificados a la semana 21. Se observaron tumores en el duodenum proximal y el yeyunum superior en los grupos 1 y 2 con mayor incidencia en el grupo 1 comparado con el 2 (100%, 25%). Los tumores fueron clasificados como adenocarcinomas mucosos o invasivos. No se observaron tumores en los grupos con agua corriente o con peróxido de hidrógeno, aunque si hubo hiperplasia en este último grupo. Los autores concluyeron que el peróxido de hidrógeno posee efecto de promotor tumoral de tumores inducidos por MAM.

KLEIN-SZANTO AND SLAGA T.⁽⁵³⁾, en 1982 verificaron el efecto de promotor tumoral (A), iniciador tumoral (B) y actividad carcinogénica (C) del peróxido de hidrógeno en piel.

En el experimento A los ratones recibieron una simple aplicación tópica de DMBA, seguida una semana después por aplicaciones de 30% de peróxido de hidrógeno. El grupo control recibió acetona sola. La proporción de ratones con papilomas fue similar entre los grupos. Los ratones en el experimento B recibieron una simple aplicación tópica de peróxido de hidrógeno diluida y acetona sola (controles). Una semana después se les realizó aplicaciones dos veces semanalmente de 12-O-tetradecano y phorbol 13-acetato (TPA) por 25 semanas. Después de las 25 semanas se hallaron papilomas en los dos grupos control. En el experimento C los ratones recibieron dos veces semanalmente aplicación tópica de peróxido de hidrógeno diluida por 25 semanas. Se encontró papilomas. No se observó carcinoma espinocelular cuando estos animales se observaron hasta 50 semanas. El grupo de trabajo LARC notó la ausencia de grupo control tratado con DMBA para la actividad promotora y la corta duración del experimento para evaluación del carcinogenicidad.

TAKAHASHI M ET AL⁽⁷⁶⁾, en 1986 examinaron la potencia del peróxido de hidrógeno como promotor de tumor gástrico por N-metil-N-nitro-nitrosoguanida (MNN6). Los autores concluyeron que no hubo aumento de carcinomas duodenales o gástricos por la acción conjunta MNN6 y el peróxido de hidrógeno.

MARSHALL M. ET AL⁽⁵⁹⁾, en 1996, se propusieron analizar los efectos del peróxido de hidrógeno sólo y en combinación con 7,2-dimetilbencenitraceno (DMBA) en la mejilla del hámster dorado comparando la aplicación de dentífricos con 0.75% peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y 5% bicarbonato de sodio ($NaHCO_3$) 5 veces semanal por 20 semanas y otros con 1.5% H_2O_2 y 7.5% de bicarbonato de sodio aplicados 3 veces

semanal por 16 semanas solos y en combinación con 0.5% de DMBA. Se llegó a la conclusión que los dentífricos solos no fueron carcinogénicos y tampoco incrementaron la instalación de tumores en combinación con el DMBA. En los casos tratados con el DMBA se observó cambios queratóticos en la 6ta semana y la instalación de los carcinomas escamosos ocurrió aproximadamente a la 12va semana en casi la mitad de casos.

ZOUAIN-FERREIRA SL ET AL ⁽⁹¹⁾, en 2002, estudiaron el efecto de cuatro blanqueadores dentales conteniendo peróxido de hidrógeno o peróxido de carbamida en varias cepas de E. Coli con diferentes capacidades de reparación del ADN. Los agentes blanqueadores disminuyeron la fracción de supervivencia de todas las cepas y el efecto fue mayor en aquellas cepas con la habilidad más baja de reparación de ADN. Los autores concluyeron que los agentes blanqueadores dentales generan efecto biológico parecido a las radiaciones ionizantes y que su uso debería ser estrictamente controlado por un dentista con la finalidad de prevenir cualquier contacto con la encía y la mucosa.

OKAZAKI Y. ET AL ⁽⁶⁴⁾ en 2002 investigaron los factores ambientales que podrían ayudar al diagnóstico del potencial maligno de la displasia epitelial oral. Se indujo cáncer inicial en forma experimental en ratas machos de 4 semanas con la aplicación de 4-nitroquinolona 1-óxido (4NQO) para buscar la participación del gen p 53, el gen Bcl-2 y la apoptosis en el progreso de las lesiones precancerosas a cancerosas.

Las lesiones se evaluaron histológicamente en tres categorías cáncer inicial, displasia y epitelio sin cambios empleando los 13 criterios de la OMS para diagnóstico de displasia epitelial. En el cáncer inicial se manifestaron de 7 a 9 de estos criterios y en la displasia de 3 a 5 de ellos. Se observó “aumento en la proporción núcleo citoplasma” y “aumento de los nucleolos” en ambas lesiones displasia y cáncer inicial, sin embargo, “el pleomorfismo celular y nuclear”, “la pérdida de la polaridad de las células basales”, “la estratificación epitelial irregular” y “los bordes de la red en forma de gotas” fueron observados más frecuente en el cáncer inicial que en la displasia; indicando que estos cambios son relacionados con el progreso carcinogénico y son útiles para el diagnóstico del potencial maligno.

En la evaluación inmunohistoquímica se encontró que en la displasia la expresión del p53 fue más alta en el cáncer inicial y en el epitelio sin cambios. La expresión del gen Bcl-2 fue significativamente menor en el epitelio sin cambios, mientras que el índice de

apoptosis fue mayor en el epitelio sin cambios, disminuyendo en la displasia y aún más en el cáncer inicial, siendo la diferencia significativa entre el epitelio sin cambios y el cáncer inicial.

BURNINGHAM ET AL ⁽¹¹⁾, en 2004 presentaron al 6to Congreso Internacional de Cabeza y Cuello un informe en el que se analizan 19 pacientes con cáncer bucal primario del Centro Médico de la Universidad de Georgetown entre 1997 y 2003. Tres de los pacientes (16%) tuvieron como antecedente uso de blanqueadores dentales en el pasado. No hubo diferencia significativa en la edad entre los pacientes que habían usado o no blanqueadores, sin embargo, los usuarios de blanqueadores eran más jóvenes (edad promedio 34.3 versus 52.4, p=0.11). Las características de uso de tabaco y alcohol eran similares en los dos grupos. Los que habían usado blanqueadores presentaban nódulos linfáticos regionales positivos (100%), mientras que en el otro grupo se presentó en 3/16 (19%). Los autores señalan que los hechos no sugieren necesariamente relación causa-efecto entre el uso de estos productos y el desarrollo de cáncer bucal. Sin embargo, los radicales libres generados en el proceso del blanqueamiento tienen potencial carcinogénico, por lo tanto el uso de estos productos en esta población de pacientes se debería estudiar más ampliamente.

Bases teóricas

Radicales libres

El oxígeno aunque indispensable para los organismos aeróbicos, es a su vez potencialmente tóxico para todos los seres vivientes, pues debido a su peculiar labilidad, a partir de él se pueden formar los RL oxigenados. .⁽⁵⁸⁾

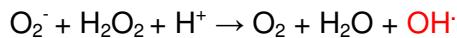
El oxígeno molecular es un biradical, tiene dos electrones únicos en orbitales diferentes, pero con órbitas paralelas. Tiene una afinidad muy grande por los electrones que se transportan, por ello es muy buen agente oxidante. En muchas reacciones de oxido-reducción, la transferencia de uno o más electrones se realiza mediante la transferencia de hidrógeno. Por el mecanismo de la cadena respiratoria mitocondrial se realiza el transporte de electrones desde un sustrato orgánico hasta un aceptor electrónico: el O₂ molecular. En esta reacción los electrones se desplazan por pares. Este O₂ se reduce de esta manera hasta llegar a agua como producto final.⁽²⁷⁾

El 95% del O₂ mitocondrial sigue esta vía de cadena respiratoria mitocondrial. Un porcentaje pequeño, entre 2% y 5%, escapa a esta vía de oxigenación completa y sigue pasos univalentes de reducción, donde los electrones se desplazan de uno a uno, con formación de productos de reducción parcial (u oxigenación incompleta) denominados radicales libres (RL). ⁽²⁷⁾

El oxígeno es capaz de generar dos tipos de especies químicas reactivas, que son muy perjudiciales para los seres vivos: las especies reactivas de oxígeno (ERO sus siglas en español y ROS en inglés). Estas son el radical superóxido (O₂⁻)*, el peróxido de hidrógeno (H₂O₂), el radical hidroxilo (OH·)* y el oxígeno singulete. El otro tipo son las especies de oxígeno y nitrógeno reactivas (RNOS). Entre ellas se encuentran el óxido nítrico (NO·)*, el trióxido de nitrógeno (N₂O₃), el peroxinitrito (ONOO⁻), el nitrito (NO₂), el ácido peroxinitroso (HONO₂) y el dióxido de nitrógeno (NO₂⁻)*.

Para su total reducción, el oxígeno es capaz de aceptar cuatro electrones, uno a uno, pero si el proceso no es completo podrán aceptarse uno, dos o tres electrones únicamente. Si acepta un electrón único se forma el radical superóxido O₂⁻. Si acepta sólo dos electrones se forma el peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y en el caso de aceptar tres se produce el radical hidroxilo OH·. ⁽¹⁸⁾

El radical superóxido (O₂⁻) se origina principalmente en la cadena de transporte electrónico mitocondrial. También puede ser producido por la xantina oxidasa (degradación de purinas). Tiene muy baja solubilidad, por lo que no difunde lejos del sitio de su producción. Puede originar radical hidroxilo, de forma no enzimática (reacción de Haber-Weiss)



El radical superóxido es una forma reducida de oxígeno, producida por las células fagocíticas con el fin de inactivar virus y bacterias, y también es producido por leucocitos, fibroblastos y células del endotelio vascular. Este radical es un importante transmisor de señales intracelulares las cuales participan en mecanismos de defensa por fagocitos activados. La liberación excesiva de radicales superóxido ha sido implicada en la aterosclerosis y como factor importante en el desarrollo de hipertensión arterial. ⁽³⁶⁾

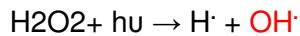
El peróxido de hidrógeno (H₂O₂) no es un radical libre, pero puede originar radical hidroxilo, de forma no enzimática (reacción de Fenton)



Puede, además, participar en la reacción de Haber-Weiss. Se difunde a través de las membranas biológicas. Es producido por muchas enzimas que unen O₂, presentes en peroxisomas, mitocondrias y retículo endoplasmático.

Algunas de las funciones del peróxido de hidrógeno incluyen la regulación de genes especialmente los controlados por el factor nuclear kappa B (NF-kB) También influye en la inducción de sobrecarga de calcio intracelular en los cardiomiositos para la presentación de disfunción cardiaca ⁽³⁶⁾

El radical hidroxilo es el radical libre más reactivo. Aparte de las dos reacciones anteriores de Haber-Weiss y de Fenton, lo pueden originar también las radiaciones ionizantes actuando sobre el agua:



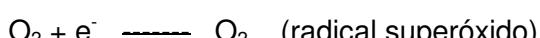
Los radicales libres son moléculas o átomos que tienen por lo menos un electrón no apareado, son electroquímicamente incompletos e inestables para poder estabilizarse tienden a quitar un electrón a una molécula sana o estable con la finalidad de completar su configuración, dando lugar a la formación de otra molécula inestable, iniciando una serie de reacciones en cadena, que continúa hasta que los radicales libres sean eliminados por los antioxidantes. La vida media de la radical libre no pasa de milésima de segundos. Los radicales libres se producen continuamente en el organismo principalmente por reacciones bioquímicas redox con oxígeno, que tienen lugar en el metabolismo celular normal por disfunción del sistema de transporte mitocondrial de electrones, la reacción de xantina oxidasa, la activación de neutrófilos para fagocitosis en una reacción inflamatoria controlada, el metabolismo del ácido araquidónico y la auto oxidación de las catecolaminas.

Se consideran como factores que contribuyen a la formación de radicales libres: las radiaciones ionizantes, rayos ultravioleta, contaminación ambiental, sustancias químicas contenidas en ciertos alimentos, humo de cigarrillos, alcohol, deficiencias nutricionales, el estrés, el colesterol HDL, procesos inflamatorios e infecciosos, hiperoxia, exceso de ejercicio e isquemia.⁽⁶⁶⁾

El humo del cigarrillo puede ser separado en 2 fases, la fase gaseosa y la sólida o alquitrán. En la gaseosa se han detectado las siguientes especies reactivas: superóxido, radicales hidroxilo y peroxilo, H₂O₂, oxígeno singulete, óxido nítrico, peroxinitrito y NO₂. Sin embargo, la principal fuente de superóxido y H₂O₂ en el humo de cigarrillo es debida a los polifenoles de la fase sólida, la que contiene cientos de

compuestos orgánicos. Los fumadores tienen además grandes cantidades de neutrófilos en el tracto respiratorio que pueden contribuir a elevar los radicales libres. La representación general de la fórmula de un radical libre es R *. Un compuesto se puede transformar en radical libre en diferentes formas:

Ganando un electrón



Perdiendo un electrón



Por fusión homolítica de una unión covalente

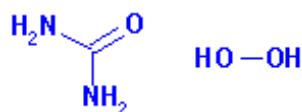


La fórmula estructural del peróxido de hidrógeno es:



El peróxido de hidrógeno es un líquido sin color. Su peso molecular es 34.0. Los nombres que se le asignan son peróxido de hidrógeno, dióxido dihidrógeno, dióxido de hidrógeno, oxido de hidrógeno, oxydol, peróxido. Los productos comerciales son soluciones acuosas de 33-37%. Los estabilizadores comunes son el ácido fosfórico y otros ácidos minerales para mantener la acidez del producto, sales de pirofosfato para inhibir la descomposición catalizada por metales y estanatos para inhibir la formación de coloide. Las soluciones comerciales tienen menos de 0.1% de impurezas orgánicas y niveles muy bajos de impurezas inorgánicas (<10 ppm), con metales pesados usualmente menos de 2 ppm. Es un fuerte oxidante y puede formar radicales libres por división hemolítica.⁽⁶³⁾

La fórmula estructural del peróxido de carbamida es:



La forma física del peróxido de carbamida son cristales blancos o polvo cristalino. Su peso molecular es de 94.1. Los nombres que se le asignan son urea peróxido, urea peróxido de hidrógeno, urea. Los productos comerciales tienen mínimo 97% de

peróxido de hidrógeno urea. Es soluble en agua. Contiene aproximadamente 35% de peróxido de hidrógeno y urea en solución líquida.⁽⁸³⁾

En Europa se producen muchas toneladas de peróxido de hidrógeno H₂O₂ de 100%. El principal uso del peróxido de hidrógeno es la producción de químicos y blanqueamiento de pulpa de celulosa y textiles. Pequeñas cantidades se usan para desinfección de lentes de contacto, desinfección de heridas y enjuagues bucales. Ambos peróxido de hidrógeno y peróxido de carbamida son usados para tinción del cabello, antisépticos orales, dentífricos, gotas para el oído y blanqueamiento dental.⁽⁷²⁾

Efectos de los radicales libres en el organismo:

Produce peroxidación de la membrana celular (erranceamiento de los fosfolípidos), destrucción de la membrana celular y alteración del ADN, estas acciones conllevan a número de enfermedades degenerativas tales como: cáncer, artritis, envejecimiento prematuro, decadencia senil, enfermedades cardiovasculares, alteraciones del sistema inmunológico, cataratas, la enfermedad de Alzheimer, aterosclerosis, etc. ⁽⁴⁰⁾

Es importante destacar que todos los procesos bioquímicos que descompensan el equilibrio orgánico ocurren mucho antes de manifestarse físicamente, es decir, que previamente a los síntomas y signos clínicos de una patología, ocurren una serie de eventos que conducen a la formación de productos cuantificables en la circulación. Al lograr su determinación se obtendrá un diagnóstico precoz y eficiente en el período reversible de la enfermedad. ⁽¹²⁾

Es muy difícil identificar y dosar radicales libres, especialmente por tener una vida media tan corta: el más tóxico de ellos, el radical *OH, vive sólo unos milisegundos. Los métodos de detección son indirectos, tales como resonancia magnética nuclear, dopaje de productos finales de lipoperoxidación (malonil-aldehido, dienos conjugados, etc.), quimioluminiscencia, dosaje de H₂O₂. Son métodos complejos y de alto costo. Por el momento no están disponibles para la práctica clínica, pertenecen al campo de la investigación. ⁽²⁷⁾

Los radicales libres ejercen efectos útiles y nocivos. Entre los útiles se puede mencionar el papel de defensa que cumplen los producidos por los fagocitos en la destrucción de los organismos invasores; además, algunas reacciones enzimáticos transcurren posiblemente por mecanismos radicales (caso de ciclooxigenasa y

tromboxano sintetasa). Así mismo las mínimas concentraciones de ERO pueden ser indispensables en muchos procesos, como el sistema de señales intracelulares, que en los organismos multicelulares es indispensable para mantener la homeostasis por ejemplo mediante mantener el equilibrio entre los procesos de proliferación celular y apoptosis., la inmunidad y la defensa celular.⁽⁶⁾

Sin embargo, altas dosis o una eliminación inadecuada de ERO dan lugar a *estrés oxidativo*, que puede causar graves disfunciones metabólicas y daño a las macromoléculas biológicas. Existe, por lo tanto, relación entre los niveles de enzimas antioxidantes y los tres tipos de moléculas mensajeras (factores de crecimiento, prostaglandinas y óxido nítrico) implicadas en la homeostasis celular, es decir, un equilibrio entre el mantenimiento de las condiciones estáticas en el medio interno celular y el nivel de ERO.^(66,49)

Bajo condiciones de estrés oxidativo, y dependiendo de la variedad de ERO presente, la muerte de la célula puede seguir dos procesos diferentes, denominados apoptosis y necrosis. La necrosis es pasiva (no dependiente de energía) y asociada con el agotamiento de ATP, ruptura de la membrana plasmática que rodea a la célula y vertido del contenido celular al medio exterior, lo que afecta a células vecinas y produce inflamación. Por otro lado, la apoptosis, o muerte programada de la célula, es un proceso activo (dependiente de energía en forma de ATP) caracterizado por la reducción de la célula en pequeños fragmentos (cuerpos apoptóticos) rodeados de una membrana plasmática intacta, la condensación del núcleo de la célula y la activación de caspasas, sin afectar a células vecinas.^(28, 63, 69)

Acción sobre los carbohidratos: Los mono y disacáridos resisten la acción de los radicales libres oxigenados. La glucosa constituye un “limpiador” del O₂, al retenerlo e impedir su acción sobre otras moléculas. La manosa y el manitol son eliminadores del radical hidroxilo (HO^{*}). El ácido hialurónico es atacado y fragmentado por el superóxido (O₂[•]), lo que explicaría las destrucciones del tejido conectivo observadas durante el proceso inflamatorio. Los polisacáridos son despolimerizados por los radicales libres.⁽⁶¹⁾

Acción sobre los lípidos: El efecto sobre los lípidos es ejercido fundamentalmente sobre los ácidos grasos poliinsaturados. Su exposición a los radicales libres reactivos como el NO₂[•], OH^{*}, O₂[•], provoca reacciones en cadena porque éstos sustraen un átomo de hidrógeno de los ácidos grasos, dejando un carbono con un electrón no

apareado y transformando el ácido graso en un radical libre. En este proceso de peroxidación de los ácidos grasos el ataque de un radical libre reactivo puede oxidar múltiples cadenas laterales de ácidos grasos, dañando las membranas, haciendo la membrana más débil y causando eventualmente la destrucción completa de éstas.

La peroxidación de los lípidos de las membranas celulares y subcelulares, mediante una serie de reacciones en cadena, tiene cuatro pasos: *iniciación*, donde un RL extrae un átomo de hidrógeno de un lípido y origina un radical lípido; posteriormente en la *propagación* el O₂ reacciona con el radical lípido y origina radicales peroxylo y peróxidos lipídicos; en la siguiente fase de *degradación* los radicales peroxylo y peróxidos lipídicos se degradan originando malondialdehído, etanol y pentano; finalmente en la *terminación* los radicales peroxylo y peróxidos lipídicos se reducen totalmente reaccionando entre sí o en presencia de vitamina E.

Dependiendo del grado de peroxidación lipídica se llega a alteración de la estructura de la membrana y su permeabilidad, generando disfunción y posteriormente muerte celular. Además estos productos de degradación pueden difundirse lejos del sitio de las reacciones en cadena y producir edema celular, además de influir sobre la permeabilidad vascular, inflamación y quimiotaxis. Asimismo, ellos pueden alterar la actividad de fosfolipasas e inducir la liberación de ácido araquidónico, con la subsiguiente formación de prostaglandinas y endoperoxidos.⁽⁶¹⁾

La peroxidación de los ácidos grasos insaturados puede producirse en cualquier lípido que los contenga, incluyendo los fosfolípidos que constituyen las membranas celulares y mitocondriales.^(41, 61)

En la base de la ateroesclerosis se halla la oxidación de la partícula LDL. Al proceso ateroesclerótico se considera como prototipo de los procesos de envejecimiento tisular. Cuando en ausencia de antioxidantes un radical libre sustrae, en el lumen vascular, un electrón a la grasa poliinsaturada del colesterol LDL, éste se oxida y da comienzo a la formación de la placa ateroesclerótica, y la disfunción del endotelio vascular⁽³⁸⁾

Acciones sobre las proteínas: Sobre las proteínas los efectos de los radicales libres oxigenados comprenden, ante todo oxidación de las funciones tiol (-SH) de la cisteína y de los metilos (-CH₃) presentes en el azufre de metionina. De ello resulta la inactivación de enzimas, pues los grupos sulfhidrilo (-SH) pueden ser transformados en puentes disulfuro (-S-S-). En resumen las moléculas que contienen sulfuro son particularmente reactivas a los RL, por ello que las proteínas triptófano, tiroxina, fenilalanina, histidina,

metionina y cisteína son altamente susceptibles al daño por RL. Así, la naturaleza del daño mediado por RL depende de la composición de los aminoácidos de las proteínas, llevando a cabo devastadores resultados en la función enzimática, el transporte iónico y la generación de energía.⁽³⁶⁾

En otros casos como en el colágeno las fibrillas pueden ser rotas, proceso que puede constituir el punto de partida para la acción de proteasas y facilitar la pérdida de estructura de la triple hélice del colágeno.

Acciones sobre ácidos nucleicos: En los ácidos nucleicos, la acción de los radicales libres oxigenados se ha observado experimentalmente en fracturas y anomalías cromosómicas por efecto del O₂^{*}. Otros efectos observados son hidroxilación de bases nitrogenadas, escisión de hebras de ADN, y formación de uniones cruzadas, causando mutaciones e inhibición de síntesis proteica y de nucleótidos.^(9, 41)

1.2.2. Defensas celulares contra la toxicidad del oxígeno y sus especies reactivas

Los organismos vivos disponen de mecanismos de defensa para evitar el daño oxidativo de las ROS y RNOS. Entre ellos se ubican:

- Enzimas de la defensa antioxidante
- Antioxidantes endógenos
- Antioxidantes de la dieta
- Compartimentación celular de ciertos procesos generadores de especies reactivas
- Secuestro de metales
- Reparación de los componentes dañados

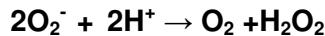
Sistema de antioxidantes

Los inhibidores de los radicales libres llamados también antioxidantes actúan sobre los radicales libres neutralizándolos y aportándoles los hidrógenos que les faltan para evitar su reacción en cadena. El sistema antioxidante contiene tres grupos principales de antioxidantes:

Antioxidantes Primarios : previenen la formación de nuevos radicales libres. Esto lo consiguen convirtiendo los radicales libres existentes en moléculas menos

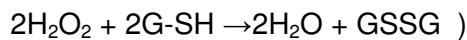
perjudiciales, antes de que puedan reaccionar, o evitando la formación de radicales libres a partir de otras moléculas. Por ejemplo:

Superóxido dismutasa (SOD): convierte O_2^* en peróxido de hidrógeno



En humanos existen tres tipos de SOD: la Mn-SOD mitocondrial, la Cu/Zn SOD citosólica y la SOD extracelular (EC-SOD). Aunque la Mn-SOD en tejidos humanos es aproximadamente la mitad de Cu/Zn-SOD, su expresión es esencial para la supervivencia de la vida aerobia y el desarrollo de resistencia celular a la toxicidad inducida por las sustancias reactivas de oxígeno. ^(38, 69)

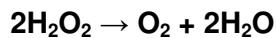
Glutation peroxidasa (GPx): convierte el peróxido de hidrógeno y los peróxidos lipídicos en moléculas inofensivas antes de que formen radicales libres. Cataliza la reducción del peróxido de hidrógeno (a agua) y de los peróxidos lipídicos a alcoholes no tóxicos y es dependiente del selenio. Utiliza el glutation reducido como donante de electrones. ⁽⁶⁾



Se han hallado al menos cinco isoenzimas de GPx en mamíferos. La GPx1 citosólica o mitocondrial se encuentra predominantemente en eritrocitos, riñon e hígado, la GPx4 citosólica o de membrana se expresa mayoritariamente en las células del epitelio renal y en los testículos. La GPx2 citosólica y la GPx3 extracelular se detectan escasamente en la mayoría de los tejidos, excepto en tracto intestinal y en el riñon, respectivamente. Recientemente se ha encontrado la GPx5, que es independiente del selenio y se expresa en el epidídimos de ratón. ⁽⁶⁶⁾

En células animales, y específicamente en eritrocitos humanos, la principal enzima antioxidante para la detoxificación de H_2O_2 es la GPx, ya que la catalasa presenta mucho menos afinidad por el H_2O_2 .

La enzima catalasa-peroxidasa (CAT) cataliza la dismutación del H_2O_2 en H_2O y O_2 molecular. Su sitio de acción está limitado a los peroxisomas y, en menor proporción, en el citosol y el RE. La catalasa depende del hierro.



Es una de las enzimas más eficientes, tanto que no puede ser saturada por H_2O_2 a ninguna concentración. ⁽⁶⁶⁾

Las catalasas son presentes en un amplio rango de concentraciones en casi todas las células mamíferas. Se localizan en los compartimentos subcelulares, principalmente en

los peroxisomas. Catalasas solubles se han encontrado en los eritrocitos. La mayor cantidad de catalasa es observada en las células de duodenum, hígado, bazo, riñón, sangre, membranas mucosas y otros tejidos altamente vascularizados.

Aunque la catalasa no es esencial para algunos tipos de células en condiciones normales, tiene un importante papel en la adquisición de tolerancia al estrés oxidativo en el proceso de adaptación celular. La catalasa captura el H_2O_2 antes que pueda escapar de la célula y lo convierte en oxígeno molecular.⁽¹⁷⁾

Las dos enzimas principales que controlan la concentración del peróxido de hidrógeno son la glutation peroxidasa y la catalasa.

Cantidades significativas de peróxido de hidrógeno aplicado tópicamente pueden penetrar la epidermis o las membranas mucosas seguido por una descomposición rápida y espontánea o catalizada por enzimas a oxígeno y agua en los tejidos subyacentes., lo cual previene la entrada del peróxido en la circulación general y por lo tanto su distribución sistémica.⁽³⁾

Antioxidantes secundarios, denominados también carroñeros, captadores o eliminadores de RL. Capturan los radicales, evitando las reacciones en cadena. Pueden ser endógenos u obtenidos de la dieta.

Entre los **antioxidantes endógenos** están el ácido úrico, la melatonina y el glutation.

El ácido úrico se origina en la degradación de las purinas por la xantina oxidasa y es liberado a los fluidos extracelulares (sangre, saliva, fluido pulmonar, etc.). Es particularmente importante en las vías aéreas, donde existen pocos antioxidantes. Los productos originados por la reacción del ácido úrico con los radicales son eliminados por la orina.⁽⁶³⁾

La melatonina es un neurohormona secretada por la glándula pineal que participa en la regulación de los ciclos circadianos. Funciona también cediendo un electrón en forma de hidrógeno a los radicales libres.

El glutation (GSH) es uno de los elementos principales que posee el organismo para protegerse del daño oxidativo. Actúa en conjunto con la glutation peroxidasa. Desde el punto de vista de la oxidorreducción, el glutatión reducido (GSH) es capaz de ceder electrones desde su grupo sulfidrilo (SH) a una especie oxidada, como podría ser un lipoperóxido de las membranas, funcionando así como un potente agente antioxidant y rindiendo el producto oxidado (GSSG).⁽⁴⁹⁾

También pertenecen a los antioxidantes endógenos **la bilirrubina y albúmina**. La albúmina que tiene un grupo sulfhidrilo por molécula y que está presente en una concentración de 0.5 mmol/l en el plasma, puede barrer varios radicales, así como ligarse a los iones de cobre.

Por otro lado a este grupo de antioxidantes secundarios pertenecen los elementos de la dieta como la vitamina E (alpha-tocoferol) y beta caroteno (vitamina A) en la membrana celular, vitamina C (ascorbato) en el citoplasma.⁽⁶⁾

La vitamina E engloba múltiples tocoferoles, de los cuales el más importante es el α-tocoferol, por ser el antioxidante más potente. Esta vitamina liposoluble funciona como protección contra la peroxidación lipídica donando un electrón a un radical peroxílico.⁽⁶⁾

La vitamina C es una coenzima de oxidación-reducción que funciona también como defensa ante los radicales libres. El papel biológico del ácido ascórbico radica en dos de sus propiedades químicas: una, la reversibilidad de su oxidación, lo que permite su regeneración a estado reducido a expensas del glutatión, y en segundo lugar el carácter soluble polar de la molécula, debido a la cual se ubica en el citosol de la célula y proporciona los equivalentes reductores necesarios para estabilizar los ácidos grasos poliinsaturados antes de que ocurra la peroxidación lipídica avanzada, efecto que ejerce, asociada a la vitamina E o α-tocoferol, de naturaleza lipofílica y presente en las membranas celulares. Se observa entonces, la existencia de un complejo sistema de interacciones y sinergismo entre los antioxidantes de la fase lipídica (membrana) de la célula y de la fase acuosa (citósol), que conducen a neutralizar los radicales citotóxicos, especialmente los originados de la peroxidación lipídica.⁽¹²⁾

Otros antioxidantes secundarios son **los carotenoides**, término que se aplica al β-caroteno (precursor de la Vitamina A) y a compuestos similares y **los flavonoides**.⁽⁶⁹⁾

Antioxidantes terciarios : reparan las biomoléculas dañadas por los radicales libres.

Incluyen enzimas reparadoras de ADN y la metionina sulfóxido reductasa.

Según el lugar donde se localizan los antioxidantes, éstos pueden ser intracelulares, extracelulares o estar en ambos lugares.

Proteínas de unión a metales: El hierro y el cobre son considerados los más comunes iones metálicos que catalizan la formación de especies de radicales libres de oxígeno vía la reacción de Fenton y Haber-Weiss descritas anteriormente. Siendo los metales como el hierro y el cobre poderosos promotores del daño por radicales libres

en el organismo se ha desarrollado un complejo sistema de transporte y almacenamiento para asegurar que estos metales esenciales raramente se les pueda permitir de estar “libres” como por ejemplo la ferritina, la forma de almacenamiento usual del hierro móvil (Fe²⁺) y el exceso de Fe²⁺ es almacenado como no móvil en depósitos de hemosiderina que no estimula la formación de radicales libres, la transferrina que es la proteína transportadora de hierro a nivel plasmático, la lactoferrina proteína similar de unión a hierro encontrada en muchas secreciones humanas (lágrimas, líquido superficial de mucosa nasal) y la ceruloplasmina, una forma segura de transporte del cobre que limitan la disponibilidad de Fe²⁺ y Cu²⁺ necesaria para formar el radical OH*. (17, 28)

En el suero estos iones metálicos unidos a proteínas tales como la transferrina, la ferritina y la ceruloplasmina, no solamente capturan a estos iones metálicos e impiden su participación en reacciones de oxidación pero también han demostrado una capacidad antioxidante 50 veces mayor que la vitamina E presente en el suero. El selenio es otro ion metálico con propiedades antioxidantes, el cual es abundante en el núcleo, el citosol, la mitocondria y los microsomas. A este ion se le conocen propiedades anticarcinogénicas posiblemente debido a su interferencia con la interacción entre los radicales libres de oxígeno y el ADN. (36)

La compartimentación celular es una forma de confinar todos aquellos procesos que generan especies reactivas (ROS y RNOS) en gránulos subcelulares. Esta compartimentación es esencial para controlar las especies reactivas y evitar que se extiendan por toda la célula. La localización de las enzimas de defensa contra los radicales libres también está adaptada a la compartimentación subcelular de los procesos.

Un tipo de compartimento celular son los peroxisomas, organelos de membrana sencilla presentes en prácticamente todas las células eucariotas. En los mamíferos su abundancia varía desde menos de cien hasta más de mil peroxisomas por célula. El nombre de peroxisoma indica que es lugar tanto para generar como degradar peróxido de hidrógeno. En las células animales, las mitocondrias y los peroxisomas son los organelos encargados del catabolismo de los ácidos grasos (AG), a través del proceso bioquímico conocido como β-oxidación. (34)

Relacionando el tema de antioxidantes con formas de la enfermedad periodontal frecuentemente asociadas con leucocitos fagocitarios activados y simultáneamente con

las defensas antioxidantes del huésped frente a los radicales libres se plantea que es posible el logro de un efecto benéfico con el uso de enjuagues antioxidantes como coayudantes. En un estudio se pusieron a prueba las actividades antioxidantes de 11 colutorios con el método electro fotométrico específico. Con el test se verificó si las actividades químicas antioxidantes puras realmente corresponden a la prevención de la fragmentación del DNA in Vitro. Los resultados demostraron que los colutorios conteniendo metil salicilatos fueron los más efectivos en la limitación de la fragmentación del DNA fibroblástico, a diferencia de aquellos con clorexidina que no ejercieron esta propiedad. También se encontraron indicios que el efecto antioxidante en varios de los colutorios se puede deber al principio activo o al vehículo o a ambos. (4,5)

1.2.3. Capacidad antioxidante de la saliva

La saliva representa una mezcla de secreciones de las glándulas salivales mayores (submandibular, sublingual, parótida) y las glándulas salivales menores y los fluidos gingivales. Se ha demostrado que las secreciones de las diferentes glándulas difieren considerable, son complejos en composición y son afectadas por las diferentes formas de estimulación, el momento del día, la dieta, la edad, el género, enfermedades y agentes farmacológicos. Parte de la saliva se produce en respuesta a la estimulación de la masticación, el resto aproximadamente 60% se produce en reposo. Durante el sueño el flujo de las glándulas mayores virtualmente cesa. Se puede describir como fluido heterogéneo compuesto por proteínas, glucoproteínas, electrolitos, pequeñas moléculas orgánicas como también compuestos transportados de la sangre. Las proteínas son aproximadamente un 3% y la mayoría tienen propiedades antibacterianas, incluyendo no inmunoglobulinas y anticuerpos, especialmente la Ig A secretora, lisosima, lactoferrina y peroxidasa. Este fluido constantemente baña los dientes y la mucosa bucal actuando como solución limpiadora, reservorio de iones, lubricante y buffer. (4, 90)

Se ha considerado que el desbalance entre los niveles de radicales libres y especies reactivas de oxígeno con los antioxidantes puede jugar importante papel en la instalación y desarrollo de variadas patologías bucales inflamatorias. Hay revisiones extensas del daño oxidativo en la enfermedad periodontal crónica y los posibles

efectos terapéuticos de los antioxidantes. Fisiológicamente los radicales libres/especies reactivas de oxígeno en la boca son producidos principalmente por los neutrófilos polimorfonucleares, los cuales pueden controlar el crecimiento de bacterias mediante el estallido respiratorio. Tales acciones fisiológicas son normalmente contrarestadas por sistemas de antioxidantes intrínsecos y cuando este sistema falla es posible que se produzca daño tisular. La saliva puede constituir la primera línea de defensa frente a los radicales libres.^(60, 85)

La saliva humana entera contiene un sistema de peroxidases complejo, el mayor componente del cual incluye diferentes formas de lactoperoxidasa secretadas por las glándulas salivales y mieloperoxidasa secretada por los polimorfonucleares. Una de las funciones más importantes de la peroxidasa salival es el control de las bacterias orales que forman placa dental que no se llegue a desbalance y se produzca caries dental o enfermedad periodontal crónica. La peroxidasa salival cataliza la peroxidación del ion tiocianato (SCN^-) a generar productos de oxidación ($(\text{O}_2\text{SCN}^-$, O_3SCN^- , $(\text{SCN})_2$, HOSCN , OSCN^-) que inhiben el crecimiento y el metabolismo de muchos microorganismos. Parece que esta enzima puede también funcionar como catalasa.

Se debe también tomar en cuenta que el fluido gingival crevicular constantemente se mezcla con la saliva y su flujo se incrementa con la inflamación gingival, lo cual se relaciona con incremento de PMN que contribuyen a mejorar la actividad peroxidasa con la mieloperoxidasa. La mieloperoxidasa es una enzima que se encuentra en los gránulos azurófilos de los neutrófilos y los monocitos sanguíneos que cataliza la oxidación del cloruro y la reducción del peróxido de hidrógeno hasta la formación del ácido hipoclorídrico (HOCl), una especie reactiva de oxígeno que puede producir corte en la unión peptídica y la formación de cloraminas con bajo peso molecular y potencial bactericida.^(4, 90)

Por otro lado la saliva es rica en antioxidantes, principalmente ácido úrico, con una contribución menor de albúmina, ascorbato y glutation. Se ha demostrado que la saliva tiene rol en la supresión de la peroxidación lipídica de la comida ingerida. La concentración de urea en saliva varía mucho. Se ha reportado que el ácido úrico es el mayor antioxidante de la saliva representando más de 85% de la capacidad antioxidante total de la saliva. La concentración de albúmina es comparativamente baja de 10 μM en rangos parecidos a la del ácido ascórbico. El ácido ascórbico parece ser concentrado particularmente en el fluido crevicular donde su concentración se ha

encontrado ser tres veces más que en el plasma. La concentración de glutation es cerca de 2 μ M.

Finalmente también hay huellas de otros antioxidantes en la saliva y fluido crevicular (transferrina, lactoferrina, ceruloplasmina) que tienen capacidad de unir iones de metal y representan aproximadamente de 5 a 10% de la capacidad antioxidante de la saliva. El hierro y el cobre (dos elementos implicados en la producción de radicales libres vía reacción de Haber – Weiss catalizada por metales) son neutralizados por unión a proteínas de transporte, el primero por la transferrina y la lactoferrina, y el último se une a la ceruloplasmina y la albúmina. ⁽⁴⁾

1.2.4. Mucosa bucal

Características histofisiológicas

La piel, la mucosa bucal y el revestimiento intestinal constan de dos componentes tisulares separados, un epitelio de revestimiento y un tejido conectivo subyacente. Es más fácil entender la estructura de un tejido u órgano cuando se conoce su función. Esto es particularmente cierto en el caso de la mucosa bucal, cuya estructura refleja una variedad de adaptaciones funcionales. Estas adaptaciones son el resultado de cambios evolutivos en las especies que han tenido lugar en un largo período de tiempo. ⁽¹⁸⁾

La mucosa bucal cumple varias funciones. La más importante de ellas es la protección que otorga a los tejidos más profundos de la cavidad bucal.

Aunque la mucosa bucal se continúa con la piel existen considerables diferencias, como el espesor, el grado de queratinización y cantidad de pigmento melánico en el epitelio. Otras características por las cuales la mucosa bucal difiere de la piel son su superficie húmeda y la ausencia de apéndices o anexos. La piel contiene numerosos folículos pilosos, glándulas sebáceas y sudoríparas, mientras que los componentes glandulares de la mucosa bucal están representados principalmente por las glándulas salivales menores. ⁽¹⁸⁾

Los dos tejidos principales de la mucosa bucal son un epitelio escamoso estratificado, llamado epitelio bucal y un tejido conectivo subyacente, llamado lámina propia o corion. La interfase entre el epitelio y el tejido conectivo es usualmente irregular con

proyecciones hacia arriba del tejido conectivo, donde se interdigitán papilas de tejido conectivo con crestas epiteliales. No es tan clara la separación entre el tejido conectivo de la mucosa bucal y el la submucosa subyacente. ^(7, 18)

Como tejido que forma la superficie de la mucosa bucal, el epitelio representa la barrera primaria entre el medio bucal y los tejidos más profundos. Como ya se ha mencionado es un epitelio escamoso estratificado y consta de células estrechamente adosadas entre sí y dispuestas en una serie de capas distintas o estratos. Al igual que la epidermis y el revestimiento del tracto gastrointestinal, el epitelio bucal mantiene su integridad estructural mediante un sistema de renovación celular continua, por el cual las células, producidas por divisiones mitóticas en las capas más profundas, migran hacia la superficie para reemplazar a aquellas que se descaman. Puede entonces considerarse que las células epiteliales pertenecen a dos poblaciones celulares funcionales, una población progenitora cuya función es la de proveer nuevas células y una población en maduración, cuyas células sufren continuamente un proceso de diferenciación o maduración para formar una capa protectora superficial. ^(7, 18)

Las células progenitoras están situadas en la capa basal en los epitelios delgados, tales como los de piso de boca y en las dos o tres capas celulares inferiores en epitelios más gruesos, como los de los carrillos y del paladar. Se considera que la población progenitora no es homogénea, sino que consiste de dos subpoblaciones celulares funcionalmente distintas. Una pequeña población de células progenitoras que se recicla muy lentamente con la función de reproducir células basales y la otra más amplia de células con la función de aumentar el número de células disponibles para la maduración posterior. El concepto de una célula germinal epitelial puede tener significado para comprender el desarrollo de los carcinomas. Independientemente de que las células sean de tipo germinativo o amplificador, la replicación es una actividad cíclica, que se divide habitualmente en cuatro fases diferentes, de las cuales histológicamente se puede diferenciar sólo la mitosis. Después de la división celular cada célula "hija" decide reciclarse en la población progenitora o en el compartimiento de maduración. Este período de toma de decisiones se conoce como la dicofase. La velocidad con la cual se producen células nuevas puede ser determinada mediante una serie de métodos. Ciertas sustancias, tales como el alcaloide vegetal colchicina, pueden frenar las células en división a medida que éstas entran en la metafase. Mediante el recuento de número de células en división frenadas en el lapso de un

período de tiempo conocido, se puede determinar el índice mitótico. Aparte de contar el número de células en división, es posible también estimar el tiempo necesario para que una célula se divida y atraviese todo el epitelio, llamado tiempo de recambio del epitelio. Aproxidamente el tiempo de recambio en la piel es de 52 a 75 días, en el intestino de 4 a 14 días, en la encía de 41 a 57 días y en el carrillo de 25 días. El recambio del epitelio bucal no queratinizado es más rápido que del epitelio gingival queratinizado. El control de la proliferación epitelial se piensa que es mediado por sustancias producidas por las células epiteliales en maduración llamadas chalonas. Estas chalonas actúan mediante un mecanismo de retroalimentación negativa; a menor concentración local de chalonas, mayor actividad mitótica y menor velocidad de maduración.⁽¹⁸⁾

La actividad mitótica puede verse afectada por una serie de factores, tales como el momento del día, el stress y la inflamación. Por ejemplo, la presencia de infiltrados leves de células inflamatorias a nivel subepitelial estimula la mitosis, mientras que la inflamación severa ocasiona una marcada reducción de la actividad proliferativa.

1.2.5. Inflamación y radicales libres

En las últimas décadas, gracias a los avances en biología molecular se ha logrado un notable desarrollo en la investigación de los mecanismos de la respuesta inflamatoria sistémica a la infección.⁽⁸²⁾

Diferentes estímulos exógenos y endógenos pueden inducir una respuesta compleja del tejido conectivo vascularizado, denominada inflamación, que da lugar a acumulación de líquidos y leucocitos en los tejidos extravasculares. La reacción inflamatoria está estrechamente relacionada con el proceso de reparación. Su carácter es fundamentalmente protector con el objetivo final a librar el organismo de la causa inicial de la lesión celular. Sin embargo, la inflamación y reparación pueden llegar a ser dañinos para el organismo como en el caso de las reacciones de hipersensibilidad, de las enfermedades crónicas como artritis reumatoide, aterosclerosis y fibrosis pulmonar que poseen el mecanismo patogénico de la inflamación.⁽²²⁾

La respuesta inflamatoria tiene lugar en el tejido conectivo vascularizado e implica al plasma, a las células circulantes, los vasos sanguíneos y los constituyentes celulares y extracelulares del tejido conjuntivo. Las células circulantes son neutrófilos, monocitos,

eosinófilos, linfocitos, basófilos y plaquetas. Las células del tejido conjuntivo son los mastocitos que se localizan alrededor de los vasos sanguíneos, los fibroblastos, los macrófagos y los linfocitos residentes. ⁽²²⁾

La inflamación presenta dos fases aguda y crónica. La inflamación aguda es de evolución relativamente breve, con una duración de horas o pocos días. Se caracteriza con exudación de líquidos y proteínas plasmáticas (edema) y migración de leucocitos polimorfonucleares. La inflamación crónica es de mayor duración y se caracteriza con la presencia de linfocitos y macrófagos y la presencia de fibrosis.

Uno de los eventos más importantes de la inflamación es el aporte de leucocitos a la zona de la lesión. Los leucocitos fagocitan los agentes agresores, destruyen las bacterias y otros microorganismos y degradan el tejido necrótico. Los leucocitos también pueden prolongar la inflamación e inducir lesión tisular al liberar enzimas, mediadores químicos y radicales tóxicos de oxígeno. La secuencia que lleva a los leucocitos en el lugar de la lesión consiste en marginación leucocitaria al endotelio vascular, trasmigración a través del epitelio llamada diapedesis y migración al lugar mediante quimiotaxis. Diversas sustancias exógenas y endógenas pueden actuar como quimiotácticos. Los agentes exógenos más comunes son los productos bacterianos. El lipopolisacárido (LPS) de los gérmenes gramnegativos es el más conocido de todos y es un componente vital de la pared celular de estas bacterias, en particular la molécula «lípido A». Se han estudiado también otros componentes de la pared bacteriana como el peptidoglicano, muy relacionado con citotoxicidad y edema cerebral y el ácido murámico, característico de los gérmenes grampositivos, que tienen un alto poder inductor de mediadores proinflamatorios. ^(21,22, 82)

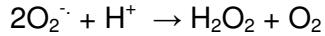
La fagocitosis y la liberación de enzimas son los principales sucesos en el foco de la inflamación. La fagocitosis transcurre con la secuencia de reconocimiento y fijación de la partícula extraña que va a ser ingerida; englobamiento de la partícula con formación de una vacuola fagocitaria y destrucción del material fagocitado.

En la fase final de la fagocitosis, la destrucción de las bacterias se consigue principalmente por mecanismos dependientes del oxígeno. La inflamación estimula fuertemente el consumo de oxígeno. La producción de metabolitos de oxígeno se debe a la activación rápida de una oxidasa (NADPH oxidasa) que oxida al NADPH y en el proceso reduce el oxígeno a ion superóxido.



NADPH oxidasa

El radical superóxido liberado en el interior del fagolisosoma es luego transformado en H_2O_2 por la SOD.



La NADPH oxidasa es un complejo sistema enzimático, constituido por varias proteínas. En los neutrófilos en reposo, estos componentes proteicos se separan en compartimentos citoplasmáticos y de la membrana plasmática. Por lo tanto el H_2O_2 es producido en el interior de la célula.⁽²⁷⁾

Las ERO producen a su vez peroxidación de los lípidos de membrana, factor que es determinante en el mecanismo del daño endotelial. Asimismo se producen modificaciones de las proteínas (enzimas, receptores, proteínas formadoras de canales) asociadas a estos lípidos, lo cual provoca trastornos de los sistemas de transporte con aumento de permeabilidad para algunos elementos que, como el calcio.⁽²¹⁾

Las cantidades de H_2O_2 que se producen en el fagolisosoma son insuficientes para permitir el efecto de la destrucción bacteriana eficaz. Sin embargo los gránulos azurófilos de los neutrófilos contienen la enzima mieloperoxidasa (MPO) que en presencia de un haluro como el Cl^- , convierte el H_2O_2 en HOCl. Este último es un agente antimicrobiano que destruye las bacterias mediante halogenación o mediante oxidación de las proteínas y lípidos. (peroxidación lipídica). El sistema $\text{H}_2\text{O}_2\text{-MPO-haluro}$ es el sistema bactericida más eficaz de los neutrófilos.^(21, 22)

Los leucocitos con déficit de MPO también son capaces de destruir las bacterias, aunque más lentamente a través de la formación de superóxido, radicales hidroxilo y oxígeno monoatómico.⁽⁵⁵⁾

La destrucción de las bacterias también se puede conseguir por mecanismos independientes de oxígeno, por acción de sustancias contenidas en los gránulos de los leucocitos: la proteína bactericida por incremento de la permeabilidad, la lisozima, la lactoferrina, la proteína básica principal y las defensinas.

Las alteraciones que suceden en el metabolismo y las membranas de los leucocitos durante la quimiotaxis, la activación y la fagocitosis dan lugar a liberación de productos,

no sólo hacia el interior del fagolisosoma, sino también a veces hacia el espacio extracelular. Estos productos son las enzimas lisosomales, los metabolitos activos de oxígeno y los metabolitos del ácido araquidónico. Poseen potentes propiedades de mediación de la lesión endotelial y tisular. Los monocitos/macrófagos producen efectos perjudiciales adicionales en la inflamación crónica. Es por ello que cuando la inflamación evoluciona de forma incontrolada, el propio infiltrado leucocitario se convierte en agente lesivo, encontrándose la lesión tisular producida por las células inflamatorias en el fondo de muchas enfermedades agudas y crónicas del ser humano.

(22)

1.2.6. Carcinogénesis

El cáncer es una enfermedad especial, que demandará eventualmente la vida de una de cada cuatro o cinco personas que lo padecen. La conciencia pública y el temor al cáncer se intensificaron durante los últimos 60 años como resultado de asociaciones extensamente publicadas entre el cáncer humano y un número de factores ambientales asociados a la tecnología moderna. Particularmente, la atención fue centrada en los riesgos carcinógenos posibles asociados a los muchos productos y subproductos de la industria química, con presión pública enorme para que la acción legislativa pronto regule la exposición humana a los agentes carcinógenos potenciales. ⁽⁸⁸⁾

En la génesis del cáncer se involucran fenómenos complejos explicados de diferentes formas a lo largo de la evolución del conocimiento científico. Varias teorías han sido sugeridas considerando los aspectos epidemiológicos, bioquímicos, genéticos y moleculares que se combinan para aceptar la carcinogénesis como un proceso de "*multietapas*", caracterizadas por alteraciones biomoleculares en especial las relacionadas con el ciclo celular. ⁽⁸⁾

Como resultado de los estudios epidemiológicos tempranos la búsqueda para las causas del cáncer fue centrada en el ambiente y los impactos potencialmente adversos de la tecnología en el ambiente atribuyéndole la causa del cáncer a las drogas, a los pesticidas, a los plásticos, a los aditivos alimenticios, y a otros materiales generados por la industria química. Ahora hay el consenso general que los hábitos personales y culturales de individuos son los determinantes predominantes del cáncer humano. Así

el tabaquismo solamente explica el cerca de 30% de todo el cáncer masculino en los Estados Unidos, y otros “malos” hábitos tales como consumo del alcohol y de la promiscuidad sexual pueden causar un 10% adicional. Se estima que los factores asociados a dieta son responsables del cerca de 35% del cáncer humano. Incluso en los países más industrializados, muy pocos cánceres se pueden atribuir a la exposición a los productos químicos sintéticos. La exposición ocupacional a una variedad de productos químicos o de procesos industriales explica probablemente no más el de 5% de cáncer humano, y la contribución total de la contaminación ambiental se estima para ser solamente 1-2%. ⁽⁸⁸⁾

En resumen son muchos los agentes que producen cáncer, pero pueden dividirse en los siguientes grupos: carcinógenos químicos, factores físicos (energía radiante) y agentes biológicos (microorganismos oncogénicos principalmente virus) ⁽²²⁾

Considerando al cáncer como una enfermedad multifactorial, de etiología discutida, donde la edad, el sexo, la raza y la herencia se reconocen como factores de riesgo la dieta, los hábitos tóxicos, el estilo de vida y el medio en general, incluyendo la infección por microorganismos, son factores que actúan sobre el genoma de las células como iniciadores ó promotores en el complejo proceso de transformación celular hacia formas de mayor complejidad biológica. Debe señalarse la relación Medio Ambiente – Herencia como los extremos de un espectro en cuyo centro se sitúa la casualidad de la mayor parte de las neoplasias que padece el hombre. ⁽⁸⁾

Algunos carcinógenos, fundamentalmente químicos, actúan directamente en las células o funcionan indirectamente después de haber sido transformados en metabolitos más reactivos. Los carciógenos que actúan directamente sobre el ADN celular reciben el nombre de genotóxicos, otros que no lo hacen de esta forma, no genotóxicos, tienen un mecanismo más controvertido que involucra la activación de receptores de superficie celular, la activación e inhibición de enzimas y factores transcripcionales, la inhibición de la apoptosis, o la citotoxicidad celular directa. ^(8, 88)

Cuando se produce una alteración del ADN se advierten 3 posibilidades para la célula: pueden actuar los mecanismos de reparación del daño y la célula regresar a la normalidad, la célula puede morir o puede pasar a ser una célula iniciada en la

transformación. La **iniciación** como cambio molecular heredable no es un evento suficiente, la proliferación de las células alteradas requiere de otro paso: la **promoción**.⁽⁸⁾

El efecto de los promotores es estimular la división celular de una célula que sufrió previamente una mutación por la acción de un agente iniciador. Al estimular el promotor la proliferación celular hacen que las células sean susceptibles a sufrir nuevas mutaciones. La célula iniciada responde ante la acción del promotor con un crecimiento distinto a las células normales.⁽⁸⁾

Dentro de los procesos de iniciación – promoción, es conveniente reflexionar sobre la gran susceptibilidad de las poblaciones celulares que han sufrido un daño inicial en el ADN, las cuales no evidencian aún cambios morfológicos identificables que permitan un diagnóstico precoz, y que son blanco fácil de las acciones promotoras de productos químicos o elementos físicos con capacidad de actuar sobre los mecanismos del control y la proliferación celular potenciando sus efectos mediante el fenómeno de sinergismo.⁽⁸⁾

La estructura de las sustancias químicas que inician la carcinogénesis es muy variada e incluye tanto a productos naturales como sintéticos. Pueden considerarse dos grupos: los que tienen acción directa, no necesitan una transformación química para desarrollar su acción y los de acción indirecta, que necesitan una conversión metabólica, llamados también procarcinógenos. Todos los carcinógenos de acción directa y definitiva tienen la propiedad común de ser electrófilos, poseen átomos deficientes en electrones y son sumamente reactivos pudiendo reaccionar con localizaciones celulares nucleófilas (ricas en electrones). Estas reacciones no son de carácter enzimático y dan lugar a compuestos covalentes entre el carcinógeno químico y un nucleótido del ADN. La mayoría de los carcinógenos necesitan una activación metabólica.⁽²²⁾

La transformación maligna se debe a mutaciones que afectan a oncogenes, genes supresores del cáncer y genes que regulan la apoptosis, debido a la acción de los productos químicos. El potencial para producir mutaciones se ha estudiado fundamentalmente mediante la prueba Ames, que mide la capacidad de un producto químico para inducir mutaciones en la bacteria *Salmonella typhimurium*. La mayoría de

los productos químicos que son mutágenos in Vitro son carcinógenos in vivo. Gracias a la elevada correlación entre mutagénesis y carcinogénesis, se recurre a menudo a la prueba Ames para estudiar la capacidad carcinógena de las sustancias químicas.⁽²²⁾

Se ha establecido que el objetivo primario de los carcinógenos químicos es el ADN y que no existe una alteración única que se asocie a la iniciación de la carcinogénesis química. No obstante, la acción de cada carcinógeno químico con el ADN, no es completamente aleatoria y cada clase de carcinógeno tiende a producir un patrón limitado de lesión en el ADN. Por lo tanto la presencia de ciertos tipos de lesiones en el ADN en tumores humanos puede proporcionar indicios moleculares sobre su causa. Aunque los carcinógenos químicos pueden afectar a la práctica la totalidad de los genes, son muy frecuentes las mutaciones en el gen ras y p53.⁽²²⁾

La secuencia iniciación-promoción de la carcinogénesis química plantea la interrogante de cómo contribuyen los promotores tumorales a la tumorogénesis si no son mutágenos. Aunque los efectos de los promotores tumorales son pleiotropos, la condición indispensable es la inducción de la proliferación celular. La respuesta de las células iniciadas a los promotores difiere de la de las células normales, ya que experimentan una expansión clonal selectiva. Estas células tienen menos necesidad de factores de crecimiento y probablemente responden menos a las señales inhibitorias del medio. Forzado a proliferar, el clon de células sufre nuevas mutaciones, hasta que desarrolle tumor maligno. Por lo tanto el proceso de promoción tumoral consta de varios pasos: proliferación de células preneoplásicas, conversión maligna y progresión del tumor.⁽²²⁾

Los agentes promotores pueden ser exógenos o endógenos. Los hidrocarburos policíclicos aromáticos desprendidos en la combustión de cigarros y tabacos representan un ejemplo de elementos exógenos muy ricos tanto en agentes iniciadores como en promotores, razón por la cual han sido empleados en modelos experimentales de carcinogénesis. También puede actuar como promotor tumoral una infección viral, que produzca lesión mística con hiperplasia reactiva. Quizás, los más peligrosos, debido a dificultad para controlarlos son los promotores endógenos, como las hormonas o las sales biliares. La ingesta de grandes cantidades de grasa en la dieta se

ha relacionado con un mayor riesgo de cáncer de colon, lo que podría depender del aumento de síntesis de ácidos biliares, que han sido demostrados ser promotores tumorales en modelos experimentales^(8, 22)

Los ERO (especies reactivas de oxígeno), incluyendo el H₂O₂ juegan un importante papel en los procesos de promoción tumoral. Utilizando un modelo de promoción tumoral in Vitro con células epiteliales ovales de hígado de rata de la línea T51B se estudió la actividad de promoción tumoral del H₂O₂ en células iniciadas con N-metil-N-nitro-N-nitrosoguanida. En este sistema se evidenció el efecto de promoción del H₂O₂ por la formación de colonias en agar blando con focos de cultivos de una capa, en los cuales hubo interrupción de la comunicación por los puentes intercelulares (GJC) y crecimiento a densidad de saturación alta. H₂O₂ preferentemente indujo la expresión de c-fos, c-jun, c-myc, egr-1; mientras que los niveles junB y junD permanecieron casi sin cambios. El H₂O₂ también indujo la hiperfosforilación del cx43 y los genes de expresión temprana (IE). Estos resultados sugieren que el H₂O₂ actúa como promotor tumoral en células hepáticas de ratas no neoplásicas de la línea T51B.^(47, 48)

La comunicación celular de célula a célula por los puentes de unión es esencial en el mantenimiento del balance homeostático en los organismos multicelulares. La comunicación intercelular aberrante ha sido implicada en la promoción tumoral, neuropatías y teratogénesis. El estrés oxidativo también ha sido implicado en patologías similares como el cáncer. Se reporta una relación potencial entre el estrés oxidativo y la GJIC. El peróxido de hidrógeno, un promotor tumoral conocido, inhibió GJIC en células hepáticas epiteliales de rata WB-F344. La inhibición de GJIC por el H₂O₂ puede ser reversible dándose la recuperación cuando este sea removido con otros medios⁽⁸¹⁾

En un análisis posterior sobre el modo por el cual se realiza la promoción tumoral por el H₂O₂ se determinó que este puede directamente inducir la tirosina fosforilación del receptor del factor del crecimiento (EGFR). El H₂O₂ y el factor del crecimiento epidermal ejercen efectos similares en la inducción de la respuesta temprana de los genes del crecimiento.^(47, 48)

Se ha sugerido que los radicales libres de oxígeno a veces están implicados en el paso inicial, sea la activación oxidativa de un procancerígeno a su forma cancerígena o en la unión de una forma cancerígena al ADN, o ambos. Por lo tanto, están probablemente implicados en un número sustancial de reacciones de iniciación cancerígena, sin embargo, la promoción prácticamente siempre implica radicales, por lo menos a cierto nivel.⁽⁶⁷⁾

Muchos promotores tumorales son agentes inflamatorios que estimulan la formación de radicales de oxígeno (O_2^-) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en los neutrófilos fagocíticos. Los neutrófilos usan radicales de oxígeno para matar a las bacterias que son reconocidas por la membrana celular de células fagocíticas ocasionando una señal para elevar la respuesta del oxígeno. El promotor tumoral aislado de aceite de croton 12-O-tetradecanoil-forbol-13 acetato (TPA) mimetiza la señal para matar las bacterias causando liberación de radical de oxígeno que daña las células del huésped. Los radicales de oxígeno ocasionan simple rotura de la cadena de ADN o modifican sus bases. Estas reacciones dañinas parecen ser relacionadas con la promoción tumoral.⁽⁸⁰⁾

Por otro lado se ha hallado que el trans-tamoxifeno (TAM) que ha sido usado exitosamente en terapia de tumores humanos de mama estrógeno dependientes y en la prevención de su recurrencia, cuyo mecanismo de acción se pensaba era la interferencia con los estrógenos, inhibe totalmente la formación de H_2O_2 por neutrófilos humanos tratados con 12-O-tetradecanoil-forbol-13-acetato (TPA).⁽⁵⁷⁾

1.2.7. Lesiones precancerosas y cáncer bucal

Leucoplasia

La leucoplasia es un término clínico que se ha utilizado durante años para indicar una placa de color blanco que se presenta en la superficie de la membrana mucosa en todo el cuerpo, la cual no puede ser caracterizada clínica o histopatológicamente como ninguna otra enfermedad. En el 1983 en el Seminario Internacional sobre leucoplasia oral y lesiones asociadas relacionadas con los hábitos tabáquicos en Malmö se precisa en la definición que no está asociada a ningún agente etiológico físico o químico a excepción del consumo de tabaco. En el Simposium Internacional sobre Lesiones

Orales Blancas en Uppsala en 1994 se llegó a la siguiente definición “Una leucoplasia es una lesión predominantemente blanca de la mucosa oral que no puede ser caracterizada como ninguna otra lesión definible”. En forma análoga una eritroplasia es lesión de la mucosa oral que se presenta como área roja y no puede ser caracterizada como ninguna otra lesión definible. ^(37, 70)

Estudios observacionales y de seguimiento han proporcionado evidencias que la leucoplasia oral es precancerosa, encontrando que un gran número de carcinomas orales se asocian a áreas de leucoplasia, algunas leucoplasias muestran características histopatológicas parecidas a las encontradas en los epitelios no tumorales adyacentes a un cáncer oral (displasia oral) y primordialmente porque algunas de las leucoplasias han evolucionado clínicamente con el tiempo desarrollando carcinoma epidermoide. ⁽⁷⁰⁾

La proporción de lesiones que experimentan una transformación neoplásica varía considerablemente, siendo en muchos estudios los factores etiológicos diferentes, que pueden afectar una población y no otra, es decir, la influencia geográfica. También si los estudios realizados son randomizados en la población general o en pacientes hospitalizados. Así la tasa de transformación maligna oscila entre 3 a 18%. ⁽¹³⁾

Clínicamente se distinguen dos tipos de leucoplasia homogénea y no homogénea. La leucoplasia homogénea se ha relacionado con un menor potencial de transformación. Entre las características clínicas que influyen en el pronóstico de la leucoplasia se encuentran la localización, el color y la textura. Las lesiones del suelo de la boca, surco vestibular inferior y zona retromolar tienen mayor riesgo de transformarse en carcinoma. Las lesiones no homogéneas de color, especialmente blancas con un componente rojo son de riesgo mas alto. Las formas clínicas nodulares que se encuentran frecuentemente infectadas por Cándida, también son de mayor riesgo. La leucoplasia verrugosa proliferativa es otra forma que presenta gran potencial maligno.

El factor que más intensamente condiciona el potencial maligno de una leucoplasia es la presencia de displasia epitelial en el análisis histopatológico. En la mayoría de las leucoplasias se presentan primordialmente cambios epiteliales de tipo benigno (hiperplasia epitelial, hiperqueratosis y acantosis). Los cambios displásicos aparecen con mucha menor frecuencia. Se ha encontrado que las lesiones no displásicas o con displasia leve se transformaban en carcinomas en 3%, mientras que las lesiones con forma severa de displasia en 43%. ⁽¹³⁾

Displasia epitelial.

La displasia engloba diferentes cambios estructurales del epitelio, combinándose fenómenos histológicos que indican un desorden de la maduración epitelial y la proliferación celular. Se consideran como signos de maduración desordenada: la hiperplasia irregular y/o atrofia; profundización de los procesos epiteliales en el corion; estratificación irregular; queratinización de células individuales; disminución de la cohesión de las células epiteliales; pleomorfismo celular. ^(14, 37)

Por otro lado las manifestaciones de los disturbios en la proliferación celular son: pérdida de la polaridad de las células basales; hiperplasia de células basales, incremento de la relación núcleo-citoplasma; nucleolos agrandados; alto número de mitosis; mitosis en las capas superficiales del epitelio; mitosis anormales.

No es común que todos los trastornos histopatológicos se presenten en la misma lesión, dándose un número elevado de distintas combinaciones. La gravedad de una displasia depende de la cantidad de trastornos epiteliales en la misma lesión. Hay un alto porcentaje de subjetividad en el diagnóstico especialmente de la displasia leve y moderada con la observación microscópica.

La displasia epitelial severa y el carcinoma in situ se refieren a la misma lesión prácticamente. Cuando los fenómenos característicos para la displasia se extienden a todo el grosor del epitelio oral o la aparición de rasgos marcados de displasia localizados en una zona concreta del epitelio. El carcinoma in situ es un cáncer localizado sólo a nivel de epitelio que no ha roto la membrana basal y por lo tanto no es capaz de producir metástasis. ^(13, 37)

Cáncer oral

Con el término cáncer oral se hace referencia a tumores malignos que afectan a los labios, la lengua, el suelo de la boca, las glándulas salivales, la faringe y el resto de localizaciones dentro de la boca, correspondiendo la mayor parte de los casos a carcinoma epidermoide.

El carcinoma epidermoide se caracteriza por proliferación de nidos o cordones de células epiteliales atípicas en el tejido conectivo. La malignidad de este depende del

grado de diferenciación que presenta. El cáncer pobremente diferenciado es difícil de establecer el tejido de origen debido a un intenso pleomorfismo celular y nuclear, aumento de la relación núcleo/citoplasma y elevado número de mitosis, muchas de ellas atípicas. ^(37, 70)

Factores etiológicos y de riesgo en lesiones precancerosas y cáncer oral

Muchos de los estudios sobre la prevalencia de la leucoplasia oral han sido en países asiáticos. En promedio se presenta entre 1% y 5%. ⁽³⁷⁾

La etiología de la leucoplasia es variada, considerándose como factores determinantes agentes locales extrínsecos y como predisponentes factores intrínsecos. Los factores causales más frecuentes son el tabaco, el alcohol, la sepsis bucal (infecciones por microorganismos o virus), irritaciones locales. ^(37, 70)

Entre los factores intrínsecos predisponentes o sistémicos se han considerado la sífilis, deficiencias vitamínicas, daños hepáticos, alteraciones endocrinas entre otros.

Se ha citado el tabaco como el agente agresor más frecuente. Varios de los componentes químicos del tabaco, así como los productos finales de combustión, el alquitrán y las resinas, son sustancias capaces de participar en la producción de esta lesión, y el calor desarrollado en el proceso de fumar. Se ha descrito la estomatitis nicotínica en los fumadores de pipa. Por otro lado, debido a la progresiva presión social sobre los fumadores se dan otras formas de consumo de tabaco no molestas para los no fumadores, como el tabaco en polvo depositado en el surco vestibular (snuff) y el tabaco de mascar, estas formas de consumo de tabaco también se asocian con el desarrollo de leucoplasia. Algunos estudios dan prioridad a la cantidad de cigarrillos al día, otros al tiempo del hábito de consumo de tabaco. ^(37, 70)

También se ha sugerido el alcohol como irritante para la mucosa, sin embargo como generalmente los que ingieren alcohol en grandes cantidades también son fumadores no se ha disgregado el papel individual de este factor. El etanol no es un carcinógeno a nivel experimental animal y no se sabe cual es el mecanismo por el que favorece la carcinogénesis oral. Se toman las siguientes posibilidades: la malnutrición, la posible contaminación de las bebidas con sustancias carcinogénicas (nitrosaminas, hidrocarburos), el alcohol induce la activación enzimática mediada por el citocromo P450 que puede activar metabólicamente ciertos carcinógenos, también el daño

hepático producido por el alcohol puede reducir la detoxificación de carcinógenos y así aumentar la exposición celular a ellos.^(13, 37)

El papel atribuido a determinados enjuagues bucales como agentes causantes de precáncer y cáncer oral se debe que algunos de ellos contenían cantidades variables de etanol (entre 7% y 27%) y podrían actuar en forma similar a las bebidas alcohólicas. Se ha publicado también la posible relación entre el producto antiplaca viadent en pasta y enjuague, fabricado con extractos de la planta Sanguinaria canadensis L y la aparición de leucoplasia en la zona vestibular superior.⁽¹³⁾

El traumatismo o la irritación crónica local, como maloclusiones que ocasionan mordeduras crónicas del carrillo, bordes filudos, prótesis mal adaptadas constituyen factores de irritación crónica asociados a esta lesión.^(13, 37, 70)

Se han analizado algunas deficiencias nutricionales implicadas en el desarrollo de lesiones precancerosas y cáncer. La deficiencia de la vitamina A se reconoce que produce metaplasia y queratinización de estructuras epiteliales, lo cual podría ser implicado en el desarrollo de la leucoplasia. Se han asociado dietas pobres en frutas y verduras y ricas en carnes rojas con mayor riesgo de cáncer. En animales de laboratorio la vitamina E inhibe la carcinogénesis oral, mientras las deficiencias de hierro la favorecen. La elevada tasa de cáncer oral en los pacientes con anemia perniciosa sugiere que la vitamina B12 u otros nutrientes pueden influir en el riesgo de la enfermedad.^(13,37)

Así mismo la presencia de Cándida Albicans ocurre con mucha frecuencia concomitantemente con la leucoplasia. Sin embargo es discutible su papel iniciador de la lesión o la instalación de la candidiasis como aspecto secundario a la leucoplasia. Al margen de ello, se ha encontrado una asociación significativa entre la infección por hongos y la presencia de displasia epitelial moderada y severa en biopsias de lesiones precancerosas de cavidad oral. Además, un porcentaje significativamente mayor de las displasias infectadas por hongos aumentó en severidad cuando se practicó una segunda biopsia en comparación con las displasias no infectadas. Podría aceptarse un incremento del riesgo de desarrollo de cáncer para este tipo de lesiones. Los mecanismos implicados se relacionan con la producción de nitrosaminas derivados del metabolismo de estos microorganismos, que pueden interactuar con otros carcinógenos o directamente sobre la célula epitelial activando los protooncógenes.

La presencia del PVH en lesiones con leucoplasia presenta una notable variación dependiendo de la técnica utilizada de identificación del virus y la conservación de las muestras en fresco o congelado, siendo el promedio de 15%, siendo los tipos virales más frecuentes asociados a leucoplasia oral 6 y 11, presentando muy bajo riesgo para desarrollo de cáncer oral. Los tipos de PVH que se relacionan con alto riesgo de cáncer son 16, 18, 31 y 45; mientras que los tipos 33, 35 y 39 se relacionan con riesgo moderado. ^(13, 37)

La ocurrencia de agregaciones familiares sugiere la existencia de factores genéticos predisponentes.

1.2.8. Blanqueadores dentales

La coloración dentaria es frecuente y puede ser causada por coloración de las superficies dentarias debido a la dieta como sucede con el consumo de té, café o vino o ciertos productos químicos como los enjuagatorios con clorhexidina. Además puede ser causada por patología dental del desarrollo o factores del ambiente incluyendo coloración por tetraciclina, caries dental o necrosis pulpar.

El manejo de la coloración dentaria es tan variado como son las causas, extendiéndose desde la remoción de la coloración superficial por pulido con pastas abrasivas, microabrasión, blanqueamiento de dientes vitales y no vitales hasta formas más destructivas como restauración con coronas. Estos métodos aplicados por profesionales en odontología y personal auxiliar son más costosos y laboriosos. Por lo tanto hay interés de desarrollar métodos de remoción de manchas y blanqueamiento dental en casa. ⁽¹⁹⁾

Los compuestos de peróxidos han sido usados en varios procedimientos dentales por muchos años. Los reportes sobre uso de peróxidos en blanqueadores dentales pueden tener más de un siglo. Actualmente los peróxidos que contienen los blanqueadores utilizados se pueden clasificar en tres categorías:

- Con alta concentración de peróxido de hidrógeno (30-35%) o peróxido de carbamida (35%) para uso solamente profesional
- Materiales dispensados por los dentistas y usados por los pacientes en casa (hasta 10% de peróxido de hidrógeno o 16% de peróxido de carbamida)

- Productos de venta libre y disponibilidad directa con contenido de peróxido de hidrógeno hasta 6% ⁽⁵⁶⁾

Existen una gran variedad de pastas dentales blanqueadoras en el mercado. Generalmente el peróxido de hidrógeno en las pastas dentales se encuentra en concentración de 0.75%. El monitoreo para efectos adversos por la Asociación Americana de Cosméticos, artículos de tocador y fragancias indicaron la misma frecuencia y tipo de reacciones adversas que para las demás pastas dentales sin peróxido de hidrógeno, es decir, una reacción adversa por cien mil productos vendidos.

⁽²³⁾

Muchos estudios han tenido por objetivo la comprobación de la eficacia de las pastas dentales blanqueadoras en la inhibición o reducción de la coloración extrínseca de los dientes naturales generalmente con grupo control de pastas dentales fluoradas. En un estudio se compararon 39 agentes. Los resultados fueron que sólo 3 pastas lograron la remoción de la mancha 100% en los 5 minutos. La mayoría de los agentes tenían baja remoción total química y tiempo prolongado de acción.^(71, 83).

Para el tratamiento de blanqueamiento externo son utilizados métodos variados: el de blanqueamiento en el consultorio, blanqueamiento asesorado por el dentista diurno o nocturno con cubeta individual preparada o aplicación de tiras y el realizado en casa con productos de venta libre con el objeto de remoción de manchas intrínsecas de los dientes con propósitos estéticos. El actual mecanismo se basa en la habilidad del peróxido de hidrógeno a penetrar las estructuras dentarias producir radicales libres que oxidan las manchas orgánicas en el diente.⁽⁷¹⁾

Varios estudios in Vitro e in Vivo con concentraciones variadas de peróxido de hidrógeno o peróxido de carbamida como ingrediente activo primario han demostrado la eficacia del blanqueamiento externo. Por ejemplo los siguientes productos blanqueadores contienen diferentes concentraciones del agente activo primario y por lo tanto el tiempo de aplicación varía.

Producto	Sustancia activa
pH	

Opalescente 10%	Peróxido de carbamida al 10% (aprox. 3.4% H ₂ O ₂)
7.8	
Opalescente PF 15%	Peróxido de carbamida al 15% (aprox. 5.1% H ₂ O ₂)
7.9	
Opalescente Quick	Peróxido de carbamida al 35% (aprox. 11.9%H ₂ O ₂)
7.0	
Opalescente Extra Boost	Peróxido de hidrógeno al 35%
5.5	
Rapid White	Cloruro de Sodio
3.7	
Whitestrips	Peróxido de hidrógeno al 6%
6.4	

El tratamiento de blanqueamiento diario y total utilizado para cada producto:

Producto	Tiempo diario	Tratamiento total
Opalescente 10%	8 h diarias	80 h
Opalescente PF 15%	4 h diarias	40 h
Opalescente Quick	1 h, día 1 y 5	2 h
Opalescente Extra Boost	30 min dos veces diarias dia 1 y 5	2 h
Rapid White	20 min diarias	200 min
Whitestrips	30 min dos veces al día	10 h

En este estudio se concluyó que se puede incrementar la claridad dentaria cuando se incrementa la concentración de los gels aplicados o cuando se realiza un tratamiento de mayor duración. ⁽⁸⁷⁾

Sobre el efecto de la concentración del peróxido de hidrógeno en los productos blanqueadores en otro estudio in Vitro se utilizaron gels de 5%, 10%, 15%,25% y 35% para blanquear terceras molares extraídas y coloreadas con solución estandarizada de te. El número de aplicaciones necesarias (aplicación igual 3x10min) varió desde doce para el gel con 5% hasta una para el de 35%. Relacionando el número de aplicaciones con la concentración del H₂O₂ se perfiló una curva exponencial de respuesta más que lineal. ⁽⁷⁴⁾

El efecto blanqueador se debe a la degradación de moléculas orgánicas complejas de alto peso molecular que reflejan ondas de luz específicas, responsables del color del teñido. Los productos resultantes de la degradación son de menor peso molecular y son moléculas menos complejas que reflejan menos la luz y resultan en la reducción o eliminación de la coloración. Ambos, la dentina y el esmalte cambian de color como resultado del fácil pasaje del peróxido y la urea a través del diente. Se han desarrollado tiempos de tratamientos largos para situaciones difíciles. Las manchas oscuras de tabaco pueden requerir como tres meses de tratamiento. Los dientes coloreados por tetraciclina respondían a tratamiento nocturno de dos a seis meses, aunque no llegando a la coloración normal dentaria. ⁽³²⁾

La duración del efecto blanqueador es variada. En un estudio se reporta que después de 18 meses del blanqueamiento el 74% de los pacientes exhibían color estable y después de 3 años el 62%. (44, 58)

En otro estudio el 17% de las personas no encontraban cambios obvios en el color en el periodo de 13 a 25 meses después del tratamiento, mientras que 57% observaron ligero oscurecimiento, pero no notable por otras personas. Para el intervalo de 75 a 89 meses después del tratamiento 10% (3 personas) respondió que no había cambios obvios en el color, 25% (7 personas) que había ligero oscurecimiento, pero no observable por otras personas y 48% (14 personas) que había algún oscurecimiento, pero se habían retratado hasta llegar a color aceptable. ⁽⁵⁴⁾

Se utilizan diferentes técnicas para blanqueamiento en casa. El peróxido se puede aplicar en cubetas fabricadas por el dentista o disponibles comercialmente. Posteriormente se introdujeron comercialmente tiras de peróxido de hidrógeno de 6 a 14%. Las cintas se usan dos veces al día por 30 minutos por 14 días. Recientemente hay gels disponibles para pincelar las superficie dentaria. Estos gels se aplican durante la noche por un determinado periodo. ⁽⁷²⁾

Factores de consideración en el uso de productos de blanqueamiento

El riesgo de efectos adversos no ha sido el enfoque principal en el diseño de estudios clínicos de blanqueamiento dental externo. Por ejemplo para un incremento del riesgo en 10% cuando la frecuencia es 1: 1000 se debería contar con más de 10 000 personas. Casi no hay artículos sobre los efectos a largo plazo, a pesar que los

primeros artículos sobre blanqueamiento dental nocturno fueron publicados hace 15 años. Por lo tanto no se puede evaluar el número de efectos adversos a esta etapa. ^(24, 72)

Condiciones tales como daños tisulares preexistentes o uso continuo de alcohol y/o tabaco cuando se utilizan blanqueadores dentales pueden exacerbar sus efectos tóxicos. El peróxido de hidrógeno aun en concentraciones tan bajas como 3% puede ser especialmente dañino en tejidos injuriados previamente ⁽⁶⁸⁾. Por lo tanto se debe tomar cuidados particulares en administrar agentes blanqueadores a pacientes con gingivitis, enfermedad periodontal o lesiones gingivales preexistentes o aquellos que son consumidores de alcohol y/o tabaco. ⁽⁷⁷⁾

La sensibilidad dentaria es el efecto colateral común del blanqueamiento dental. Datos de varios estudios revelaron que más de 65% de los pacientes reportaron sensibilidad dentaria. Ocurre generalmente en el etapa inicial del tratamiento y es transitoria. La sensibilidad dentaria normalmente persiste por 4 días después del cese del tratamiento, pero también se ha reportado duración más de 39 días.

Por otro lado 25 a 40% de los pacientes reportaron irritación gingival durante el tratamiento.

Todos los materiales blanqueadores demuestran difusión del peróxido de hidrógeno a través de la dentina. Pocos investigadores se han interesado por los posibles efectos fisiopatológicos en tejidos bucales y pulpar de tratamientos de larga duración. Las creencias de seguridad de uso se basan primordialmente en usos previos de los peróxidos como enjuagues de uso corto coayudantes a la higiene bucal de rutina. Es importante la investigación sobre el efecto a largo plazo sobre la pulpa. La pulpa dental es vulnerable a través de la dentina expuesta en pacientes con retracción gingival y la encía puede exponerse directamente al peróxido de hidrógeno durante el tratamiento. Cantidadas significativas de peróxidos se difunden después de aplicación de blanqueadores con peróxido de hidrógeno o peróxido de carbamida. ⁽⁴²⁾

Con respecto a la liberación de mercurio de las amalgamas dentales, los datos de laboratorio señalan que la cantidad de mercurio varía con el tipo de amalgama y tipo de blanqueador, y está entre 4 a 30 veces mayor que en los controles. ⁽⁷⁵⁾

Se ha sugerido que el blanqueamiento puede aumentar la solubilidad del ionómero de vidrio y otros cementos.

Además la fuerza de adhesión entre esmalte y dentina dentaria y materiales de resina se reduce durante las primeras 24 horas después del blanqueamiento. Por lo cual se debe esperar para la realización de restauraciones una o dos semanas después del blanqueamiento para asegurar suficiente adherencia y retención a los dientes. También es motivo de posponer un tiempo las restauraciones para la selección apropiada del color.

En el caso de cintas blanqueadoras, se ha reportado que el usuario puede ocasionalmente deglutar la cinta. Esto significará exposición a 12 mp de peróxido de hidrógeno. En varios de estos casos se reportaron síntomas gastrointestinales menores. El lavado gástrico con 4-10 mg de peróxido de carbamida produjo ulceraciones de la mucosa gástrica de ratas en 1 hora. ⁽²⁴⁾

Otro aspecto analizado es la mutagenicidad del peróxido de hidrógeno. ECETOC, 1996 reportó mutación en sistemas in Vitro de genes de *Salmonella Typhimurium*, *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisce* y células mamíferas; daño primario de reparación de ADN; aberraciones cromosómicas en células mamíferas debido a peróxido de hidrógeno. ⁽³⁰⁾

También se encontró que el peróxido de hidrógeno al 0.2 µg/ml induce transformación celular en hámsteres sirios en ensayos embrionarios ⁽⁶²⁾

Con respecto a la genotoxicidad en vivo estudios con metodología moderna han explorado la reparación del ADN en células de hígado de ratas con administración de peróxido de hidrógeno intravenosa por 30 min. ⁽¹⁷⁾, así como también se ha investigado la formación de micro núcleos en ratones con dos semanas de beber agua con peróxido de hidrógeno ⁽²⁹⁾ o después de una inyección peritoneal simple, todos estos casos con resultados negativos.

Además el peróxido de hidrógeno amplió la transformación iniciada por el MNI N-metil-N-nistosoulea de las células MYP3 de la línea de células del epitelio de la vejiga de ratas. Más aun el peróxido sólo también produjo transformación. La transformación inducida por ambas sustancias o el peróxido de hidrógeno sólo formó carcinoma de células transicionales de alto grado cuando fueron inyectadas en ratas denudadas. ⁽⁶⁵⁾

Existen también reportes de toxicidad aguda por peróxido de hidrógeno por ingestión en niños y por irrigación abundante de herida granulomatosa ^(3,20)

También se ha reportado embolia por oxígeno en varios infantes después de irrigación intestinal con peróxido de hidrógeno para remover meconium de los intestinos. ⁽²⁶⁾

Se ha observado toxicidad por dosis repetidas en ratas a los cuales se les administraba peróxido de hidrógeno en el agua de beber con dosis mayores a 1% presentaron pronunciada pérdida de peso y muerte. ⁽³¹⁾

El peróxido de hidrógeno tiene débil potencial para inducir efecto carcinógeno local como un carcinógeno completo y como promotor tumoral. Los mecanismos de acción no son claro, pero no se puede excluir el mecanismo genotóxico. Con respecto a la promoción tumoral pueden operar varios mecanismos: genotoxicidad directa, alteración de la reparación del ADN y la inflamación crónica.

El abuso de tabaco y alcohol son el riesgo principal para el cáncer de la cavidad bucal . Si el peróxido de hidrógeno puede actuar como promotor, puede incrementar el riesgo de cáncer bucal en personas que ya tienen el riesgo incrementado debido al uso de tabaco, el abuso del alcohol o la predisposición genética. ⁽⁷²⁾

Defectos genéticos proporcionan a los humanos mayor susceptibilidad al peróxido de hidrógeno. La acatalasemia es deficiencia genética de la catalasa eritrocítica. Los individuos acatalasémicos son más susceptibles al peróxido de hidrógeno por el desorden hereditario de tipo autonómico recesivo en sus enzimas metabólicas.. Este padecimiento es raro de 0.2 a 0.4%. Existen dos variantes: la suiza, donde la mutación del gen se traduce en la producción de una catalasa inestable que facilita las infecciones por estreptococos y neumococos y la japonesa (enfermedad de Takahara) que ocurre generalmente en el Oriente, donde hay síntesis disminuida de la catalasa y las manifestaciones son infecciones a nivel bucal. ⁽⁷²⁾

Otro grupo de individuos más sensibles al peróxido de hidrógeno son las personas con deficiencia de 6GPD (6-glucoso fosfato dehidrogenasa), un desorden genético de los eritrocitos que produce inestabilidad de las células afectadas para mantener los niveles suficientes de NADPH para la reducción del glutation oxidado. ⁽⁷²⁾

Un tercer grupo de personas que pueden ser más sensibles al peróxido de hidrógeno son las personas con xerostomía, cuando las glándulas salivales son inactivas y se afecta la degradación de los peróxidos.

IARC ha concluido que el peróxido de hidrógeno presenta evidencias “limitadas” de carcinogenicidad en animales experimentales ⁽⁷²⁾

Debido a la degradación del peróxido de hidrógeno en la cavidad bucal es improbable que el uso de blanqueadores represente riesgo de cáncer bucal en personas que no tienen el riesgo incrementado.

Las membranas biológicas son altamente permeables al peróxido de hidrógeno y se espera que este es tomado rápidamente por las células de la superficie, pero al mismo tiempo es efectivamente metabolizado por ellas. No está claro hasta que punto la sustancia puede llegar a la circulación sanguínea sin cambios.

Sin embargo, basándose en un caso clínico se ha sugerido estudios sobre cáncer bucal en pacientes usuarios de blanqueadores dentales⁽¹¹⁾

Por otra parte referente a los aspectos legales no se exige advertencia en EEUU por peróxido de hidrógeno en soluciones hasta 5%. Las soluciones de 5 a 20% son etiquetadas como dañinas debido a irritación ocular o cutánea. De acuerdo a Annex III de las Directivas de los Productos Cosméticos los productos de higiene bucal no deben contener más de 0.1% de peróxido de hidrógeno.⁽⁷²⁾

La Comisión Europea de Salud y protección del consumidor concluye lo siguiente en relación al uso de productos blanqueadores:

El uso de productos blanqueadores con peróxido de hidrógeno o lo equivalente para sustancias liberadoras de peróxido de hidrógeno hasta 0.1% es seguro. El uso de sustancias con más de 0.1% hasta 6% se considera seguro después de consultar al dentista. Los datos nuevos no proveen la solidez necesaria para demostrar la seguridad de uso de productos blanqueadores con peróxido de hidrógeno hasta 6% de venta libre y disponibilidad directa para el consumidor en sus diferentes formas (cubetas, tiras, etc.). Se debe tener cuidado particular con el uso de productos blanqueadores por personas con gingivitis u otra enfermedad periodontal o restauraciones defectuosas. Condiciones tales como lesiones tisulares previas o uso de tabaco y alcohol pueden exacerbar los efectos tóxicos del peróxido de hidrógeno. También precisa que no puede cuantificar el riesgo potencial de serios efectos adversos en relación al uso de productos blanqueadores.

1.2.9. Definición de abreviaciones

Por la naturaleza del tema hubo la necesidad de utilizar algunas abreviaciones que se especifican a continuación:

DMBA – Dimetilbenzantraceno, hidrocarburo aromático policíclico utilizado como carcinógeno

ERO (inglés ROS) – Especies Reactivas de oxígeno incluye moléculas con inestabilidad de electrones altamente reactivas como radicales libres y otros que tienen facilidad de formarlos

RL – radicales libres moléculas o atomos que tienen por lo menos un electrón no apareado

IARC - Agencia Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer

TPA - 12-o tetradecanoil-forbol 13 acetato, promotor tumoral

ADN – Acido desoxirribonucleico

ADA - Asociación Dental Americana

SCCP - Comité Científico de la Comisión Europea de Defensa del Consumidor sobre cosméticos y productos no alimenticios

CAT- Catalasa

GPx- Glutation peroxidasa

SOD- Superoxido dismutasa

AA- Acido araquidónico

MPO- mieloperoxidasa, enzima de los PMNs

1.3. Sistema de hipótesis

Hipótesis General

LA APLICACIÓN TÓPICA PROLONGADA DEL PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN LA MUCOSA BUCAL DEL HAMSTER PRODUCE CAMBIOS QUE DEPENDEN DE LA CONCENTRACIÓN DE ESTE.

Hipótesis de trabajo

H₁: La aplicación tópica prolongada del peróxido de hidrógeno al 3% en la mucosa bucal del hámster produce cambios preneoplásicos.

H₂: La aplicación tópica prolongada del peróxido de hidrógeno al 30% en la mucosa bucal del hámster produce cambios cancerígenos.

1.4. Operacionalización de variables

VARIABLES PRINCIPALES DEL ESTUDIO

VARIABLES	RELACIÓN CAUSAL	NATUR.	NIVEL	INDICADOR
-----------	-----------------	--------	-------	-----------

PRINCIPALES			MEDIC.	
APLICACIÓN TÓPICA DE PERÓXIDO HIDRÓGENO EN CONCENTRACIÓN DIFERENTE	INDEPEND.	CUALIT.	ORDINAL	H2O2 AL 3% H2O2 AL 30%
CAMBIOS EN LA MUCOSA DEL HÁMSTER	DEPENDIENTE			
	DIMENSIONES			
	<ul style="list-style-type: none"> • GROSOR DEL EPITELIO • GROSOR DE LA CAPA DE QUERATINA • CAPAS DE CÉLULAS ESPINOSAS • PAPILOMATOSIS • CRESTAS EPITELIALES PRONUNCIADOS • HIPERCROMATISMO NUCLEAR • INTERRUPCIÓN DE LA MEMBRANA BASAL • DISPLASIA • CARCINOMA • CÉLULAS INFLAMATORIAS EN EL TEJIDO CONECTIVO 	CUANT. CUANT. CUANT. CUALIT. CUALIT. CUALIT. CUALIT. CUALIT. CULIT. CUALIT.	PROPOR. PROPOR. PROPOR. NOMINAL NOMINAL NOMINAL NOMINAL ORDINAL NOMINAL ORDINAL	mm mm número presen/ausen presen/ausen presen/ausen presen/ausen leve moderada severa presen/ausen abundante regular escasa

II. PROBLEMA DE ESTUDIO

2.1. Planteamiento del problema

El peróxido de hidrógeno tiene un amplio uso en odontología, como por ejemplo para desinfección de heridas, en irrigación de conductos, para prevención y control de la enfermedad periodontal y para blanqueamiento dental. Aunque este último tiene cerca de un siglo de estar aplicándose resurge en la actualidad debido a una gran demanda por los criterios estéticos que prevalecen y la sociedad de consumo que promociona el uso de estos productos. Incluso se trata el tema de blanqueamiento en adolescentes y niños. Lo más preocupante es la existencia de productos de venta libre y disponibilidad directa para el público.

Por otro lado las investigaciones acerca de los efectos del peróxido de hidrógeno tienen largo tiempo, pero aun no se llega a una conclusión definitiva, no se ha hecho un seguimiento a los casos de blanqueamiento que pueden tener ya 15 o más años, los diseños de los estudios generalmente son enfocados sobre la evaluación clínica de la efectividad de los blanqueadores dentales y son pocos los estudios acerca de los efectos en la mucosa bucal y en el organismo.

Es por ello que este estudio plantea analizar si el agua oxigenada (peróxido de hidrógeno) en distintas concentraciones tiene potencial carcinogénico sobre la mucosa bucal de hámsteres.

Formulándonos el problema

¿El uso del peróxido de hidrógeno al 3 y 30% aplicado en forma tópica sobre la mucosa oral del hámster produce cambios histológicos en esta?

2.2. Justificación

El uso de varios materiales y sustancias en odontología siempre ha sido relacionado con la preocupación acerca de su inocuidad y estudios a diferentes niveles de la

bioseguridad de los materiales. Los resultados de estos estudios no siempre coinciden y despiertan inquietudes y nuevos enfoques en la investigación.

Particularmente en relación al agua oxigenada o el peróxido de hidrógeno y su uso en la odontología existen dos momentos importantes.

En primer lugar la utilización de peróxido de hidrógeno como uno de los componentes de la fórmula de Keyes para tratamiento no quirúrgico de la enfermedad periodontal que consideraba el uso de peróxido de hidrógeno, bicarbonato de sodio y cloruro de sodio en forma simultánea o en forma individual para control de los microorganismos periodontopáticos y como un método accesible para el paciente que le permita evitar el avance de la enfermedad en forma casera. Los reportes científicos acerca de la efectividad de este método son contradictorios, algunos favorables que muestran resultados positivos de mejoramiento de la salud gingival en estudios clínicos (2, 10, 60, 86), otros que no encuentran diferencias con grupos control (33, 85) y los que no son favorables y advierten riesgos de irritaciones en los tejidos de la cavidad bucal (59, 79). El avance y las prácticas posteriores dieron énfasis en aplicación de productos más efectivos como por ejemplo la clorexidina.

Por otra parte la priorización en la actualidad de la necesidad de blanqueamiento dental y su demanda cada vez más frecuente por las personas actualiza la inquietud acerca de la seguridad de uso del peróxido de hidrógeno. Sabemos que las distintas formas de blanqueamiento pueden implicar: un régimen de duración relativa, en el tratamiento por lo general la duración es aproximadamente de dos semanas de uso nocturno por el paciente de cubetas con gel de peróxido de carbamida al 10%, el cual se descompone en peróxido de hidrógeno al 3% (1, 44, 54). Así mismo el uso de pastas y enjuagues dentales que contienen peróxido de hidrógeno como elemento blanqueador y cuyo uso es de criterio del paciente, es decir, estos productos están en venta libre y disponibilidad directa. Por otro lado, en coloraciones difíciles como las producidas por tetraciclina o por tabaco y de otra naturaleza se ha utilizado el blanqueamiento por varios meses y en concentraciones mucho más altas (72)

Es por todo ese amplio espectro de uso del peróxido de hidrógeno en el campo de la odontología que existe la necesidad de evaluación de la seguridad de uso de esta sustancia.

2.3. Objetivos de la investigación

Objetivo general:

Determinar los cambios histológicos que produce la aplicación tópica del peróxido de hidrógeno en diferentes concentraciones sobre la mucosa oral del hámster.

Objetivos específicos:

1. Evaluar los cambios histológicos que produce la aplicación tópica del peróxido de hidrógeno al 3 % en la mucosa bucal del hámster (grupo experimental A).
2. Evaluar los cambios histológicos que produce la aplicación tópica del peróxido de hidrógeno al 30 % en la mucosa bucal del hámster (grupo experimental B).
3. Evaluar los cambios histológicos que produce la aplicación tópica del agua destilada en la mucosa bucal del hámster (grupo control C).
4. Comparar los cambios histológicos entre los grupos con aplicación tópica de peróxido de hidrógeno al 3%, 30% y agua destilada en la mucosa bucal del hámster.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Tipo de Estudio

La presente investigación es experimental, transversal y prospectiva. El carácter experimental se debe al análisis de los cambios que ocurren bajo cierta condición de intervención organizada, transversal debido a una evaluación al finalizar el experimento y prospectiva debido al registro de la información conforme ocurren los hechos. Específicamente el diseño experimental es tipo casos y control en animales de laboratorio, donde se crearon condiciones para observar el efecto de la variable independiente aplicada en concentraciones variadas. Es un estudio de bioseguridad de segundo nivel.

3.2. Población y muestra

Siendo la naturaleza del presente estudio, una interrogante acerca de la bioseguridad de una solución utilizada, se consideró conveniente el estudio *in vivo* en animales de laboratorio en función de indagar sobre los posibles efectos indeseables de esta sustancia.

La elección del animal de laboratorio a utilizar se basó en las características que este posee, los antecedentes de investigaciones anteriores, así mismo en las posibilidades de su adquisición, mantenimiento y manipulación.

Se seleccionó como más apropiado para el estudio el hámster dorado, llamado también hámster sirio o como la nomenclatura lo designa *Mesocricetus auratus*.

Las características únicas del hámster dorado, tales como la tolerancia inmunogénica para los tumores, parásitos, virus y bacterias; la posesión de dobles bolsas reversibles en las mejillas que sirven como una ventana natural para la investigación microscópica

de la corriente sanguínea y el crecimiento de tumores transplantados y de órganos embrionarios; su larga papilla renis que permite la microcaracterización de los ductos colectores de la papila renal y el análisis de la orina; la susceptibilidad a caries dental; la degeneración muscular debido a la deficiencia de la vitamina E; el fenómeno de hibernación y otros importantes propiedades han sido explorados en los laboratorios a través del mundo entero haciendo del hámster dorado un animal de laboratorio dotado e invaluable para cierta clase de investigación biomédica.

El trabajo se realizó en el Bioterio del Instituto de Investigación de Altura de la U.P.C.H.

Unidad de análisis

La unidad de análisis está representada por mucosa bucal de la bolsa de la mejilla del hámster, en la cual se aplicó la sustancia objeto del estudio (peróxido de hidrógeno en concentraciones de 3% o 10 volúmenes y de 30% o de 100 volúmenes y el agua destilada para el grupo control) y la cual fue sometida a biopsia y estudio histológico, para observar los cambios en la mucosa a nivel de epitelio y tejido conectivo subyacente.

Muestra

La muestra fue constituida por 60 hámsteres dorados machos de aproximadamente un mes y medio de edad y peso alrededor de 100 g. Los hámsteres fueron divididos aleatoriamente en tres grupos con 20 hámsteres cada grupo.

Grupo A : Aplicación de peróxido de hidrógeno al 3%

Grupo B : Aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%

Grupo C : Control con aplicación de agua destilada

3.3. Material y método

3.3.1. Procedimientos y Técnicas

Procedimientos experimentales

1. Los hámsteres fueron identificados individualmente y grupalmente con un número (de 1 a 20 en el grupo A, de 21 a 40 en el grupo B y de 41 a 60 en el grupo C) mediante el sistema de perforación y muescas en la oreja para la observación y registro de los cambios correspondientes.
2. Se ubicaron cinco hámsteres por jaula, disponiendo así de 11 jaulas en total (4 A, 4B y 3C).
3. Se realizó control del peso mensual.
4. Los procedimientos de limpieza del jaula y baño a los hámsteres fue Quincenal
5. El tiempo de ambientación de los hámsteres con agua y alimentos ad libitum fue de dos semanas
6. La aplicación del peróxido de hidrógeno en los grupos experimentales y en el grupo control se dio tres veces por semana (lunes, miércoles y sábado) con micropipeta graduable en la cantidad de 2 ml por aplicación, usando tips descartables.
7. La hora aproximada de la aplicación fue de 11 am, considerando que el hámster es un animal nocturno y las mayores actividades de alimentación y otras las realiza durante la noche, tratando de evitar la influencia de los alimentos en la acción de la sustancia aplicada.
8. Antes de la aplicación se realizaba palpación de las mejillas para evaluar si algunos hámsteres tenían alimentos almacenados en la bolsa y en el caso se presentaba esta situación se expulsaba el contenido masajeando suavemente la mejilla en dirección a la boca hasta que el hámster botaba todo el contenido.
9. La alimentación fue suspendida dos horas antes y después de la

aplicación. El agua se suspendía 2 horas después.

10. La duración del estudio fue de seis meses (24 semanas por 3 aplicaciones semanalmente un total de 72 aplicaciones por animal)
11. El sacrificio de los animales se realizó en una campana de cristal en la cual se colocaba una gasa embebida con cloroformo.
12. Se realizó biopsia de las bolsas de la mejilla derecha e izquierda;
13. Se hizo preparación de cortes histológicos y coloración con hematoxilina-eosina.

3.3.2. Recolección de Datos

La técnica de recolección de datos fue de observación microscópica con microscopio óptico binocular de luz incorporada a un aumento de 40x 10 y un ocular graduado con mediciones para poder medir el grosor del epitelio poliestratificado. También se realizó conteo de las capas de células espinosas. Se registraron los hallazgos histológicos en un ficha de registro de información, la cual se presenta en el anexo 30

3.3.3. Procesamiento y análisis de la información

Los datos fueron procesados con el software estadístico SPSS versión 13 y las tablas con Excel.

Se utilizó el gráfico de caja y control para comparación entre las muestras debido a que utiliza como parámetro de tendencia central la mediana que en distribuciones de tipo diferente de la normal es mejor representante de lo característico del grupo. También se utilizaron gráficos de barras para comparar aspectos cualitativos expresados en porcentajes.

Se analizó las distribuciones de los datos con la prueba de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk.

Considerando que la mayoría de los conjunto de datos presentaban distribuciones distintas de la normal se utilizaron pruebas no paramétricas de comparación de los grupos aun cuando la variable fue cuantitativa.

En este caso se utilizaron las siguientes pruebas estadísticas de contrastación:
Kruskal-Wallis para comparar tres o más grupos independientes (las características de grosor del epitelio , grosor de la capa de queratina y capas de células espinosas entre los grupos con H₂O₂ al 30%, 3% y agua destilada)

Mann Whitney para comparar dos muestras independientes agrupando H₂O₂ 30%-H₂O₂ 3%; H₂O₂ 3%-AD

Wilcoxon de rangos con signo para comparar dos muestras independientes: lado de aplicación y no aplicación para cada uno de los grupos de estudio

Chi cuadrada para comparar asociación entre variables nominales (presencia/ausencia de papilomatosis y/o las demás características entre los grupos de estudio)

IV. RESULTADOS

Los resultados muestran el efecto del peróxido de hidrógeno en concentraciones al 30% y 3% sobre la mucosa bucal de la mejilla del hámster dorado. El periodo de aplicación fue de 24 semanas, con aplicaciones tres veces semanalmente con una micropipeta depositando la sustancia en la bolsita de la mejilla del hámster. El grupo control recibió aplicación de agua destilada por el mismo periodo de tiempo y con la misma frecuencia. Se evaluó los cambios que se produjeron en las características histológicas del epitelio escamoso poliestratificado en los tres grupos experimentales: el de H₂O₂ al 30%, el de H₂O₂ al 3% y el de agua destilada en ambos lados de aplicación de la sustancia respectiva (bolsa de la mejilla derecha) y el otro lado de no aplicación de la sustancia (bolsa de la mejilla izquierda).

Es así que el primer hallazgo registrado fue el gran engrosamiento del epitelio poliestratificado del lado de la aplicación de la sustancia en los grupos con aplicación de peróxido de hidrógeno. El aumento del grosor total del epitelio poliestratificado fue mayor en el grupo con aplicación de H₂O₂ al 30%, lo cual fue estadísticamente significativo comparando con el grupo de H₂O₂ al 3% y con el grupo de agua destilada. También se presentó aumento del grosor total del epitelio polietratificado en el grupo con H₂O₂ al 3% en comparación con el grupo de agua destilada, diferencia estadísticamente significativa como se muestra en Tabla y Gráfico Nº1.

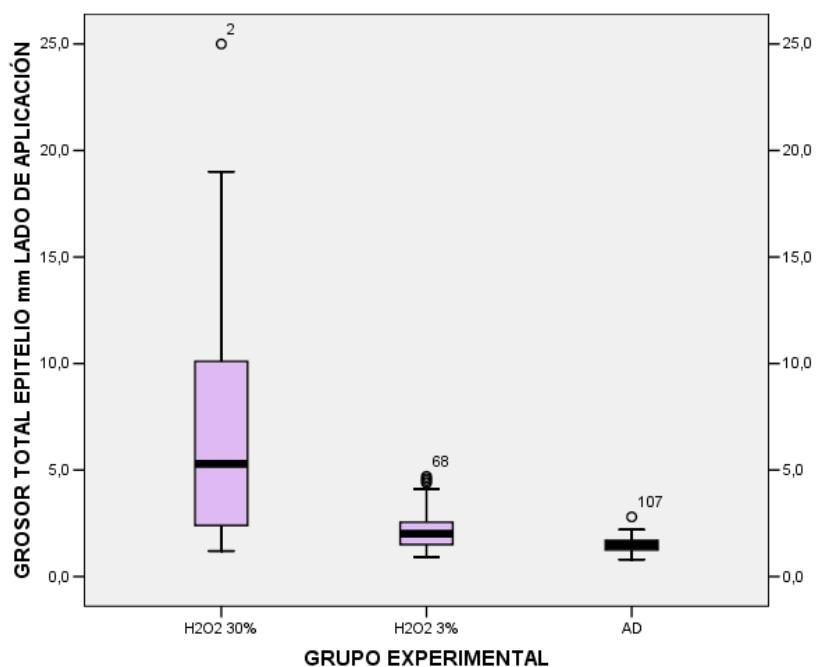
Tabla 1. Comparación del grosor total del epitelio poliestratificado (mm) entre los grupos con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%, 3% y agua destilada. LADO DE APLICACIÓN.

Parametro de evaluación	Lado de aplicación		
	H ₂ O ₂ 30%	H ₂ O ₂ 3%	Agua destilada
MEDIA	7.33	1.96	1.4
S	6.09	0.79	0.43
MEDIANA	5.3	1.85	1.3
RANGO	7.8	0.7	0.4

INTERCUARTILICO

n	20	20	20
Prueba de normalidad		anexo 1	
H ₂ O ₂ 30%-3%-AD Kruskal - Wallis p 0.000		anexo 1	
H ₂ O ₂ 30%-3% Mann Whitney p 0.000		anexo 1	
H ₂ O ₂ 3% - AD Mann Whitney p 0.000		anexo 1	

Gráfico 1. Grosor total del epitelio. Lado de aplicación.



Esta característica de aumento del grosor total del epitelio poliestratificado, se pudo observar en forma similar también en el lado de no aplicación de la sustancia en los grupos experimentales con H₂O₂ al 30% y al 3% y la diferencia presentada en este lado de no aplicación fue de la misma forma significativa. Tabla y Gráfico N°2.

Tabla 2. Comparación del grosor total del epitelio poliestratificado (mm) entre los grupos con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%, 3% y agua destilada.

LADO DE NO APLICACIÓN

Parametro de evaluación	Lado de no aplicación		
	H ₂ O ₂ 30%	H ₂ O ₂ 3%	Agua destilada
MEDIA	5.69	2.32	1.5
S	4.56	1.36	0.75
MEDIANA	5	2	1.5
RANGO			
INTERCUARTILICO	4.6	0.9	0.8
n	20	20	20

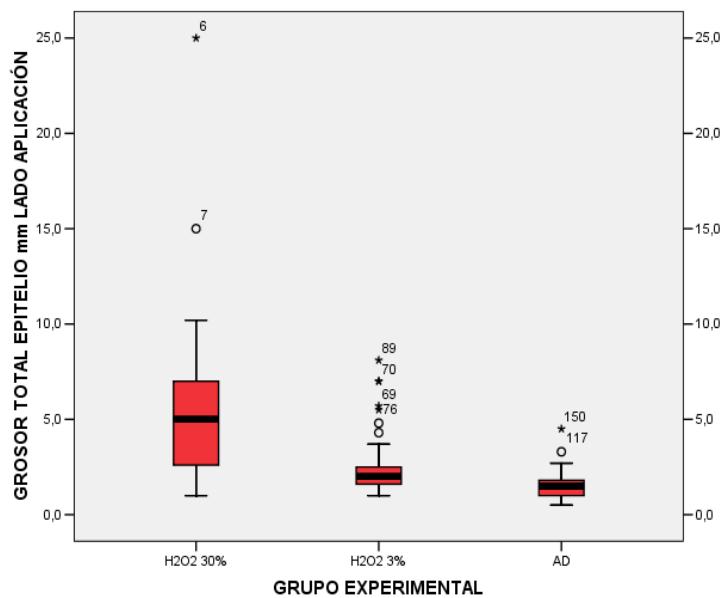
Prueba de normalidad anexo 2

H₂O₂ 30%-3%-AD Kruskal - Wallis p 0.000 anexo 2

H₂O₂ 30%-3% Mann Whitney p 0.000 anexo 2

H₂O₂ 3% - AD Mann Whitney p 0.000 anexo 2

Gráfico 2. Grosor total del epitelio. Lado de no aplicación.



Por lo tanto en los grupos experimentales con H₂O₂ al 30% y al 3%, se presentó un aumento significativo del grosor total del epitelio poliestratificado así como al lado de aplicación también en el lado de no aplicación al comparar con el grupo de agua destilada; y lo que respecta al grupo con agua destilada no hubo aumento del grosor del epitelio en ninguno de los lados. Es decir, en todos los grupos experimentales, el lado de aplicación y no aplicación se comportaron en forma similar, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre ellos. Tablas y Gráficos N° 3, 4 y 5 ($p>0.05$)

Tabla 3. Comparación del grosor del epitelio poliestratificado (mm) en el grupo con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%.

LADO DE APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN.

GRUPO		Lado aplicación	Lado no aplicación
EXPERIMENTAL			
MEDIA		7.33	5.69
S		6.09	4.56
MEDIANA		5.3	5
RANGO			
INTERCUARTILICO		7.8	4.6
n		20	20

Test de Wilcoxon de rangos con signo p 0.966 anexo 3

Gráfico 3. Grosor total del epitelio con H₂O₂ al 30%.

LADO DE APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN

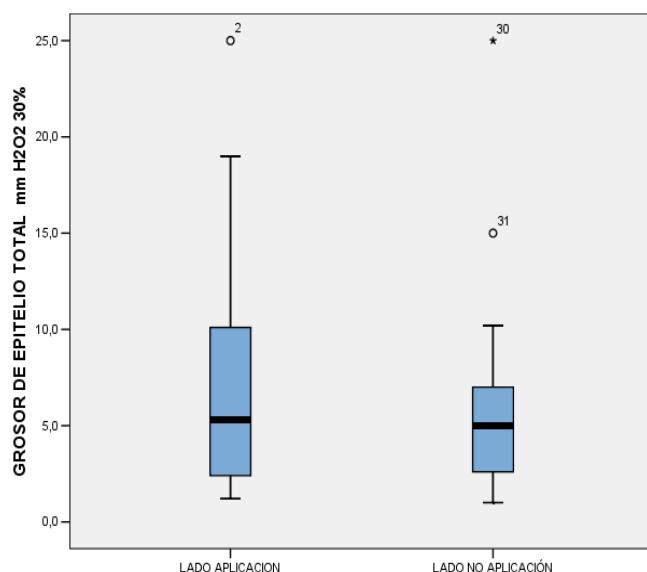


Tabla 4. Comparación del grosor total del epitelio poliestratificado (mm) en el grupo con H₂O₂ al 3%. LADO DE APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN.

GRUPO		Lado aplicación	Lado no aplicación
EXPERIMENTAL			
MEDIA		2.18	2.32
S		0.88	1.36
MEDIANA		2	2
RANGO			
INTERCUARTILICO		1.1	0.9
n		78	78

Test de Wilcoxon de rangos con signo p 0.095 anexo 4

Gráfico 4. Grosor total del epitelio con H₂O₂ al 3%.

LADO DE APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN.

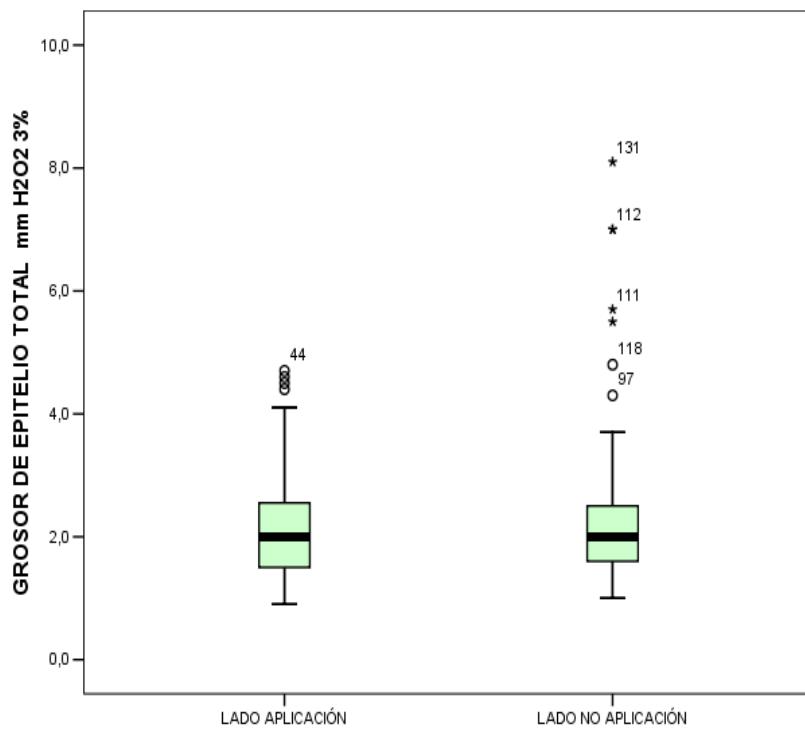


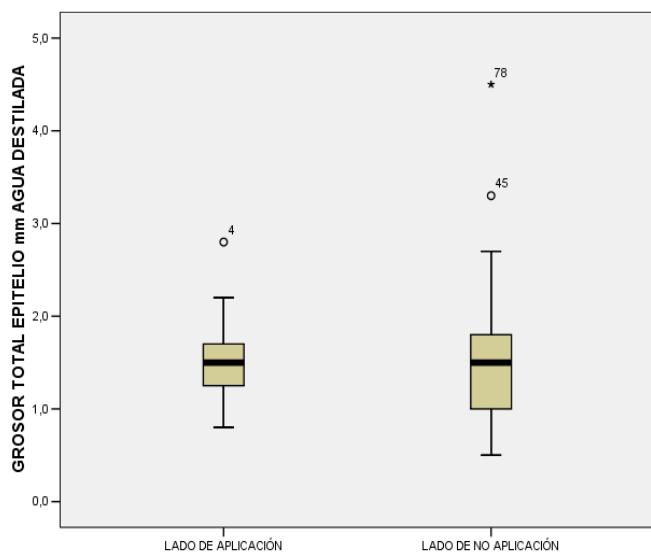
Tabla 5. Comparación del grosor total del epitelio poliestratificado (mm) en el grupo con aplicación de AGUA DESTILADA. LADO DE APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN.

GRUPO EXPERIMENTAL	Lado aplicación	Lado no aplicación
MEDIA	1.52	1.5
S	0.38	0.75
MEDIANA	1.5	1.5
RANGO		
INTERCUARTILICO	0.5	0.8
N	40	40

Test de Wilcoxon de rangos con signo p 0.480 anexo 5

Gráfico 5. Grosor total del epitelio con agua destilada.

LADO DE APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN.



Habiendo encontrado influencia de la aplicación del H_2O_2 al 30% y 3% en el aumento del grosor del epitelio poliestratificado de la mucosa bucal del hámster se consideró de interés la precisión, si este aumento del grosor era a expensas de aumento de una mayor producción de queratina (una hiperqueratinización) o a expensas de proliferación del estrato celular escamoso (acantosis) o de ambos procesos. Por lo cual se determinó el grosor de la capa de queratina de los grupos experimentales en ambos lados de aplicación y de no aplicación de la sustancia en estudio. Así como también se realizó el conteo de número de capas de células a nivel del estrato espinoso en los grupos en ambos lados.

Con respecto al grosor de la capa de queratina se halló engrosamiento significativo de esta, lo cual fue mucho mayor en el grupo con H_2O_2 al 30% en comparación con el grupo con H_2O_2 al 3% y también en comparación con el grupo de agua destilada (Mann Whitney p 0.000 y p 0.022 respectivamente). Tabla y Gráfico Nº6.

Tabla 6. Comparación del grosor de la capa de queratina del epitelio poliestratificado (mm) entre los grupos con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%, 35 y agua destilada. LADO DE APLICACIÓN.

Parametro de evaluación	Lado de aplicación		
	H_2O_2 30%	H_2O_2 3%	Aqua destilada

MEDIA	1.37	0.55	0.4
S	0.85	0.41	0.23
MEDIANA	1.1	0.4	0.3
RANGO			
INTERCUARTILICO	1.5	0.3	0.3
n	20	20	20

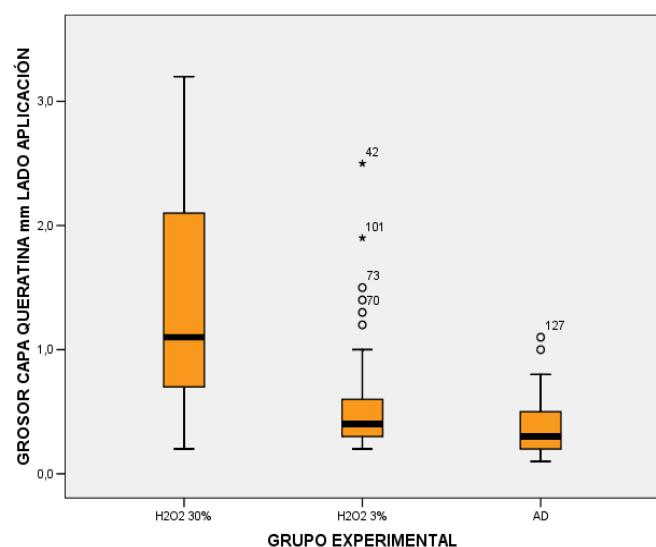
Prueba de normalidad anexo 6

H₂O₂ 30%-3%-AD Kruskal - Wallis p 0.000 anexo 6

H₂O₂ 30%-3% Mann Whitney p 0.000 anexo 6

H₂O₂ 3% - AD Mann Whitney p 0.022 anexo 6

Gráfico 6. Grosor de la capa de queratina. LADO DE APLICACIÓN.



Este hallazgo que se dio en el lado de aplicación, se presentó en forma muy similar en el lado de no aplicación de la sustancia, en lo que la tendencia de aumento del grosor de la capa de queratina se refiere en los grupos con aplicación de peróxido de hidrógeno, siendo estadísticamente significativo con respecto al grupo con agua destilada (Kruskal-Wallis p 0.000). Sin embargo, el aumento fue en proporciones mucho menores que en el lado de la aplicación, es así que en este lado de la no aplicación no se observó diferencia significativa entre los grupos con H₂O₂ al 30% y con H₂O₂ al 3% (Mann Whitney p 0.131) lo que si se dio en el lado de aplicación de la sustancia. Tabla y Gráfico N°7.

Tabla 7. Comparación del grosor de la capa de queratina del epitelio poliestratificado (mm) entre los grupos con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%, 35 y agua destilada. LADO DE NO APLICACIÓN.

Parametro de evaluación	Lado de no aplicación		
	H ₂ O ₂ 30%	H ₂ O ₂ 3%	Agua destilada
MEDIA	0.96	0.71	0.38
S	0.77	0.69	0.28
MEDIANA	0.7	0.5	0.3
R			
INTERCUARTILICO	1	0.4	0.3
n	27	77	40

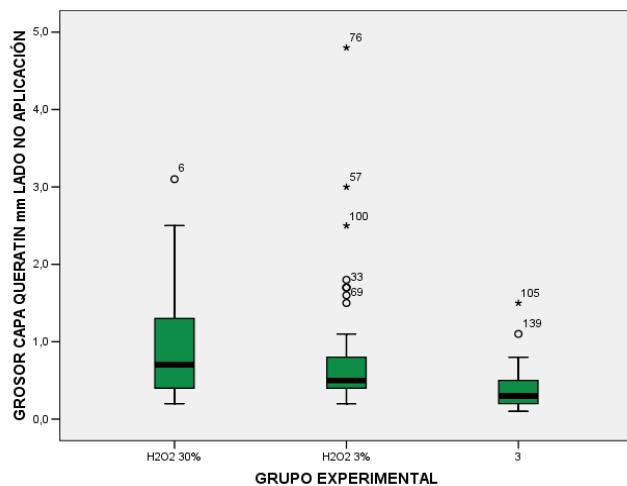
Prueba de normalidad anexo 7

H₂O₂ 30%-3%-AD Kruskal - Wallis p 0.000 anexo 7

H₂O₂ 30%-3% Mann Whitney p 0.131 anexo 7

H₂O₂ 3% - AD Mann Whitney p 0.000 anexo 7

Gráfico 7. Grosor de la capa de queratina. LADO DE NO APLICACIÓN.



Al comparar los lados de aplicación y no aplicación entre los grupos experimentales de H₂O₂ al 30%, al 3% y el de agua destilada con respecto al grosor de la capa de queratina no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre los lados. Tablas y Gráficos Nº 8, 9 y 10.

Tabla 8. Comparación del grosor de la capa de queratina del epitelio poliestratificado (mm) en el grupo con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%.

LADO DE APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN.

GRUPO		
EXPERIMENTAL	Lado aplicación	Lado no aplicación
MEDIA	1.37	0.96
S	0.85	0.77
MEDIANA	1.1	0.7
RANGO		
INTERCUARTILICO	1.5	1
n	20	26

Test de Wilcoxon de rangos con signo p 0.187 anexo 8

Gráfico 8. Grosor de la capa de queratina con H₂O₂ al 30%.

LADO DE APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN.

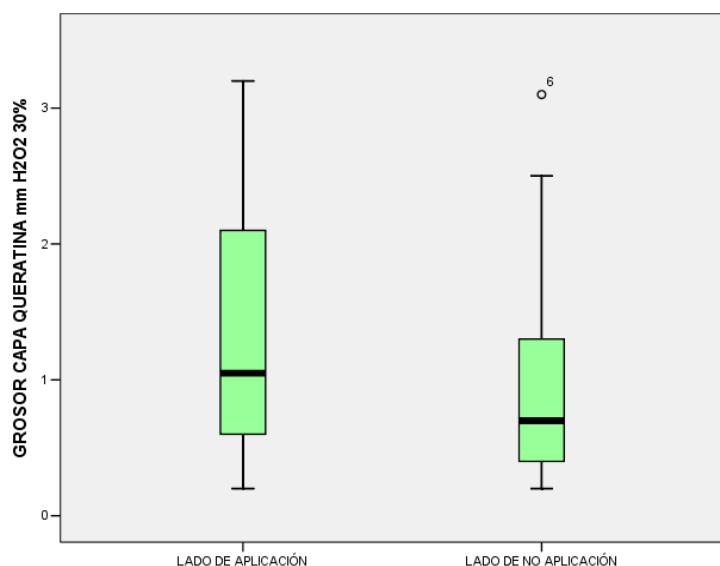


Tabla 9. Comparación del grosor de la capa de queratina del epitelio poliestratificado (mm) en el grupo con aplicación de peróxido de hidrógeno al 3%.

LADO DE APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN.

GRUPO		
EXPERIMENTAL	Lado aplicación	Lado no aplicación
MEDIA	0.55	0.71
S	0.41	0.69
MEDIANA	0.4	0.5
RANGO		
INTERCUARTILICO	0.3	0.4
N	20	77

Test de Wilcoxon de rangos con signo p 0.250 anexo 9

Gráfico 9. Grosor de la capa de queratina con H₂O₂ al 3%.
LADO DE APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN.

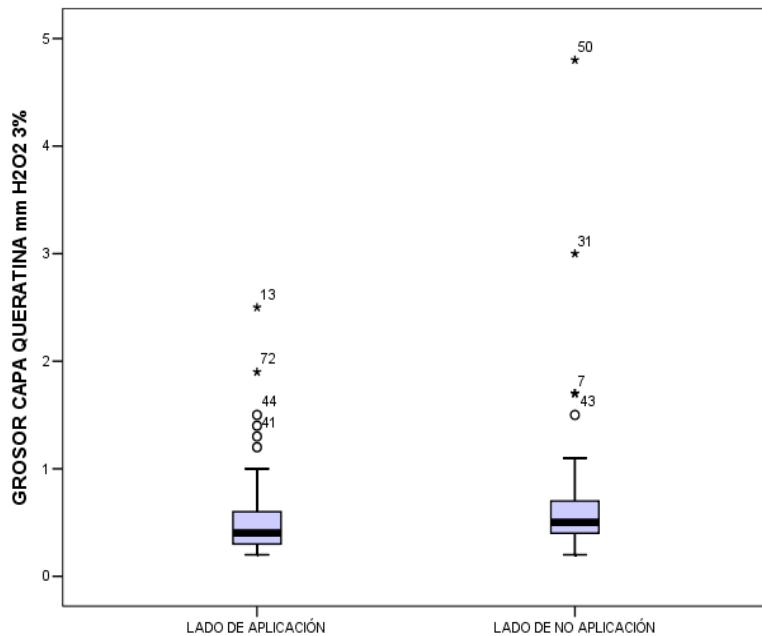


Tabla 10. Comparación del grosor de la capa de queratina del epitelio poliestratificado (mm) en el grupo con aplicación de agua destilada.

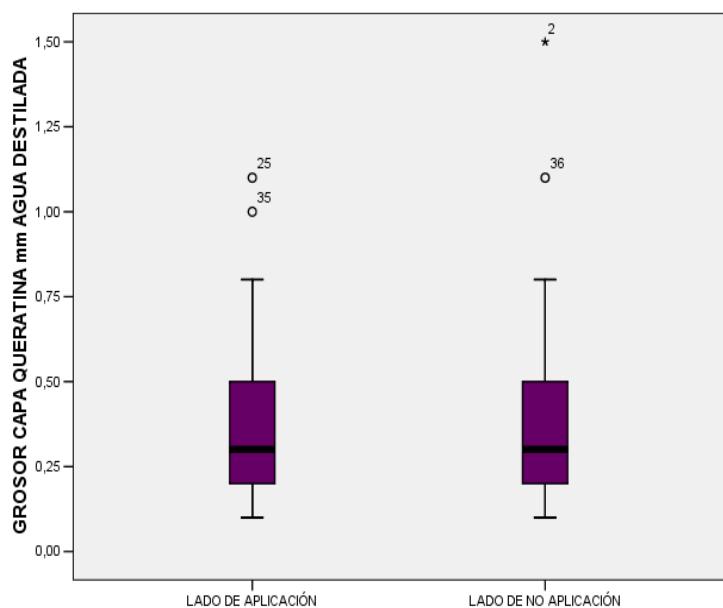
LADO DE APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN.

GRUPO EXPERIMENTAL	Lado aplicación	Lado no aplicación
MEDIA	0.4	0.38
S	0.23	0.28
MEDIANA	0.3	0.3
RANGO		
INTERCUARTILICO	0.3	0.3
n	20	40

Test de Wilcoxon de rangos con signo p 0.590 anexo 10

Gráfico 10. Grosor de la capa de queratina con agua destilada.

Lado de aplicación y no aplicación.



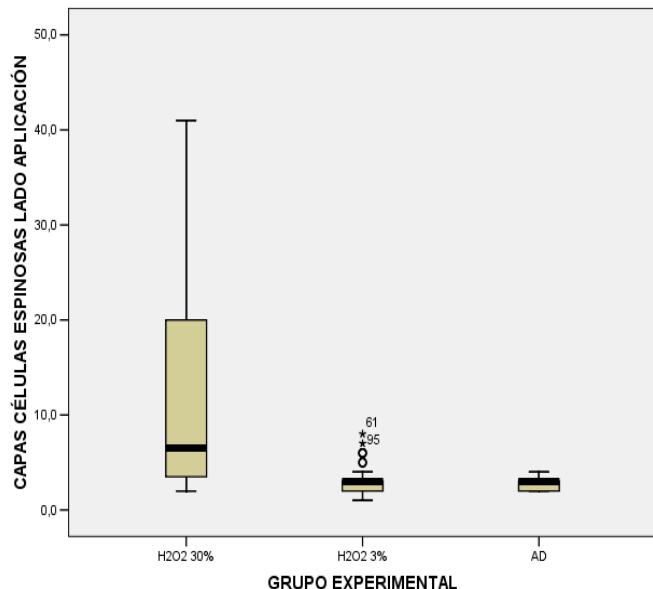
A parte de la hiperqueratosis que se produjo con la aplicación del peróxido de hidrógeno, la otra causa del aumento del grosor del epitelio poliestratificado fue la acantosis, es decir, la hiperplasia o aumento del número de células a nivel del estrato espinoso. Esto fue sumamente notorio en el grupo con H_2O_2 al 30% comparado así como con el grupo de H_2O_2 al 3%, también comparado con el grupo de agua destilada (Kruskal-Wallis p 0.000). Sin embargo, aunque el aumento de número de células espinosas fue menor en el grupo con H_2O_2 al 3% también este aumento fue estadísticamente significativo al comparar con el grupo de agua destilada (Mann Whitney p 0.014) Tabla y Gráfico N°11.

Tabla 11. Comparación de las capas de células espinosas del epitelio poliestratificado entre los grupos con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%, 3% y agua destilada.
LADO DE APLICACIÓN.

Parametro de evaluación	Lado de aplicación		
	H_2O_2 30%	H_2O_2 3%	Agua destilada
MEDIA	12.25	3.15	2.6
S	11.73	1.28	0.59

MEDIANA	6.5	3	3
RANGO			
INTERCUARTILICO	17	1	1
n	27	78	42
Prueba de normalidad		anexo 11	
H2O2 30%-3%-AD	Kruskal - Wallis p 0.000	anexo 11	
H2O2 30%-3%	Mann Whitney p 0.000	anexo 11	
H2O2 3% - AD	Mann Whitney p 0.014	anexo 11	

Gráfico 11. Capas de células espinosas. LADO DE APLICACIÓN.



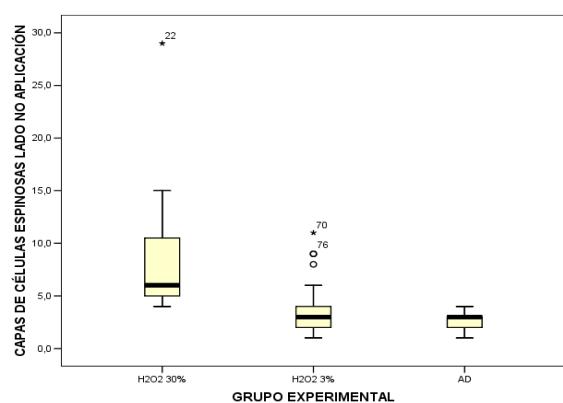
Se presentó este cuadro de acantosis manifiesta también en el lado de no aplicación de la sustancia en ambos grupos con aplicación de peróxido de hidrógeno de 30% y de 3%. (Kruskal Wallis p 0.000). En este lado si se halló diferencia entre el grupo con H₂O₂ 30% y el grupo con H₂O₂ 3%, así como entre el grupo con H₂O₂ 3% con el grupo de agua destilada (Mann Whitney p 0.000 y p 0.004 respectivamente) Tabla y Gráfico N° 12.

Tabla 12. Comparación de las capas de células espinosas entre los grupos con aplicación de peróxido de hidrógeno al 305, 3% y agua destilada.
LADO DE NO APLICACIÓN.

Parametro de	Lado de no aplicación
--------------	-----------------------

evaluación	H ₂ O ₂ 30%	H ₂ O ₂ 3%	Agua destilada
MEDIA	8.37	3.32	2.55
S	5.47	1.71	0.64
MEDIANA	6	3	3
RANGO	6	2	1
INTERCUARTILICO	6	2	1
n	27	78	38
Prueba de normalidad		anexo 12	
H ₂ O ₂ 30%-3%-AD Kruskal - Wallis p 0.000		anexo 12	
H ₂ O ₂ 30%-3% Mann Whitney p 0.000		anexo 12	
H ₂ O ₂ 3% - AD Mann Whitney p 0.004		anexo 12	

Gráfico 12. Capas de células espinosas. LADO DE NO APLICACIÓN.



Al comparar el lado de aplicación y de no aplicación de la sustancia como en las ocasiones anteriores no se halló diferencia entre ellos ($p>0.05$) Tablas y Gráficos N° 13, 14 y 15.

Tabla 13. Comparación de las capas de células espinosas del epitelio poliestratificado en el grupo con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%.

LADO DE APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN.

GRUPO EXPERIMENTAL	Lado aplicación	Lado no aplicación
MEDIA	12.25	8.37
S	11.73	5.47
MEDIANA	6.5	6
RANGO	17	6

INTERCUARTILICO

n	27	27
Test de Wilcoxon de rangos con signo	p 0.614	anexo 13

Gráfico 13. Capas de células espinosas con H₂O₂ al 30%.

LADO DE APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN.

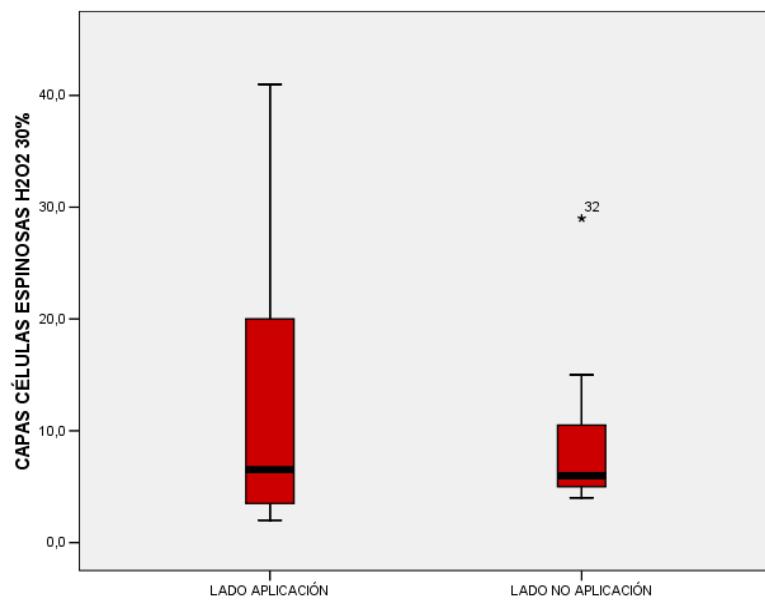


Tabla 14. Comparación de las capas de células espinosas en el grupo con aplicación de peróxido de hidrógeno al 3%. LADO DE APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN.

GRUPO EXPERIMENTAL	Lado aplicación	Lado no aplicación
MEDIA	3.15	3.32
S	1.28	1.71
MEDIANA	3	3
RANGO		
INTERCUARTILICO	1	2
N	78	78

Test de Wilcoxon de rangos con signo p 0.605 anexo 14

Gráfico 14. Capas de células espinosas con H₂O₂ al 3%.

LADO DE APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN.

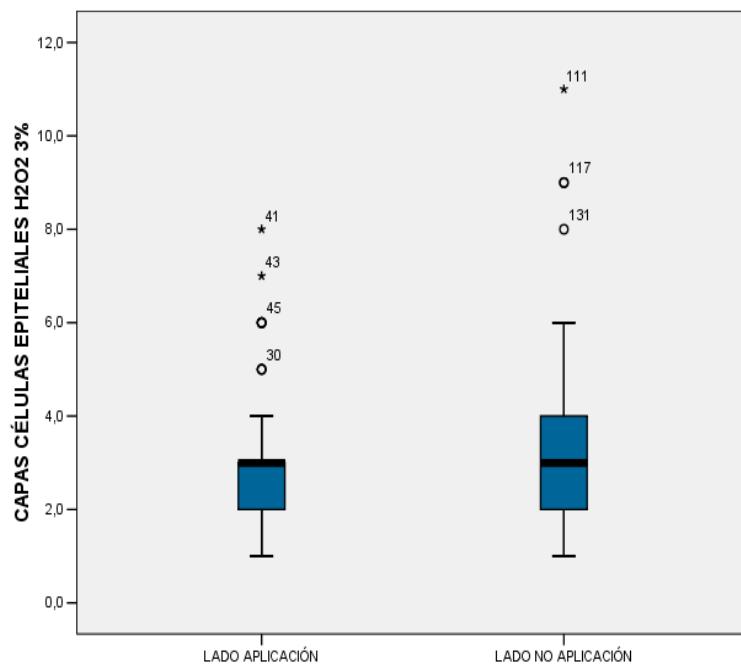


Tabla 15. Comparación de las capas de células espinosas del epitelio poliestratificado en el grupo con aplicación de agua destilada.

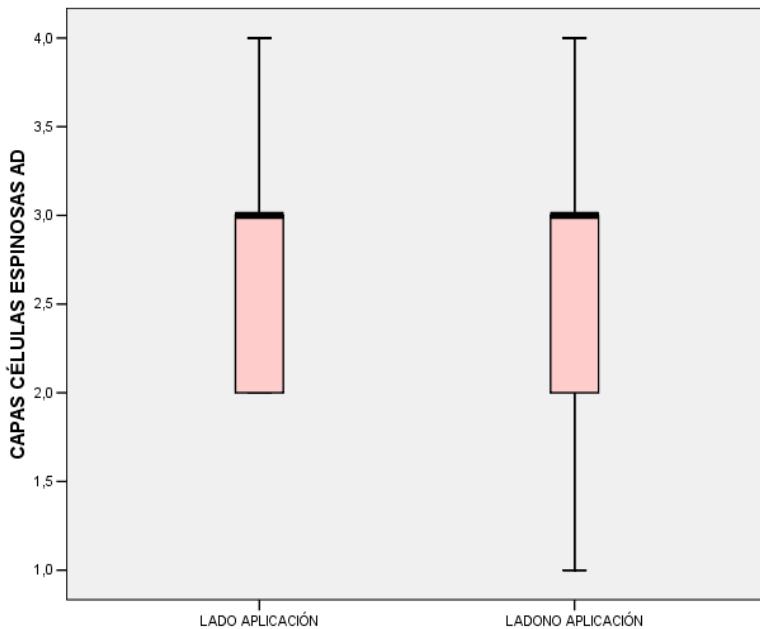
LADO DE APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN.

GRUPO EXPERIMENTAL	Lado aplicación	Lado no aplicación
MEDIA	2.6	2.55
S	0.59	0.64
MEDIANA	3	3
RANGO		
INTERCUARTILICO	1	1
N	42	38

Test de Wilcoxon de rangos con signo p 0.683 anexo 15

Gráfico 15. Capas de células espinosas con agua destilada.

LADO DE APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN.



Se analizaron también otras características histológicas del epitelio poliestratificado de la mucosa bucal del hámster como la presencia de papilomatosis, de crestas epiteliales pronunciado, de hipercromatismo nuclear y la solución de continuidad de la membrana basal.

En el lado de aplicación de la sustancia respectivas se halló diferencia significativa entre los grupos experimentales en lo que respecta a la presencia de crestas epiteliales pronunciados (Tabla y Gráfico N° 18 Chi cuadrada p 0.001), a la presencia de hipercromatismo nuclear (Tabla y Gráfico N° 20 Chi cuadrada p 0.031) y la interrupción de la membrana basal (Tabla y gráfico N° 22 Chi cuadrada p 0.043). Sólo no hubo diferencia estadísticamente significativa entre los grupos experimentales en el lado de la aplicación en relación a la presencia de papilomatosis en el epitelio poliestratificado de la mucosa bucal del hámster (Tabla y Gráfico N° 16 Chi cuadrada p 0.098).

Tabla 16. Comparación de la presencia de papilomatosis en el epitelio poliestratificado entre los grupos con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%, 3% y agua destilada.
LADO DE APLICACIÓN.

PAPILOMATOSIS	H2O2 30%	H2O2 3%	AGUA DESTILADA
---------------	----------	---------	----------------

	f	%	f	%	f	%
PRESENCIA	8	40	9	45	3	15
AUSENCIA	12	60	11	55	17	85
TOTAL	20	100	20	100	20	100

Chi cuadrada gl 2 p 0.098

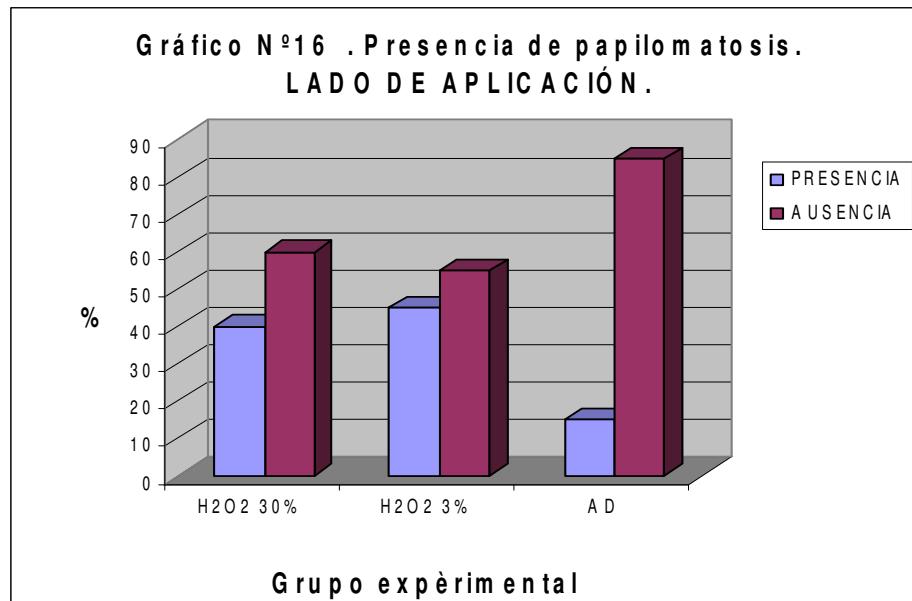


Tabla 18. Comparación de la presencia de crestas epiteliales pronunciados en el epitelio poliestratificado entre los grupos con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%, 3% y agua destilada. LADO DE APLICACIÓN.

CRESTAS EPIT. PRONUNCIADOS	H2O2 30%		H2O2 3%		AGUA DESTILADA	
	f	%	f	%	f	%
PRESENCIA	16	80	6	30	5	25
AUSENCIA	4	20	14	70	15	75
TOTAL	20	100	20	100	20	100

Chi cuadrada gl 2 p 0.001

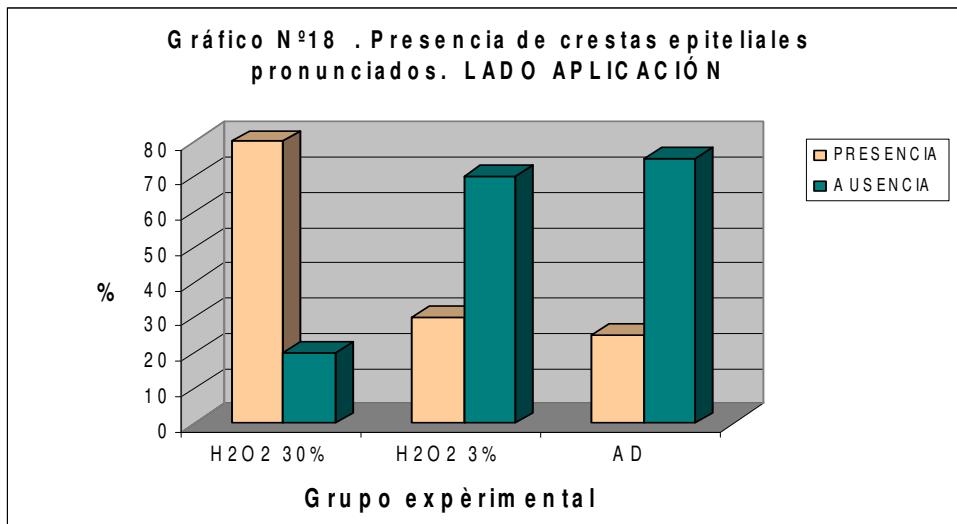


Tabla 20. Comparación de la presencia de hiperchromatismo nuclear en el epitelio poliestratificado entre los grupos con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%, 3% y agua destilada. LADO DE APLICACIÓN.

HIPERCROMATISMO NUCLEAR	H ₂ O ₂ 30%		H ₂ O ₂ 3%		AGUA DESTILADA	
	f	%	f	%	f	%
PRESENCIA	8	40	6	30	1	5
AUSENCIA	12	60	14	70	19	95
TOTAL	20	100	20	100	20	100

Chi cuadrada gl 2 p 0.031

anexo 20

Gráfico N°20 . Presencia de hiperchromatismo nuclear. LADO DE APLICACIÓN

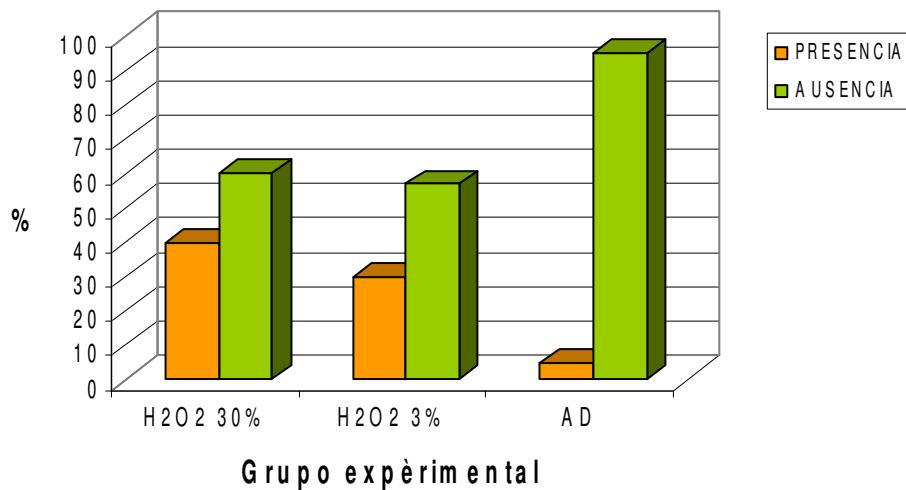
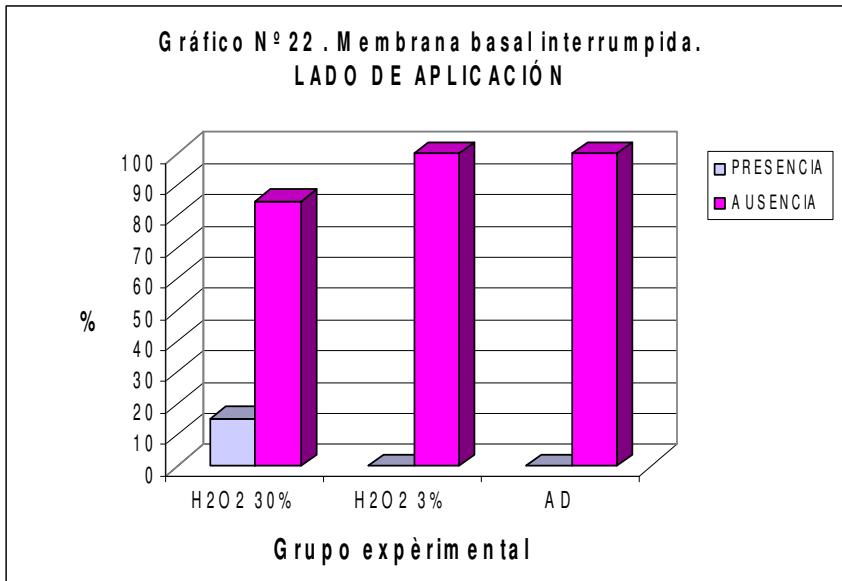


Tabla 22. Comparación de interrupción de la membrana basal del epitelio poliestratificado entre los grupos con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%, 3% y agua destilada. LADO DE APLICACIÓN.

MEMBRANA BASAL INTERR.	H2O2 30%		H2O2 3%		AGUA DESTILADA	
	f	%	f	%	f	%
PRESENCIA	3	15	0	0	0	0
AUSENCIA	17	85	20	100	20	100
TOTAL	20	100	20	100	20	100

Chi cuadrada gl 2 p 0.043

anexo 22



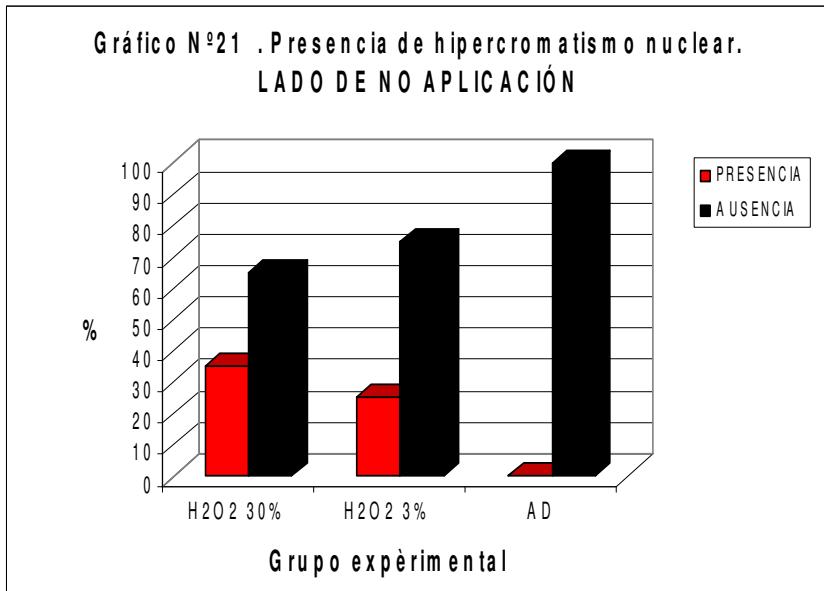
Un poco distinto se comportaron estas características del epitelio poliestratificado en el lado de la no aplicación de la sustancia donde sólo se encontró diferencia entre los grupos en relación a la presencia de hiperchromatismo nuclear (Tabla y Gráfico N° 21 Chi cuadrada p 0.017).

Tabla 21. Comparación de la presencia de hiperchromatismo nuclear en el epitelio poliestratificado entre los grupos con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%, 3% y agua destilada. LADO DE NO APLICACIÓN.

HIPERCROMATISMO NUCLEAR	H2O2 30%		H2O2 3%		AGUA DESTILADA	
	f	%	f	%	f	%
PRESENCIA	7	35	5	25	0	0
AUSENCIA	13	65	15	75	20	100
TOTAL	20	100	20	100	20	100

Chi cuadrada gl 2 p 0.017

anexo 21



Las demás características del epitelio poliestratificado como de presencia de papilomatosis, crestas epiteliales pronunciados e interrupción de la membrana basal no presentaron diferencias entre los grupos de estudio en el lado de la no aplicación. ($p > 0.05$ Tablas y Gráficos N° 17, 19 y 23).

Tabla 17. Comparación de la presencia de papilomatosis en el epitelio poliestratificado entre los grupos con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%, 3% y agua destilada.
LADO DE NO APLICACIÓN.

PAPIOLOMATOSIS	H ₂ O ₂ 30%		H ₂ O ₂ 3%		AGUA DESTILADA	
	f	%	f	%	f	%
PRESENCIA	7	35	5	25	4	20
AUSENCIA	13	65	15	75	16	80
TOTAL	20	100	20	100	20	100

Chi cuadrada gl 2 p 0.551

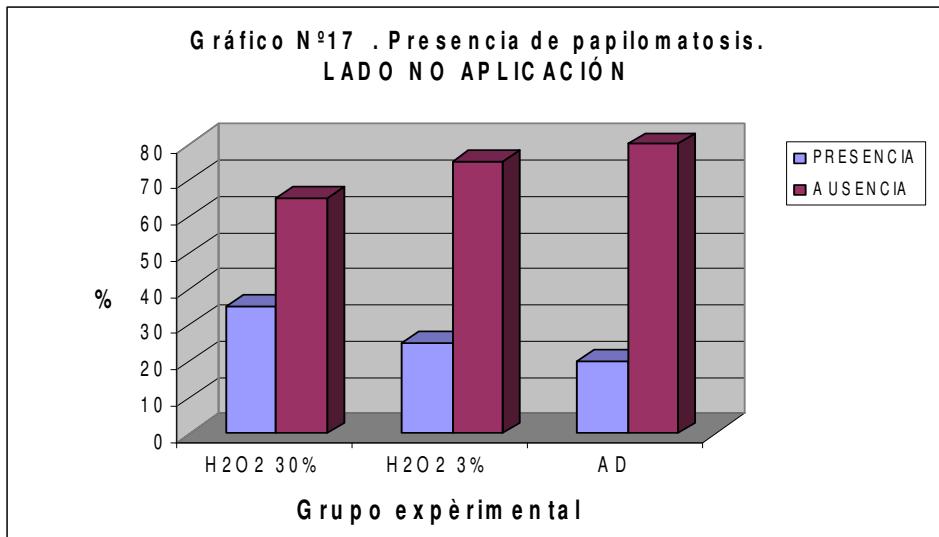


Tabla 19. . Comparación de la presencia de crestas epiteliales pronunciados en el epitelio poliestratificado entre los grupos con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%, 3% y agua destilada. LADO DE APLICACIÓN.

CRESTAS EPIT. PRONUNCIADOS	H2O2 30%		H2O2 3%		AGUA DESTILADA	
	f	%	f	%	f	%
PRESENCIA	9	45	7	35	3	15
AUSENCIA	11	55	13	65	17	85
TOTAL	20	100	20	100	20	100

Chi cuadrada gl 2 p 0.116

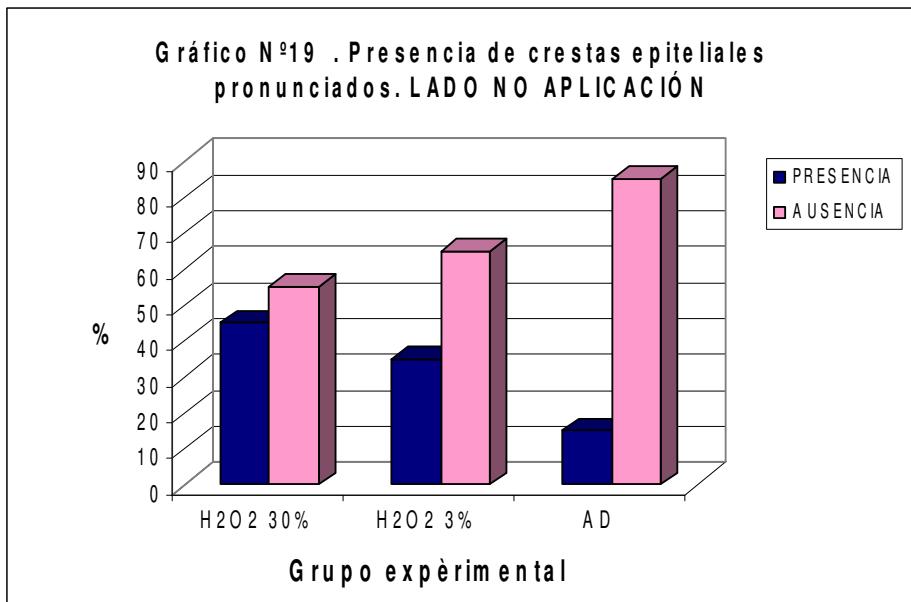
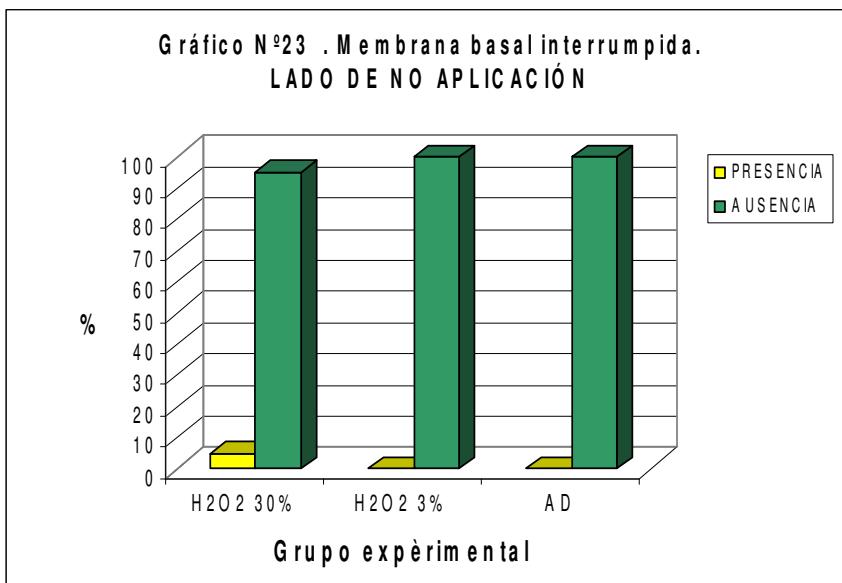


Tabla 23. Comparación de interrupción de la membrana basal del epitelio poliestratificado entre los grupos con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%, 3% y agua destilada. LADO DE NO APLICACIÓN.

MEMBRANA BASAL INTERR.	H2O2 30%		H2O2 3%		AGUA DESTILADA	
	f	%	f	%	f	%
PRESENCIA	1	5	0	0	0	0
AUSENCIA	19	95	20	100	20	100
TOTAL	20	100	20	100	20	100

Chi cuadrada gl 2 p 0.362

anexo 23



En síntesis cuando comparamos el lado de aplicación y no aplicación en el grupo con H_2O_2 al 30% estos tuvieron características similares con respecto a la presencia de papilomatosis, hipercromatismo nuclear e integridad de la membrana basal ($p>0.05$), solamente se halló diferencia en la presencia de crestas epiteliales pronunciados (Chi cuadrada $p=0.022$). Tabla y Gráfico N° 24.

Tabla 24. Comparación de las características del epitelio poliestratificado en el grupo con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%.

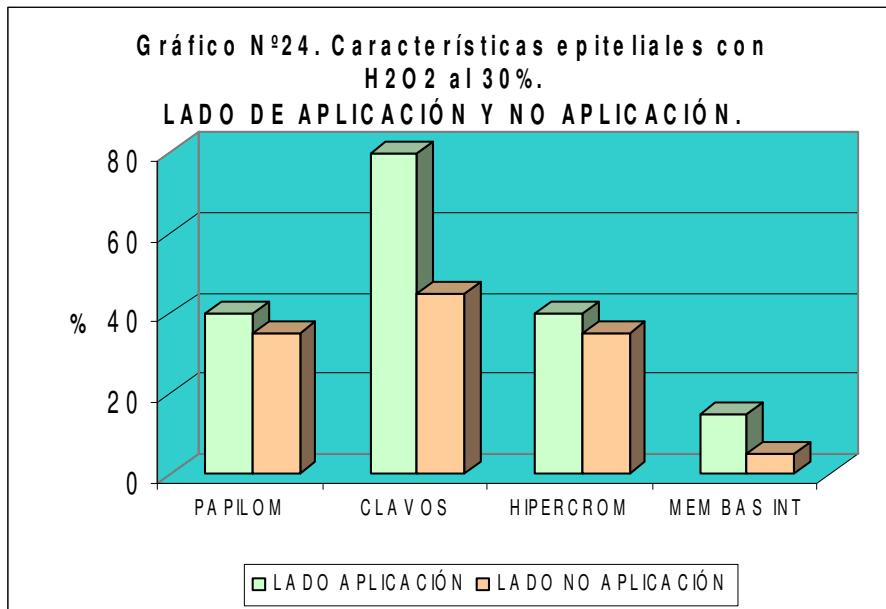
LADO DE APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN.

CARACTERÍSTICA DE COMPARACIÓN	Lado aplicación		Lado no aplicación	
	f	%	f	%
PAPILOMATOSIS ¹	8/20	40	7/20	35
CRESTAS EPITELIALES ²	16/20	80	9/20	45
HIPERCROMATISMO NUCLEAR ³	8/20	40	7/20	35
MEMBRANA BASAL INTERRUMPIDA ⁴	3/20	15	1/20	5

1 Chi Cuadrada gl 1 p 0.744

2 Chi Cuadrada gl 1 p 0.022
 3 Chi Cuadrada gl 1 p 0.744
 4 Chi Cuadrada gl 1 p 0.292

anexo 24



Al compara estas características entre el lado de aplicación y de no aplicación del grupo con H₂O₂ al 3% no se encontró diferencia entre ellos (Tabla y Gráfico N°25 Chi cuadrada p>0.05).

Tabla 25. Comparación de las características del epitelio poliestratificado en el grupo con aplicación de peróxido de hidrógeno al 3%.

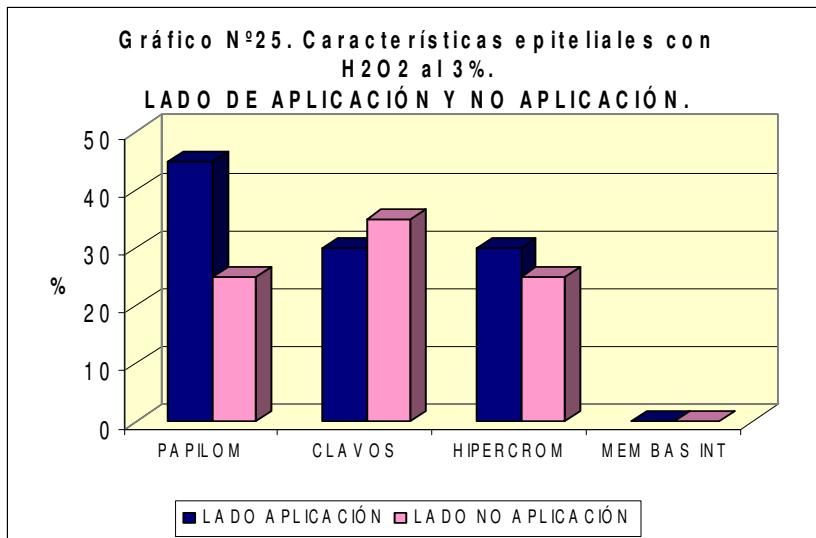
LAZO DE APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN.

CARACTERÍSTICA DE COMPARACIÓN	Lado aplicación		Lado no aplicación	
	f	%	f	%
PAPILOMATOSIS ¹	9/20	45	5/20	25
CRESTAS EPITELIALES ²	6/20	30	7/20	35
HIPERCROMATISMO NUCLEAR ³	6/20	30	5/20	25
MEMBRANA BASAL INTERRUMPIDA ⁴	0	0	0	0

1 Chi Cuadrada gl 1 p 0.185
 2 Chi Cuadrada gl 1 p 0.114

anexo 25

3 Chi Cuadrada gl 1 p 0.125
 4 Chi Cuadrada no calculable
 variable=constante



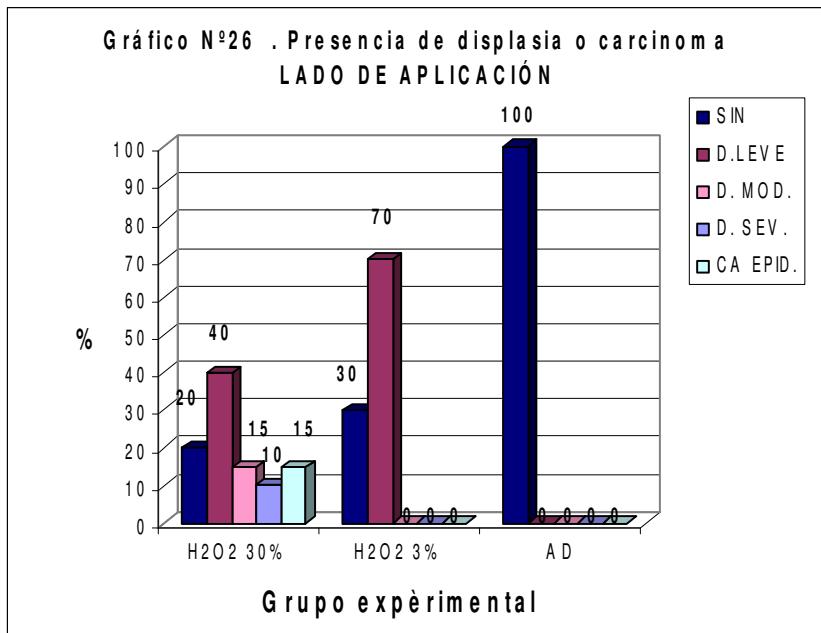
En relación al desarrollo de displasia y carcinoma se observó en el lado de aplicación del grupo con aplicación de H₂O₂ al 30% 11/20 casos de displasia (65%), 3/11 casos de carcinoma epidermoide invasivo (15%). De los casos de displasia presentados en este grupo 8/20 (40%) correspondían a displasia leve, 3/20 (15%) de displasia moderada y 2/20 (10%) de displasia severa. En el lado de aplicación del H₂O₂ al 3% hubo 6/20 (30%) de casos de displasia leve, no se presentó displasia moderada, severa, ni carcinoma epidermoide. Tabla y Gráfico N°26.

Tabla 26. Comparación de la presencia de displasia y carcinoma en el epitelio poliestratificado entre los grupos con aplicación de H₂O₂ 30%, H₂O₂ 3% y agua destilada. LADO DE APLICACIÓN

DISPLASIA/ CARCINOMA	H ₂ O ₂				AGUA DESTILADA	
	f	%	f	%	f	%
SIN DISPLASIA	4	20	14	70	20	100
DISPLASIA LEVE	8	40	6	30	0	0
DISPLASIA MODERADA	3	15	0	0	0	0
DISPLASIA SEVERA	2	10	0	0	0	0

CARCINOMA INVASIVO	3	15	0	0	0	0
TOTAL	20	100	20	100	20	100

Chi cuadrada gl 8 p 0.000



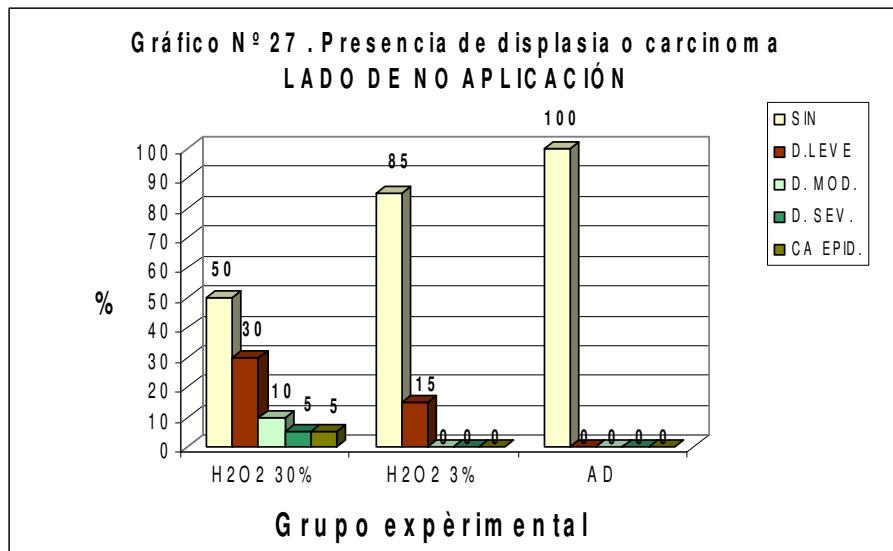
Similar fue el desarrollo de las lesiones de displasia y carcinoma en el lado de la no aplicación. Tabla y Gráfico N°27.

Tabla 27. Comparación de la presencia de displasia y carcinoma en el epitelio poliestratificado entre los grupos con aplicación de H₂O₂ 30%, H₂O₂ 3% y agua destilada. LADO DE NO APLICACIÓN

DISPLASIA/ CARCINOMA	H ₂ O ₂		AGUA DESTILADA			
	30%		3%			
	f	%	f	%		
SIN DISPLASIA	10	50	17	85	20	100
DISPLASIA LEVE	6	30	3	15	0	0
DISPLASIA MODERADA	2	10	0	0	0	0

DISPLASIA SEVERA	1	5	0	0	0	0
CARCINOMA INVASIVO	1	5	0	0	0	0
TOTAL	20	100	20	100	20	100

Chi cuadrada gl 8 p 0.0264



Por otro lado también se observaron cambios en el tejido conectivo y diferencias entre los grupos de estudio con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30% y al 3% en comparación al grupo con agua destilada en el lado de la aplicación (Tabla y Gráfico N° 28 p Chi cuadrada p 0.000) y en el lado de la no aplicación (Tabla y Gráfico N° 29 Chi cuadrada p 0.021); produciéndose la presencia de una cantidad mucho mayor de células de tipo linfocitos, monocitos y macrófagos en ambos lados de aplicación y de no aplicación, es decir, una reacción de inflamación en respuesta al agente agresor. Al comparar, específicamente los lados de aplicación y no aplicación en el grupo con H₂O₂ al 30% no hubo diferencias estadísticamente significativas, en ambos lado se había dado la reacción de respuesta inflamatoria en forma similar (Tabla y Gráfico N° 30 Chi cuadrada p 0.318). Sin embargo, en el grupo con H₂O₂ al 3% se hubo diferencias estadísticamente significativas entre al lado de aplicación y no aplicación (Tabla y Gráfico N° 31 Chi cuadrada p 0.026).

Tabla 28. Comparación de la presencia de células inflamatorias a nivel del tejido conectivo entre los grupos con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%, 3% y agua destilada. LADO DE APLICACIÓN.

CÉLULAS TEJ. CONECTIVO	H2O2 30%		H2O2 3%		AGUA DESTILADA	
	f	%	f	%	f	%
ABUNDANTE	11	41	12	18	2	5
REGULAR	10	37	28	42	12	29
ESCASA	6	22	26	40	27	66
TOTAL	27	100	66	100	41	100

Chi cuadrada gl 4 p 0.000 anexo 26

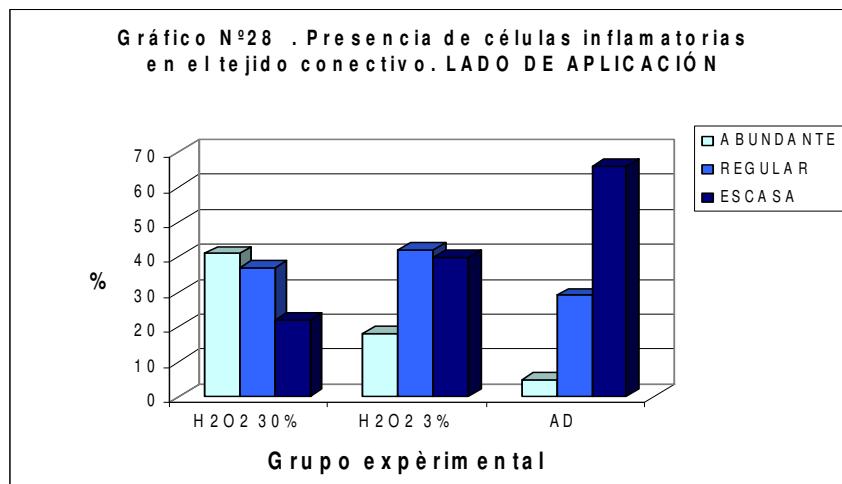


Tabla 29. Comparación de la presencia de células inflamatorias a nivel del tejido conectivo entre los grupos con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%, 3% y agua destilada. LADO DE NO APLICACIÓN.

CÉLULAS TEJ. CONECTIVO	H2O2 30%		H2O2 3%		AGUA DESTILADA	
	f	%	f	%	f	%
ABUNDANTE	7	22.6	12	19.4	4	10.25
REGULAR	14	45.2	13	21	8	20.5
ESCASA	10	32.2	37	59.6	27	69.25
TOTAL	31	100	62	100	39	100

Chi cuadrada gl 4 p 0.021 anexo 27

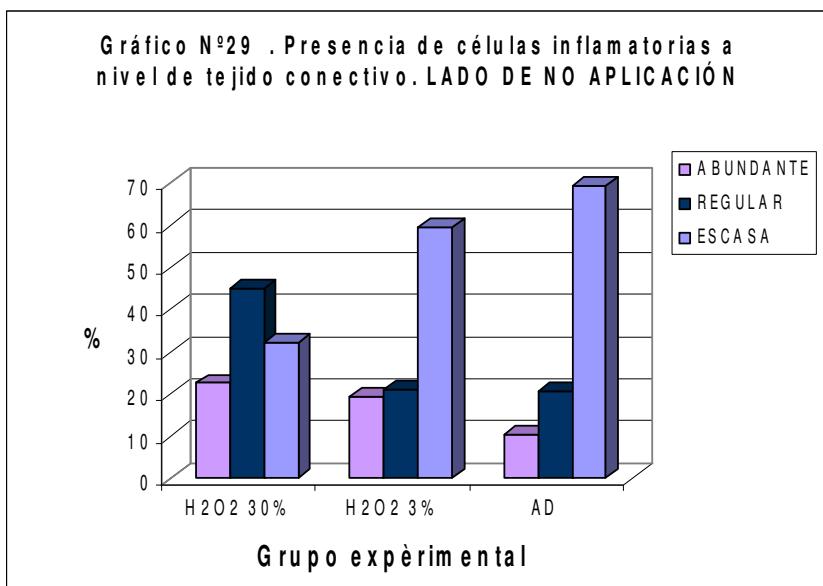


Tabla 30. Comparación de la presencia de células inflamatorias a nivel del tejido conectivo en el grupo con aplicación de peróxido de hidrógeno al 30%.
LADO DE APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN.

CANTIDAD DE CÉLULAS EN EL TEJIDO CONECTIVO	Lado aplicación		Lado no aplicación	
	f	%	f	%
ABUNDANTE	11	41	7	22.6
REGULAR	10	37	14	45.2
ESCAZA	6	22	10	32.2
TOTAL	27	100	31	100

Chi Cuadrada gl 2 p 0.318

anexo 28

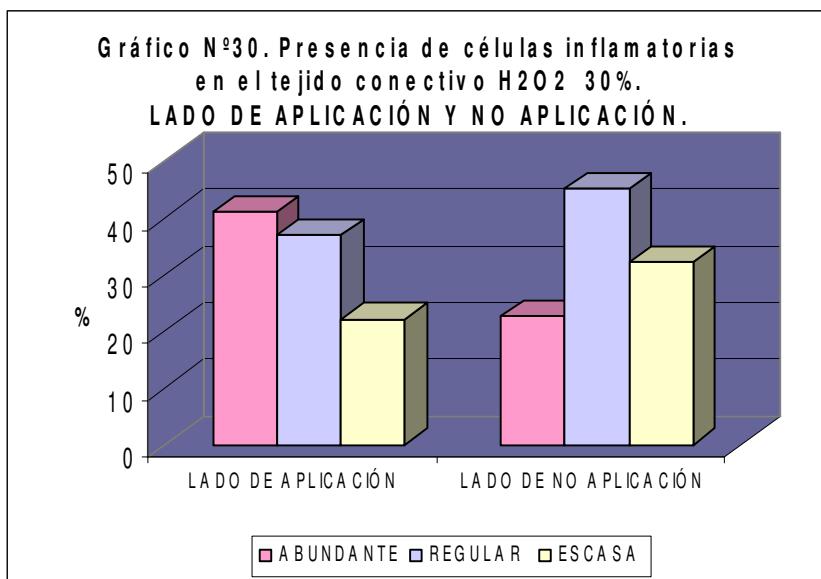


Tabla 31. Comparación de la presencia de células inflamatorias a nivel del tejido conectivo en el grupo con aplicación de peróxido de hidrógeno al 3%.

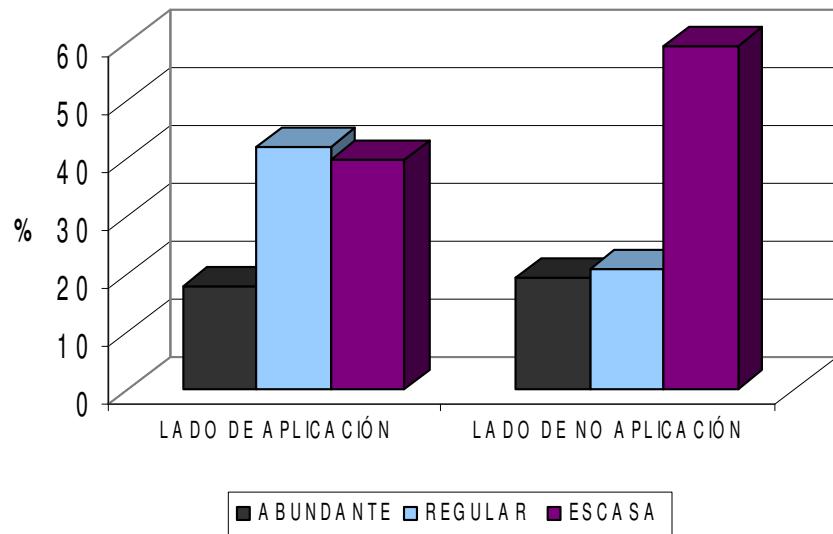
LADO DE APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN.

CANTIDAD DE CÉLULAS EN EL TEJIDO CONECTIVO	Lado aplicación		Lado no aplicación	
	f	%	f	%
ABUNDANTE	12	18	12	19.4
REGULAR	28	42	13	21
ESCAZA	26	40	37	59.6
TOTAL	66	100	62	100

Chi Cuadrada gl 2 p 0.026

anexo 29

**Gráfico N°31. Presencia de células inflamatorias
en el tejido conectivo H₂O₂ 3%.
LADO DE APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN.**



V. DISCUSIÓN

En el presente estudio se encontró presencia de alteraciones a nivel celular y tisular como engrosamiento del epitelio debido al aumento de la capa de queratina (hiperqueratosis) e hiperplasia de las células espinosas (acantosis), crestas epiteliales pronunciados, hipercromatismo nuclear e interrupción de la membrana basal, por lo tanto, en el grupo con aplicación de H₂O₂ al 30% se dio la evolución de lesiones preneoplásicas como displasias leves, a moderadas o a carcinoma in situ y carcinoma infiltrante. También se observaron cambios en el grupo con aplicación de H₂O₂ al 3%, pero con menor severidad y en menor proporción, pero los cuales marcaron diferencia con el grupo control de agua destilada.

Con respecto a la displasia epitelial de diferente grado de severidad o carcinoma in situ, la OMS, especifica un conjunto de características, entre ellas “el aumento en la proporción núcleo/citoplasma”, y “el aumento de los nucleolos” en ambas lesiones displasia y cáncer in situ. Sin embargo, considera que más frecuente se observan en el cáncer inicial que en la displasia, “el pleomorfismo nuclear y celular”, “la pérdida de polaridad de las células basales”, “la estratificación epitelial irregular y los “bordes de la red en forma de gota”. Este último indicador, llamado en el presente estudio crestas epiteliales pronunciados se observó con frecuencia en ambos grupos, y en algunos casos del grupo tratado con H₂O₂ al 30% se pudo ver la pérdida de polaridad de las células epiteliales y solución de continuidad de la membrana basal. Como señalan Okazaki Y et al ⁽⁴⁴⁾ estos cambios relacionados con el progreso carcinogénico son útiles para diagnóstico del potencial maligno.

Se conoce que las especies reactivas de oxígeno, entre ellos el peróxido de hidrógeno tienen la capacidad in Vitro de producir lesiones importantes por dos mecanismos principales alteración de la cadena de ADN (mediante rotura simple del cadena o reacciones químicas con las bases y mutaciones) o alteración de las propiedades de las membranas celulares por peroxidación lipídica. Sin embargo, la existencia del sistema de antioxidantes es la encargada de mantener en equilibrio este proceso oxidación - reducción y cuando se da una mayor cantidad de especies reactivas de

oxígeno o deficiencia del sistema antioxidante se produce el llamado estrés oxidativo con diferentes consecuencias como por ejemplo la formación de lesiones cancerígenas. La conclusión de IARC es que el peróxido de hidrógeno presenta evidencias “limitadas” de carcinogenicidad en animales experimentales como carcinógenos completos o como promotor tumoral⁽⁷²⁾

Sin embargo hay que considerar que durante muchos años se ha analizado el efecto del H₂O₂ como iniciador tumoral, promotor tumoral y su actividad carcinogénica completa en lo referente a su mecanismo de acción, el tiempo latente de producción de lesiones, el tipo de alteraciones que ocasiona, las concentraciones, las vías de administración y los blancos de su actividad.

Existen varios trabajos^(84, 46, 50, 51, 91) y el presente estudio también, que han encontrado evidencias sobre el H₂O₂ actuando como carcinógeno principalmente en la mucosa bucal, del duodenum o gástrica y en piel.

Reforzando esta opinión se encuentra el trabajo de Zouain-Ferreire SL, et al⁽⁹¹⁾ del 2002 en el cual cuatro blanqueadores disminuyeron la fracción de supervivencia de varias cepas de E. Coli, siendo el efecto mayor en aquellas cepas con capacidad más baja de reparación de ADN, llegando los autores a la conclusión que los blanqueadores dentales generan efectos biológicos parecidos a las radiaciones ionizantes.

Es importante considerar la opinión de la Comisión Europea de Salud y protección del consumidor SCCP⁽⁷²⁾ en relación al uso de productos blanqueadores que el uso de productos blanqueadores con peróxido de hidrógeno o lo equivalente para sustancias liberadoras de peróxido de hidrógeno hasta 0.1% es seguro y que el uso de sustancias con más de 0.1% hasta 6% se considera seguro después de consultar al dentista debido a que los datos nuevos no proveen la solidez necesaria para demostrar la seguridad de uso de productos blanqueadores con peróxido de hidrógeno hasta 6% de venta libre y disponibilidad directa para el consumidor en sus diferentes formas (cubetas, tiras, etc.)

En este sentido al comparar los resultados del presente estudio con los hallados por Weitzman et al⁽⁸⁴⁾ quienes evaluaron también el efecto del H₂O₂ en la carcinogénesis oral de hámsteres se coincide en encontrar la presencia de cambios patológicos asociados con lesiones preneoplásicas como hipercromatismo nuclear y displasia, así como de células inflamatorias en el grupo con aplicación de H₂O₂ al 30%. Sin embargo, ellos no llegaron de encontrar desarrollo de carcinoma epidermoide en este grupo y en

el presente trabajo si se observó la evolución hasta carcinoma *in situ* y carcinoma infiltrante. Cuando revisamos los resultados reportados por estos investigadores se pudo notar que los cambios que ellos encontraron a las 19 semanas se intensificaron mucho más a las 22 semanas, donde terminó el estudio. Esto podría significar que un tiempo más conllevaría probablemente a un mayor daño tisular del que encontraron. Además la frecuencia de aplicación fue de dos veces semanal, mientras que en nuestro estudio fue de tres veces por semana y con una duración mayor de dos semanas, es decir, en total se recibieron mucho más aplicaciones (44 versus 72).

También en el estudio de Marshal M. et al ⁽⁵⁹⁾ en el cual concluyeron que la respuesta tumorogénica de un carcinógeno ya establecido (DMBA) fue reducida con la coadministración del H₂O₂ y bicarbonato de sodio, consideramos la posibilidad que el tiempo de duración del estudio entre 16 a 20 semanas no fue lo suficiente. Así como también en el estudio de Takahashi M. et al ⁽⁷⁶⁾ que administraron peróxido de hidrógeno al 1% en el agua de beber de ratones por 7 semanas para verificar la actividad de promotor tumoral de este después de aplicación del carcinógeno N-metil-N-nitro-nitrosoguanida (MNN6) y concluyeron que la cantidad de tumores no se incrementó.

En relación a este tema del tiempo necesario para la formación de la lesión cancerígena por H₂O₂ parece depender de aspectos variados como, la vía de administración, el tipo de animales de experimentación y su susceptibilidad, y la concentración del peróxido de hidrógeno. Sin embargo, por los resultados obtenidos que hay un periodo necesario de iniciación y desarrollo de la lesión cancerígena que no está tan en relación directa con la concentración. El menor periodo de desarrollo de carcinoma lo cita Marshall M. et al ⁽⁵⁹⁾ quienes señalaron que la progresión de cambios queratóticos y/o disqueratosis a las 6 semanas con ocurrencia de carcinomas se dio en aproximadamente la mitad de los animales examinados a la 12va semana por la acción del DMBA en la mucosa de la mejilla del hámster.

En relación a este punto del tiempo necesario para el desarrollo de una lesión Ito et al ^(50, 51, 52) realizaron una serie de estudios sobre el peróxido de hidrógeno de diferentes concentraciones (0; 0.1% y 0.4%) administrado a ratones en el agua de beber manifiestan que a una mayor concentración había más hiperplasias, adenomas y carcinomas principalmente en el duodenum y la mucosa gástrica. Hecho que también se confirmó en el presente trabajo, donde mayores cambios se produjeron en el grupo

con H_2O_2 al 30%, por lo que se observa que la acción del H_2O_2 depende de la concentración de este. Estos autores reportaron en el primer estudio el desarrollo de la primera lesión a las 42 semanas, pero en el segundo estudio en el cual cambiaron ciertas condiciones describieron nódulos de lesiones hiperplásicas, adenomas y carcinomas desde el día 90 (aproximadamente semana 13). En contraste con ellos en el presente estudio se halló las lesiones avanzadas a la semana 24 cuando los hámsteres fueron sacrificados, pero existe la posibilidad de haberse instalado un tiempo antes. Además las diferencias tienen relación con la vía de administración y el tipo de animal de experimentación, ya que ellos cuando reportaron 42 semanas para la aparición de lesiones utilizaron ratones de una línea y en el segundo estudio donde la aparición de lesiones fue en la semana 13 se utilizó otra línea de ratones al parecer con mayor susceptibilidad para desarrollo de lesiones cancerígenas. Al respecto al tema de aparición de la lesión maligna, en un estudio de diseño un poco distinto de Hirota y Yokohama ⁽⁴⁶⁾ donde se analizó la actividad de promoción tumoral del peróxido de hidrógeno, utilizando como iniciador tumoral metilazoxymetianolacetato (MAM) al sacrificar los animales a la semana 21 se observó ya tumores de tipo adenocarcinomas. Este tiempo de desarrollo del carcinoma fue más cercano a los resultados del presente estudio, donde se hallaron las lesiones avanzadas a la semana 24.

También en el presente estudio se observó inflamación a nivel de tejido conectivo de los grupos con aplicación de H_2O_2 de tipo inflamación crónica. Aunque el estudio de Rees T, y Orth Ch ⁽⁶⁸⁾ reportaron dos casos clínicos de ulceraciones e incomodidad relacionadas con el uso de peróxido de hidrógeno al 3% como enjuague bucal, en el segundo de ellos el resultado de la biopsia resalta el cuadro de inflamación crónica. Sin embargo, si no estuviera la dificultad de establecer el origen de este cuadro de inflamación se estaría confirmando la capacidad del peróxido de hidrógeno de ocasionar inflamación, pero al ser la paciente de edad avanzada, fumadora desde hace muchos años y aun más haber iniciado el uso de peróxido de hidrógeno como medio de controlar la aparición de ulceraciones en la cavidad bucal, no existe la certeza de la causa de este proceso inflamatorio crónico.

Para finalizar, los hallazgos histológicos encontrados en el presente estudio permiten considerar el peróxido de hidrógeno como agente de potencial maligno. Como manifiesta Burningham et al ⁽¹¹⁾ en 2004 en el VI Congreso Internacional de Cabeza y Cuello al encontrar entre los 19 pacientes de cáncer primario de Cabeza y Cuello del Centro Médico de la Universidad de Georgetown entre 1997 y 2003 tres (19%) pacientes con antecedentes de uso de blanqueadores dentales en el pasado señalan que los hechos no sugieren necesariamente relación causa-efecto entre el uso de estos productos y el desarrollo de cáncer bucal; sin embargo, los radicales libres generados en el proceso del blanqueamiento tienen potencial carcinogénico, por lo tanto el uso de estos productos en esta población de pacientes se debería estudiar más ampliamente.

VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES:

1. La aplicación tópica prolongada del peróxido de hidrógeno al 3% produce cambios histológicos en la mucosa bucal del hámster compatibles con una lesión precancerosa caracterizados por hiperqueratosis, acantosis, hipercromatismo nuclear, así como displasia a nivel leve.
2. El peróxido de hidrógeno al 30% produce cambios histológicos en la mucosa bucal del hámster caracterizados por hiperqueratosis, acantosis, hipercromatismo nuclear, crestas epiteliales pronunciadas o en forma de gota e interrupción de la continuidad de la membrana basal, así como también el desarrollo de displasia de diferente grado y carcinoma a nivel epitelial.
3. La lesión cancerosa se produjo con un total de 72 aplicaciones en total del peróxido de hidrógeno al 30% durante las 24 semanas de duración del experimento.
4. A nivel de tejido conectivo la aplicación tópica prolongada de peróxido de hidrógeno ocasiona inflamación crónica más frecuente en el grupo con 30% seguido por el de 3%.
5. No hubo diferencias entre las características observadas en el lado de aplicación y el lado de no aplicación del peróxido de hidrógeno, lo que nos indica que este ejercía efecto en ambos lados de la cavidad bucal y que el mismo proceso de aplicación no introdujo diferencias entre los lados.

RECOMENDACIONES:

1. Se recomienda la realización de más estudios clínicos, experimentales o de laboratorio acerca del uso del peróxido de hidrógeno con diseño longitudinal y población grande, en grupos que reciben tratamiento bajo cuidados profesionales o en la población que utiliza productos de venta libre y disponibilidad directa.
2. Considerando el potencial carcinogénico del peróxido de hidrógeno bajo ciertas condiciones de uso tomar cuidados en el análisis de beneficio-riesgo de su uso en la población, específicamente, tener especial consideración en los grupos de riesgo como pacientes con xerostomía, con enfermedad periodontal, acatalasia, consumidores de alcohol y fumadores, o de edad avanzada.
3. Informar el paciente que desea recibir tratamiento con productos de este tipo sobre los beneficios y riesgos del uso de peróxido de hidrógeno.
4. Establecer vigilancia epidemiológica sobre el uso de sustancias con peróxido de hidrógeno en odontología

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMERICAN DENTAL ASSOCIATION. Statement of Safety of Hydrogen Peroxide. www.ada.org/prac/position/peroxide.html 12 Feb 2000
2. ANDREA PILLONI, CLAUDIO MONGARDINI, LUIGI CIPRIANO, FAUSTO D'AMICO. Studio clinico di efficacia di un dentifricio per la prevenzione della carie, della formazione della placca e per la rimozione di macchie estrinseche. University of Roma. Il Dentista Moderno, Settembre, 2006
3. BASSAN MM, DUDAI M, SHALEV O (1982). Near-fatal systemic oxygen embolism due to wound irritation with hydrogen peroxide. Postgrad Med J 58: 448-450.
4. BATTINO M, FERREIRO MS, GALLARDO I, NEWMAN HN, BULLON P. The antioxidant capacity of saliva. J Clin Periodontol 2002; 29: 189-194.
5. BATTINO M., FERREIRO M., FATTORINI D., BULLON P. In vitro antioxidant activities of mouthrinses and their components. J Clin Periodontol 29 (2002): 462-467.
6. BENÍTEZ D. Vitaminas y oxireductasas antioxidantes: defensa ante el estrés oxidativo. Rev Cubana Invest Biomed 2006; 25(2)
7. BERGMAN R, AFIFI A, HEIDGER P. Histología. Mc Graw-Hill Interamericana, Mexico 1997.
8. BERNAL A. Consideraciones biomoleculares en el proceso de la carcinogénesis. Universidad Nacional de Colombia.
http://encolombia.com/consideraciones_odonto.htm
9. BIELSKI BHJ, SHIVE GG. Reaction rates of superoxide radicals with the essential amino acids. In: Oxygen free radicals and tissue damage. Ciba Found Symp. Excperta Medica, Amsterdam, 1979.
10. BOYD RL (1989). Effects on gingivitis of daily rinsing with 1.5% H₂O₂. J Clin Periodont 16: 557-562.
11. BURNINGHAM AR, DAVIDSON BJ, MALEKZADEH S, DASGUPTA R, YODER BE, NEWKIRK KA (2004). Tooth Whiteners as a Risk Factor for Oral Cavity Squamous Cell Carcinoma: A Report of Cases. 6th International Conference on Head and Neck Cancer (<http://www.sic2004.org>) August 7-11, 2004, Washington, D.C.
12. CANO C, BERMUDEZ V, SILBARAN G. ET AL. Influencia de la Edad y el Sexo en el Balance Oxidación/Antioxidación. AVFT Feb 2001; vol 20 nº 1, p 63-7.

13. CEDEÑO, FLORIBEL, FINOL, HÉCTOR J, BRAVO, INÉS M ET AL. Patología ultraestructural de la lesión leucoplásica: reporte de un caso. *ACTA ODONTOL. VENEZ*, ENE 2001, VOL.39, NO.1, P.28-31.
14. CEDEÑO B, FLORIBEL AND FINOL, HÉCTOR J Algunas consideraciones sobre la patología ultraestructural de los queratinocitos en leucoplasia bucal del tipo clínico homogéneo. *Acta odontol. venez*, 2005, vol.43, no.1, p.14-18
15. CEFIC Peroxygen Sector Group (1995). Micronucleus test by intraperitoneal route in mice. Hydrogen peroxide. CIT/Study No. 12240 MAS/HYDROGEN PEROXIDE/CEFIC. Centre International de Toxicologie (C.I.T.), Miserey
16. CEFIC Peroxygen Sector Group (1997). Hydrogen peroxide: measurement of unscheduled DNA synthesis in rat liver using *in vivo* and *in vivo/in vitro* procedures. Final report No. 514/24-1052. Covance Laboratories Limited, Harrogate.
17. CESPEDES MIRANDA, Ela M, HERNANDEZ LANTIGUA, Ingrid y LLOPIZ JANER, Niurka. Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar los radicales libres: II. Catalasa. *Rev Cubana Invest Bioméd*, jul.-dic. 1996, vol.15, no.2, p.0-0.
18. CÉSPEDES T, SÁNCHEZ D. Algunos aspectos sobre el estrés oxidativo, el estado antioxidante y la terapia de suplementación. *Rev Cubana Cardiol* 2000; 14(1):55-60.
19. CHRISTENSEN GJ (1989a). Tooth bleaching, home-use products. Clinical Research Associates Newsletter 13: 1-3.
20. CINA SJ, DOWNS JCU, CONRADI SE (1994). Hydrogen peroxide: a source of lethal oxygen embolism. *Am J Forensic Med Pathol* 15: 44-50. - Cooper JS, Bokmeyer TJ, Bowles WH (1992). Penetration
21. COMPANIONI GM. Ácido araquidónico y radicales libres: su relación con el proceso inflamatorio. *Rev Cubana Invest Biomed* 1995; 14(1): 0-0
22. COTRAN R, KUMAR V, COLLINS T. Patología estructural y funcional de Robbins. Sexta edición, McGraw-Hill-Interamericana, Madrid 2000
23. CTFA (US Cosmetic, Toiletry and Fragrance Association) (1994). Letter to ECETOC on 26 September 1994 by McEwen GN. CFTA, Washington DC.
24. DAHL JE, BECHER R (1995). Acute toxicity of carbamide peroxide and a commercially available tooth-bleaching agent in rat. *J Dental Research* 74: 710-714.
25. DAHL JE, PALLESEN U (2003). Tooth bleaching – a critical review of the biological effects. *Crit Rev Oral Biol Med* 14: 292-304.

26. DANIS RK, BRODEUR AE, SHIELDS J (1967). The danger of hydrogen peroxide as a colonic irrigating solution. *J Pediatric Surg* 2: 131.
27. DE LA ROSA J. Estado actual de la terapéutica antioxidante: oxidación y antioxidadación. Ex-Presidente del Comité de Epidemiología y Prevención de la Federación Argentina de Cardiología. Tucumán, Argentina. <http://www.fac.org.ar/revista/98v27n4/derosa/derosa.htm>
28. DIEZ N, MACÍAS R, PEDROSO I. El factor de activación plaquetaria y su relación con el daño oxidativo. *Rev Cubana Invest Biomed* 2001; 20(1):64-9.
29. DU PONT. [Report] (1995). An evaluation of the stability and palatability of hydrogeneroxide in water and its potential genotoxicity in bone marrow when administered to mice in drinking water. Haskell Laboratory Report No. 723-94 (Sponsor: CEFIC Peroxygen Toxicity Group). E. I. Du Pont de Nemours and Company, Newark, DE.
30. ECETOC (1996) Hydrogen peroxide OEL Criteria Document. Special report No 10.
31. FDA (1983). Hydrogen peroxide: proposed affirmation of GRAS status as a direct human food ingredient with specific limitations. *Federal Register* 48: 52323-53333
32. FLAITZ CM, HICKS MJ (1996). Effects of carbamide peroxide whitening agents on enamel surfaces and caries-like lesion formation: An SEM and polarized light microscopic in vitro study. *J Dent Children July-August*: 249-256.
33. FISCHMAN SL, TRUELOVE RB, HART R, CANCRO LP (1992). The laboratory and clinical safety evaluation of a dentifrice containing hydrogen peroxide and baking soda. *J Clin Dent* 3: 104-110.
34. FLORES O, RIVEROS H, SOSA A, VASQUEZ E. Bases bioquímicas y fisiopatológicas de las enfermedades peroxisomales. Mensaje bioquímico Vol XXVII. UNAM, 2003. <http://bq.unam.mx/mensajebioquimico>
35. FRENKEL K AND CHRZAN K. Hydrogen peroxide formation and DNA base modification by tumor-promoter-activated polymorphonuclear leukocytes. *Carcinogenesis*, 1987 Mar; 8(3):455-60.
36. GÓMEZ E. Estrés oxidativo y falla cardiaca. *Acta Médica Colombiana* Vol 26 nº 4 Julio-Agosto, 2002: 185-192.
37. GONZALEZ MOLES M.A. Precáncer y cáncer oral. Ediciones Avances Médico Dentales, S. L., Madrid, Abril 2001.
38. GONZÁLEZ – URBANEJA I. Radicales libres. Algunas consideraciones. *Gac Méd Caracas* Apr 2006 vol 114 nº 2, p 91-98

39. GUTIERREZ A. Oxidantes en el humo del cigarro y enfermedades cardiopulmonares. Rev Cubana Med 2003; 42(5)
40. HALLIWELL B, CROSS CE, GUTTERIDGE JMC. Free radicals, antioxidants and human disease: where are we now. J Lab Clin Med , 1982 , 119: 598-620.
41. HALLIWELL B, GUTTERIDGE JMC. Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage and antioxidant therapy. Lancet 1984: I: 1396-1398.
42. HANKS CT, FAT JC, WATAHA JC, CORCORAN JF (1993). Cytotoxicity and dentin permeability of carbamide peroxide and hydrogen peroxide vital bleaching materials, in vitro. J Dental Research 72: 931-938.
44. HAYWOOD VB (1997). Nightguard vital bleaching: Current concepts and research. JADA 128: 19S-25S.
45. HERRIN JR, SQUIER CA, RUBRIGHT WC (1987). Development of erosive gingival lesions after use of a home care technique. J Peridontol 58: 785-788.
46. HIROTA N, YOKOYAMA T (1981). Enhancing effect of hydrogen peroxide upon duodenal and upper jejunal carcinogenesis in rats. Gann 72: 811-812.
47. HUANG RP, PENG A, HOSSAIN MZ, FAN Y, JAGDALE A, BOYNTON AL. Tumor promotion by hydrogen peroxide in rat liver epithelial cells. : Carcinogenesis. 1999 Mar; 20(3):485-92
48. HUANG RP, PENG A, GOLARD A, HOSSAIN MZ, HUANG R, LIU YG, BOYNTON AL. Hydrogen peroxide promotes transformation of rat liver non-neoplastic epithelial cells through activation of epidermal growth factor receptor. Mol Carcinog. 2001 Apr; 30(4):209-17.
49. HUERTA JIMÉNEZ, MARIANA, ORTEGA CERRILLA, MARÍA ESTHER, COBOS PERALTA, MARIO ET AL. Estrés oxidativo y el uso de antioxidantes en animales domésticos. *INCI*, Dic 2005, vol.30, no.12, p.728-734.
50. ITO A, WATANAE H, NAITO M, NAITO Y (1981). Induction of duodenal tumors in mice by oral administration of hydrogen peroxide. Gann 72: 174-175.
51. ITO A, NAITO M, NAITO Y, WATANAE H (1982). Induction and characterization of gastroduodenal lesions in mice given continuous oral administration of hydrogen peroxide. Gann 73: 315-322.
52. ITO A, WATANAE H, NAITO M, NAITO Y, KAWASHIMA K (1984). Correlation induction duodenal tumor by hydrogen peroxide and catalase activity in mice. Gann 75: 17-21.
53. KLEIN-SZANTO AJP, SLAGA T (1982). Effects of peroxides on rodent skin: epidermal hyperplasia and tumor promotion. J Investigative Dermatology 79: 30-34.

54. LEONARD RH (1998). Efficacy, longevity, side effects, and patient perceptions of nightguard vital bleaching. *Compend Contin Educ Dent* 19: 766-781.
55. LEWIS JG, ADAMS DO. Inflammation, oxidative DNA damage, and carcinogenesis. *Environ Health Perspec*. 1987 Dec; 76:19-27
56. LI Y, NOBLITT T, ZHANG W, SCHYMIK M, FANG S, KAFRAWY A, XU Y, KLAUNIG JE, STOOKEY GK (1996). Safety evaluation of Opalescence Sustained Release Whitening Gel. *J Dental Research* 75: 430.
57. LIM JS, FRENKEL K, TROLL W. Tamoxifen suppresses tumor promoter-induced hydrogen peroxide formation by human neutrophils. *Cancer Res*, 1992 Sep; 52(18):4969-72.
58. MARSHALL MV, CANCRO LP, FISCHMAN SL (1995). Hydrogen peroxide: A review of its use in dentistry. *J Periodontol* 66: 786-796.
59. MARSHALL M. V, KUHN J. O, TORREY C, FISCHMAN S. L, CANCRO L. P. Hamster cheek pouch bioassay of dentifrices containing hydrogen peroxide and baking soda. *J. Amer. Coll. Toxicol.* 1996, vol. 15, nº1, pp. 45-61 (1 p.1/4)
60. MARTINEZ S, SUAREZ F, ORTEGA D. Aplicación de una pasta compuesta por bicarbonato de sodio, cloruro de sodio y agua oxigenada en el tratamiento de bolsas parodontales activas. *Rev. Cubana Estomatol.* 1988 Sep-Dec; 25(3):45-54.
61. MEMBRILLO ORTEGA, Agustín, CÓRDOVA IZQUIERDO, Alejandro, HICKS GÓMEZ, Juán José et al. Peroxidación lipídica y antioxidantes en la preservación de semen: Una revisión. INCI, dic 2003 vol 28, nº 12, p 699-704.
62. MIKALSEN SO, KAALHUS O, REITH A, SANNER T (1990). Role of catalase and oxidative stress in hepatic peroxisome proliferator-induced morphological transformation of Syrian hamster embryo cells. *Int J Cancer* 46: 950-957.
63. MONTERO M. Los radicales libres y las defensas antioxidantes: revisión. *Anales de la Facultad de Medicina. UNMSM Vol 57 nº4, 1996*
isbib.unmsm.edu.pe/Brevistas/Anales/v57_n4/indice.htm
64. OKAZAKI Y., TANAKA Y., TONOJI M., YAMANE G. Investigation of environmental factors for diagnosing malignant potential in oral epithelial dysplasia. *Oral Oncology* 38 (6):562-573, 2002
65. OKAMOTO M, KAWAI K, REZNIKOFF CA, OYASU R (1996). Transformation in vitro of a non tumorigenic rat urothelial cell line by hydrogen peroxide. *Cancer Research* 56: 4649-4653.
66. OLALLA L, MATÉS JM. Radicales libres de oxígeno y enzimas antioxidantes. Universidad de Málaga. Encuentros en la biología, 1999 Nº56

67. PRYOR WA. Cigarette smoke radicals and the role of free radicals in chemical carcinogenicity. *Environ Health Perspect*. 1997 Jun; 105 Suppl 4: 875-82.
68. REES T. and ORTH Ch. Oral ulcerations with use of Hydrogen Peroxide. *J Periodontol* 57: 689, 1986.
69. RODRÍGUEZ B, ALONSO M, BOYERO E. Estrés oxidativo y sistema de defensa antioxidante. *Revista de Ciencias Médicas La Habana* 2003; 9(2)
70. SHAFFER W., HINE M., LEVY B. Y TOMICH Ch. Tratado de patología bucal. Cuarta edición. Editorial Nueva Editorial Interamericana, México 1987
71. SHARIF N., MACDONALD E., HUGHES J., NEWCOMBE R., ADDY M. In vitro chemical stain removal by 'whitening' toothpastes. *Br Dent J* 188 (2000): 620-624.
72. SCCP. European Comisión. Preliminary opinión on Hydrogen Peroxide in Tooth Whitening Products. 2nd plenary, December 2004
73. SHIBLY O, CCIANCIO SG, KAZMIERCZAK M, COHEN RE, MATHER ML, HO A, BESSINGER M. (1997). Clinical evaluation of the effect of a hydrogen peroxide mouth rinse, sodium bicarbonate dentifrice, and mouth moisturizer on oral health. *J Clin Dent* 8: 145-149.
74. SULIEMAN M., ADDY M., MACDONALD E., REES J. The effect of hydrogen peroxide concentration on the outcome of tooth whitening: an in vitro study. *Journal of Dentistry* 32 (2004):295-299.
75. SWIFT EJ, PERDIGAO J (1998). Effects of Bleaching of teeth and restorations. *Compend Contin Educ Dent* 19: 815-820.
76. TAKAHASHI M, HASEGAWA R, FURUKAWA F, TOYODA K, SATO H, HAYASHI Y (1986). Effects of ethanol, potassium metabisulfite, formaldehyde and hydrogen peroxide on gastric carcinogenesis in rats after initiation with N-metyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *Gann* 77: 118-124
77. TIPTON DA, BRAXTON SD, DABBOUS MK (1995). Effects of a bleaching agent on human gingival fibroblasts. *J Periodontol* 66: 7-13.
78. TEN CATE A, Histología oral. Desarrollo, estructura y función. 2da ed. Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, 1994.
79. TOMBES MB, GALLUCCI B (1993). The effects of hydrogen peroxide rinses on the normal oral mucosa. *Nursing Res* 42: 332-337.
80. TROLL W. Protease inhibitors interfere with the necessary factors of carcinogenesis. *Environ Health Perspect*. 1989 May; 81:59-62.

81. UPHAM BL, KANG KS, CHO HY, TROSCO JE. Hydrogen peroxide inhibits gap junctional intercellular communication in glutathione sufficient but not glutathione deficient cells. *Carcinogenesis*, 1997 Jan; 18 (1): 37-42.
82. VELÁSQUEZ JC. Principales protagonistas de la respuesta inflamatoria a la infección. *Rev Cubana Pediatr* ene-dic 1998; 70(2): 84-91.
83. WALSH F. T., RAWLINSON A., WILDGOOSE D., MARLOW I., HAYWOOD J., WARD J. Clinical evaluation of the stain removing ability of a whitening dentifrice and stain controlling system. *Journal of Dentistry* 33 (2005): 413-418.
84. WEITZMAN S.,WEITBERG A., STOSSEL T., SCHWARTZ J. and SHKLAR G. Effects of Hydrogen Peroxide on oral carcinogenesis in hamsters. *J. periodontal* 57: 685, 1986.
85. WENNSTRÖM JL, HEIJL L, DAHLEN G, GRONDAHL K, 1987. Periodic subgingival antimicrobial irrigation of periodontal pockets (I). Clinical observations. *J Clin Periodontol* 1987 Oct 14 (9): 541-59.
86. WHITEHEAD SP, WATTS TL. Short-term effect of Keyes approach to periodontal therapy compared with modified Widman flap surgery. *J Clin Periodontol* 1987 Nov: 599-604
87. WIEGAND A., VOLLMER D., FOITZIK M., ATTIN R., ATTIN T. Efficacy of different whitening modalities on bovine enamel and dentin. *Clin Oral Inves* 9(2005): 91-97.
88. WILKINSON C. F. Being more realistic about chemical carcinogenesis
Department of Entomology Cornell University, Ithaca, NY.
<http://pmep.cce.cornell.edu/facts-slides-self/facts/gen-pubre-carcin-wilkinson.html>
1990
89. WINER RA, CHAUNCEY HH, GARCIA R (1991). Effect of peroxy mouthrinse on chlorhexidine staining of teeth. *J Clin Dent* 3: 15-18.
90. ZAPPACOSTA B, PERSICHILLIS S, DE SOLE P, MORDENTE A, GIARDINA B. Effect of smoking one cigarette on antioxidant metabolites in the saliva of healthy smokers. *Archives of Oral Biology* 1999; 44: 485-488
91. ZOUAIN-FERREIRA SL, ZOUAIN-FERREIRA TR, DA SILVA CR, CERVAUTES DRAS KR, CALDEIRA-DE-ARANJA A, BERNARDO-FILHO M (2002). Radiation induced-like effects of four home bleaching agents used for tooth whitening effect on bacterial cultures with different capabilities of repairing deoxyribonucleic acid (DNA) damage. *Cell Mol Biol* 48 (5) 521-524.

ANEXOS

Anexo	1 a 29	Pruebas estadísticas de significancia
Anexo	30	Ficha de Recolección de Datos
Anexo	31	Fotos

ANEXO 1 GROSOR DEL EPITELIO TOTAL LADO APLICACIÓN

Tes de normalidad

GRUPO	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
H2O2 30%	0.172	24	0.063	0.852	20	0.002
H2O2 3%	0.183	20	0.078	0.846	20	0.005
AD	0.215	20	0.016	0.828	20	0.002

GET

Kruskal-Wallis Test

Rangos

GRUPO H2O2	N	R. medio
H2O2 30%	24	119.88
H2O2 3%	79	76.29
AD	43	42.49
Total	146	
Chi cuadrada	52.478	
gl	2	
Sig	0.000	

GET

Mann-Whitney Test

GRUPOS	N	Rango medio	suma de rangos
H2O2 30%	24	79.17	1900
H2O2 3%	79	43.75	3456
Total	103		
Mann-Whitney U	296		
Wilcoxon W	3456		
Z	-5.09		
Asymp. Sig. (2-tailed)	0.000		
H2O2 3%	79	72.54	5731
AD	43	41.21	1772
Total	122		
Mann-Whitney U	826		
Wilcoxon W	1772		
Z	-4.69		
Asymp. Sig. (2-tailed)	0.000		

ANEXO 2

GROSOR DEL EPITELIO TOTAL LADO NO APLICACIÓN

Prueba de normalidad

GRUPO	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk	
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl
H ₂ O ₂ 30%	0.174	20	0.112	0.809	20
H ₂ O ₂ 3%	0.148	20	0.20	0.840	20
AD	0.152	20	0.20	0.865	20

Test Kruskal-Wallis

GRUPO	N	Rango
		medio
H ₂ O ₂ 30%	37	114.824
H ₂ O ₂ 3%	78	76.949
AD	39	43.192
Total	154	
Chi-Square	49.099	
gl	2	
Asymp. Sig.	0.000	

Mann-Whitney Test

Rangos			
GRUPO	N	R medio	Suma
		R	R
H ₂ O ₂ 30%	37	80.24	2969
H ₂ O ₂ 3%	78	47.45	3701
Total	115		
Mann-Whitney U	620		
Wilcoxon W	3701		
Z	-4.931885		
Asymp. Sig. (2-tailed)	0.000		
H ₂ O ₂ 3%	78	69	5382
AD	39	39	1521
Total	117		
Mann-Whitney U	741		
Wilcoxon W	1521		
Z	-4.51862		
Asymp. Sig. (2-tailed)	0.000		

ANEXO 3

Test Wilcoxon de rangos con signo

H₂O₂ 30% LADO DE APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN

Rangos	N	R. medio	Suma R
Negativos	11	13.500	148.5
Positivos	13	11.654	151.5
Total	24	-	
Z	0.043		
Asymp. Sig. (2-tailed)	0.966		

ANEXO 4

TEST DE WILCOXON DE RANGOS CON SIGNO

GROSOR TOTAL DEL EPITELIO

H₂O₂ 3% LADO APLICACIÓN-LADO NO APLICACIÓN

Rangos negativos	15	19.5	292.5
Rangos negativos	25	21.1	527.5
Empates	22		
Total	62	-	
Z	1.670		
Asymp. Sig. (2-colas)	0.095		

ANEXO 5

TEST DE WILCOXON DE RANGOS CON SIGNO

AGUA DESTILADA

LADO DE APLICACIÓN - LADO DE NO

APLICACIÓN

Rangos	N	R Medio	Suma R
Negative Ranks	22	20.023	440.5
Positive Ranks	17	20.0	339.5
Total	39	-	
Z	-0.706		
Sig	0.480		

ANEXO 6

GROSOR CAPA QUERATINA LADO APLICACION

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
H2O2						
30%	0.213	20	0.018	0.908	20	0.059
H2O2 3%	0.309	20	0.000	0.560	20	0.000
AD	0.214	20	0.017	0.902	20	0.044

Test de Kruskal-Wallis

GRUPO DE H2O2	N	R. Medio
H2O2 30%	29	113.02
H2O2 3%	73	69.05
AD	43	52.71
Total	145	
Chi-Square	37.62	
gl	2	
Asymp. Sig.	0.000	

Test de Mann Whitney H2O2 30%-3%; H2O2 3%-AD

Rangos				
GRUPO H2O2	N	R Medio	Suma R	
H2O2 30%	29	75.09	2177.5	
H2O2 3%	73	42.13	3075.5	
Total	102			
Mann-Whitney U	374.5			
Wilcoxon W	3075.5			
Z	-5.108			
Sig (2 colas)	0.000			
<hr/>				
H2O2 3%	73	63.92	4666.5	
AD	43	49.29	2119.5	
Total	116			
Mann-Whitney U	1173.5			
Wilcoxon W	2119.5			
Z	-2.29			
Sig (2 cola)	0.022			

ANEXO 7

GROSOR CAPA QUERATINA

LADO NO APLICACION

Tests of Normality

Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
0.1347	20	0.2	0.876	20	0.015
0.2169	20	0.01	0.769	20	0.000
0.2561	20	0.00	0.761	20	0.000

Test de Kruskal-Wallis

	N	R.
GRUPO DE H ₂ O ₂		Medio
H ₂ O ₂ 30%	26	91.29
H ₂ O ₂ 3%	77	78.84
AD	40	46.29
Total	143	
Chi-Square	23.544	
gl	2	
Asymp. Sig.	0.000	

Test de Mann-Whitney

	N	R.	Suma R.
GRUPO H ₂ O ₂		Medio	
H ₂ O ₂ 30%	26	59.58	1549
H ₂ O ₂ 3%	77	49.44	3807
Total	103.00		
Mann-Whitney U	804		
Wilcoxon W	3807		
Z	-1.508		
Sig (2 colas)	0.13		
H ₂ O ₂ 3%	77	68.40	5267
AD	40	40.9	1636
Total	117		
Mann-Whitney U	816		
Wilcoxon W	1636		
Z	-4.206		
Asymp. Sig. (2-tailed)	0.000		

ANEXO 8

GROSOR CAPA QUERATINA Test Wilcoxon de rangos con signo H₂O₂ 30% LADO DE APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN

Rangos	N	R. medio	Suma R.
Negativos	12	9.46	113.5
Positivos	1		
Total	26		
Z	-1.319		
Asymp. Sig. (2-tailed)	0.187		

ANEXO 9 GROSOR CAPA QUERATINA Test Wilcoxon de rangos con signo H₂O₂ 3% LADO DE APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN

Rangos	N	R. medio	Suma R.
Negativos	26.000	32.33	840.5
Positivos	37.000	31.770	1175.5
Empates	10.000		
Total	73.000		
Z	-1.151		
Asymp. Sig. (2-tailed)	0.250		

ANEXO 10 GROSOR CAPA QUERATINA Test Wilcoxon de rangos con signo AD LADO DE APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN

Rangos	N	R. medio	Suma R.
Negativos	19	16.34	310.5
Positivos	14.000	17.89	250.5
Empates	7.000		
Total	40.000		
Z	-0.538		
Asymp. Sig. (2-tailed)	0.590		

ANEXO 11

CAPAS CÉLULAS ESPINOSAS

LADO APLICACION

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
H2O2						
30%	0.223	27	0.001	0.747	27	0.000
H2O2 3%	0.304	78	0.000	0.821	78	0.000
AD	0.302	42	0.000	0.734	42	0.000

Test de Kruskal-Wallis

		R.
GRUPO DE H2O2	N	Medio
H2O2 30%	20	113.35
H2O2 3%	78	69.09
AD	42	52.71
Total	140	
Chi-Square	34.22	
gl	2	
Asymp. Sig.	0.000	

Test de Mann-Whitney

GRUPO H2O2	N	R.	Suma R.
		Medio	
H2O2 30%	20	75.575	1511.5
H2O2 3%	78	42.8141	3339.5
Total	98		
Mann-Whitney U	258.5		
Wilcoxon W	3339.5		
Z	-4.80		
Asymp. Sig.(2-colas)	0.000		
H2O2 3%	78	65.78	5130.5
AD	42	50.70	2129.5
Total	120		
Mann-Whitney U	1226.5		
Wilcoxon W	2129.5		
Z	-2.45		
Sig (2 colas)	0.014		

ANEXO 12

CAPAS CÉLULAS ESPINOSAS

LADO NO APLICACION

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
H2O2						
30%	0.223	27	0.001	0.747	27	0.000
H2O2 3%	0.305	78	0.000	0.725	78	0.000
AD	0.282	38	0.000	0.801	38	0.000
<hr/>						
Test de Kruskal-Wallis						
<hr/>						
GRUPO DE H2O2	N		R.			
H2O2 30%	27		Medio			
H2O2 3%	78		123.96			
AD	38		66.26			
Total	143		46.86			
Chi-Square	62.447					
gl	2					
Asymp. Sig.	0.000					
<hr/>						
Test de Mann-Whitney						
<hr/>						
GRUPO H2O2	N		R.			
			Medio	Suma R.		
H2O2 30%	27		86.1852	2327		
H2O2 3%	78		41.5128	3238		
Total	105					
Mann-Whitney U	157					
Wilcoxon W	3238					
Z	-6.74					
Asymp. Sig.(2-colas)	0.000					
H2O2 3%	78	64.25	5011.5			
AD	38	46.6974	1774.5			
Total	116					
Mann-Whitney U	1033.5					
Wilcoxon W	1774.5					
Z	-2.83					
Sig (2 colas)	0.005					

ANEXO 13

CAPAS CÉLULAS ESPINOSAS

Test Wilcoxon de rangos con signo

H₂O₂ 30% LADO DE APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN

Rangos	N	R. medio	Suma R.
Negativos	8	14.8125	118.5
Positivos	12	7.625	91.5
Empates	0		
Total	20		
Z		0.504	
Asymp. Sig. (2-tailed)		0.614	

ANEXO 14

CAPAS CÉLULAS ESPINOSAS

Test Wilcoxon de rangos con signo

H₂O₂ 3% LADO DE APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN

Rangos	N	R. medio	Suma R.
Negativos	25	26.34	658.5
Positivos	28	27.59	772.5
Empates	25		
Total	78		
Z		-0.517	
Asymp. Sig. (2-tailed)		0.605	

ANEXO 15

CAPAS CÉLULAS ESPINOSAS

Test Wilcoxon de rangos con signo

AD LADO DE APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN

Rangos	N	R. medio	Suma R.
Negativos	11	11.45	126
Positivos	10	10.5	105
Empates	17		
Total	38		
Z		0.408	
Asymp. Sig. (2-tailed)		0.683	

ANEXO 16

PRESENCIA DE PAPILOMATOSIS

TEST CHI CUADRADA

LADO DE APLICACIÓN

Chi-Square Tests	Valor	gl	Sig 2 colas
Pearson Chi-Square	4.65	2	0.098
Likelihood Ratio	5.027	2	0.081
Linear-by-Linear Association	2.766	1	0.096
N of Valid Cases	60		

No hay valores esperados menores de 5

ANEXO 17

PRESENCIA DE PAPILOMATOSIS

TEST CHI CUADRADA

LADO DE NO APLICACIÓN

Chi-Square Tests	Valor	gl	Sig 2 colas
Pearson Chi-Square	1.19	2	0.551
Likelihood Ratio	1.18	2	0.554
Linear-by-Linear Association	1.13	1	0.287
N of Valid Cases	60		

No hay valores esperados menores de 5

ANEXO 18

PRESENCIA DE CRESTAS EPITELIALES PRONUNCIADOS

TEST CHI CUADRADA

LADO DE APLICACIÓN

Chi-Square Tests	Valor	gl	Sig 2 colas
Pearson Chi-Square	14.95	2	0.001
Likelihood Ratio	15.63	2	0.000
Linear-by-Linear Association	12.02	1	0.001
N of Valid Cases	60		

No hay valores esperados menores de 5

ANEXO 19

PRESENCIA DE CRESTAS EPITELIALES

PRONUNCIADOS

TEST CHI CUADRADA

LADO DE NO APLICACIÓN

Chi-Square Tests	Valor	gl	Sig 2 colas
Pearson Chi-Square	4.31	2	0.116
Likelihood Ratio	4.59	2	0.101
Linear-by-Linear Association	4.09	1	0.043
N of Valid Cases	60		

No hay valores esperados menores de 5

ANEXO 20

PRESENCIA DE HIPERCROMATISMO

NUCLEAR

TEST CHI CUADRADA

LADO DE APLICACIÓN

Chi-Square Tests	Valor	gl	Sig 2 colas
Pearson Chi-Square	6.93	2	0.031
Likelihood Ratio	8.18	2	0.017
Linear-by-Linear Association	6.42	1	0.011
N of Valid Cases	60		

No hay valores esperados menores de 5

ANEXO 21

PRESENCIA DE HIPERCROMATISMO

NUCLEAR

TEST CHI CUADRADA

LADO DE NO APLICACIÓN

Chi-Square Tests	Valor	gl	Sig 2 colas
Pearson Chi-Square	8.13	2	0.017
Likelihood Ratio	11.66	2	0.003
Linear-by-Linear Association	7.53	1	0.006
N of Valid Cases			

3 casillas tuvieron fe menores de 5

ANEXO 22

MEMBRANA BASAL INTERRUMPIDA

TEST CHI CUADRADA

LADO DE APLICACIÓN

Chi-Square Tests	Valor	gl	Sig 2 colas
Pearson Chi-Square	6.32	2	0.043
Likelihood Ratio	6.91	2	0.032
Linear-by-Linear Association	4.66	1	0.031
N of Valid Cases	60		

3 casillas tuvieron fe menores de 5

ANEXO 23

MEMBRANA BASAL INTERRUMPIDA

TEST CHI CUADRADA

LADO DE NO APLICACIÓN

Chi-Square Tests	Valor	gl	Sig 2 colas
Pearson Chi-Square	2.03	2	0.362
Likelihood Ratio	2	2	0.328
Linear-by-Linear Association	2	1	0.221
N of Valid Cases	60		

3 casillas tuvieron fe menores de 5

ANEXO 24

CARACTERÍSTICAS EPITELIALES CON H₂O₂ 30%

TEST CHI CUADRADA

LADO DE APLICACIÓN Y NO APLICACIÓN

PAPILOMATOSIS

Chi-Square Tests	Valor	gl	Sig 2 colas
Pearson Chi-Square	0.107	1	0.744
Continuity Correction(a)	0.000	1	1.000
Likelihood Ratio	0.107	1	0.744
Fisher's Exact Test			1.000
Linear-by-Linear Association	0.104	1	0.747
N of Valid Cases	40		

Chi-Square Tests	Valor	gl	Sig 2 colas
Pearson Chi-Square	5.23	1	0.022
Continuity Correction(a)	3.84	1	0.050
Likelihood Ratio	5.38	1	0.020
Fisher's Exact Test			0.048
Linear-by-Linear Association	5.10	1	0.024
N of Valid Cases	40		

HIPERCROMATISMO NUCLEAR

Chi-Square Tests	Valor	gl	Sig 2 colas
Pearson Chi-Square	0.11	1	0.744
Continuity Correction(a)	0	1	1
Likelihood Ratio	0.11	1	0.744
Fisher's Exact Test			1
Linear-by-Linear Association	0.10	1	0.747
N of Valid Cases	40		

MEMBRANA BASAL INTERRUMPIDA

Chi-Square Tests	Valor	gl	Sig 2 colas
Pearson Chi-Square	1.111	1	0.292
Continuity Correction(a)	0.278	1	0.598
Likelihood Ratio	1.158	1	0.282
Fisher's Exact Test			0.605
Linear-by-Linear Association	1.083	1	0.298
N of Valid Cases	40		

Tablas de contingencia 2x2 No hay fe menor de 5

ANEXO 25

CARACTERÍSTICAS EPITELIALES CON H₂O₂ 3%

TEST CHI CUADRADA

LADO DE APLICACIÓN Y NO
APLICACIÓN

PAPILOMATOSIS

Chi-Square Tests	Valor	gl	Sig 2 colas
Pearson Chi-Square	1.76	1	0.185
Continuity Correction(a)	0.99	1	0.320
Likelihood Ratio	1.78	1	0.183
Fisher's Exact Test			0.320
Linear-by-Linear Association	1.71	1	0.190
N of Valid Cases	40		

CRESTAS EPITELIALES PRONUNCIADOS

Chi-Square Tests	Valor	gl	Sig 2 colas
Pearson Chi-Square	0.114	1	0.736
Continuity Correction(a)	0	1	1
Likelihood Ratio	0.114	1	0.736
Fisher's Exact Test			1
Linear-by-Linear Association	0.111	1	0.739
N of Valid Cases	40		

HIPERCROMATISMO NUCLEAR

Chi-Square Tests	Valor	gl	Sig 2 colas
Pearson Chi-Square	0.125	1	0.723
Continuity Correction(a)	0	1	1
Likelihood Ratio	0.126	1	0.723
Fisher's Exact Test			1
Linear-by-Linear Association	0.122	1	0.727
N of Valid Cases	40		

MEMBRANA BASAL INTERRUMPIDA

Chi-Square Tests	Valor	gl	Sig 2 colas
Pearson Chi-Square			
Continuity Correction(a)	NO SE	ESTIMA	LA PRUEBA
Likelihood Ratio	POR LO	QUE LA	MAGNITUD
Fisher's Exact Test	ES	CONSTANTE	
Linear-by-Linear Association			
N of Valid Cases			

Tablas de contingencia 2x2 No hay fe menor de 5

ANEXO 26
CELULARIDAD EN EL
TEJ.CONECTIVO
TEST CHI CUADRADA

LADO DE APLICACIÓN

Chi-Square Tests	Valor	gl	Sig 2 colas
Pearson Chi-Square	20.09	4	0.000
Likelihood Ratio	20.16	4	0.000
Linear-by-Linear Association	18.55	1	0.000
N of Valid Cases	134		

No hay fe menor de 5

ANEXO 27

CELULARIDAD EN EL TEJ.CONECTIVO

TEST CHI CUADRADA

LADO DE NO APLICACIÓN

Chi-Square Tests	Valor	gl	Sig 2 colas
Pearson Chi-Square	11.55	4	0.021
Likelihood Ratio	11.58	4	0.021
Linear-by-Linear Association	6.97	1	0.008
N of Valid Cases	132		

No hay fe menor de 5

ANEXO 28

CELULARIDAD EN EL TEJ.CONECTIVO

H₂O₂ 30%

TEST CHI CUADRADA

LADO DE APLICACIÓN Y NO
APLICACIÓN

Chi-Square Tests	Valor	gl	Sig 2 colas
Pearson Chi-Square	2.29	2	0.318
Likelihood Ratio	2.30	2	0.317
Linear-by-Linear Association	1.93	1	0.165
N of Valid Cases	58		

No hay fe menor de 5

ANEXO 29
CELULARIDAD EN EL TEJ.CONECTIVO
H₂O₂ 3%
TEST CHI CUADRADA

LADO DE APLICACIÓN Y NO
APLICACIÓN

Chi-Square Tests	Valor	gl	Sig 2 colas
Pearson Chi-Square	7.291	2	0.026
Likelihood Ratio	7.423	2	0.024
Linear-by-Linear Association	1.974	1	0.160
N of Valid Cases	128		

No hay fe menor de 5

FICHA DE REGISTRO DE INFORMACIÓN N°

ANEXO 30

1.Grupo:

2.Número del hámster:

3.Peso al inicio:

4.Cambios a nivel de epitelio

LADO DE APLICACIÓN LADO DE NO APLICACIÓN

4.1. GROSOR EPITELIO en mm

4.2. GROSOR DE LA

CAPA QUERATINA en mm

4.3. CAPAS DE CÉLULAS en número

ESPINOSAS

4.4. Papilomatosis

SI

NO

4.5. Crestas epiteliales

pronunciados

SI

NO

4.6. Hipercromatismo nuclear

SI

NO

4.7. Interrupción de la membrana basal SI

NO

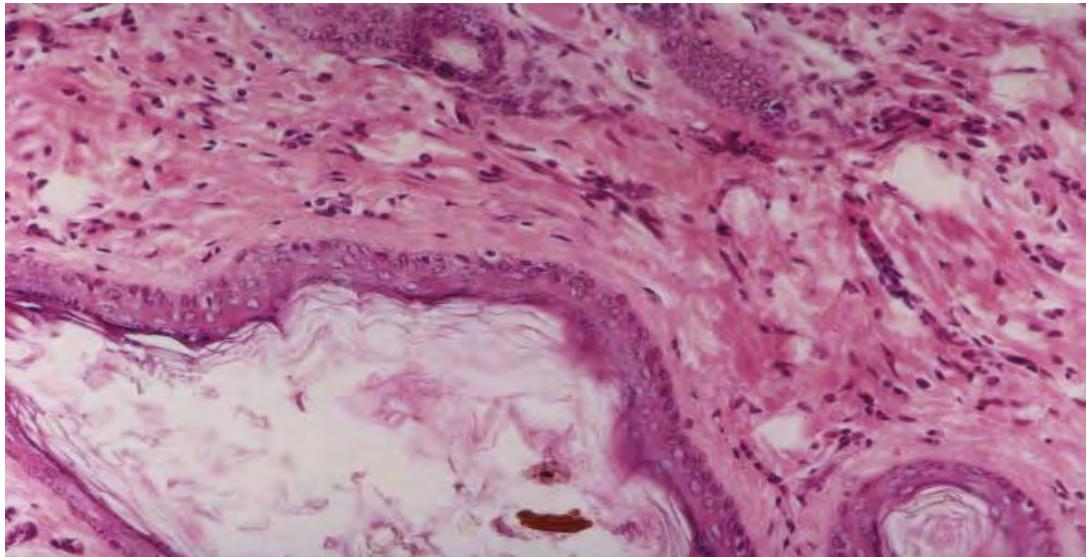
5. Células de inflamación ABUNDANTE

REGULAR

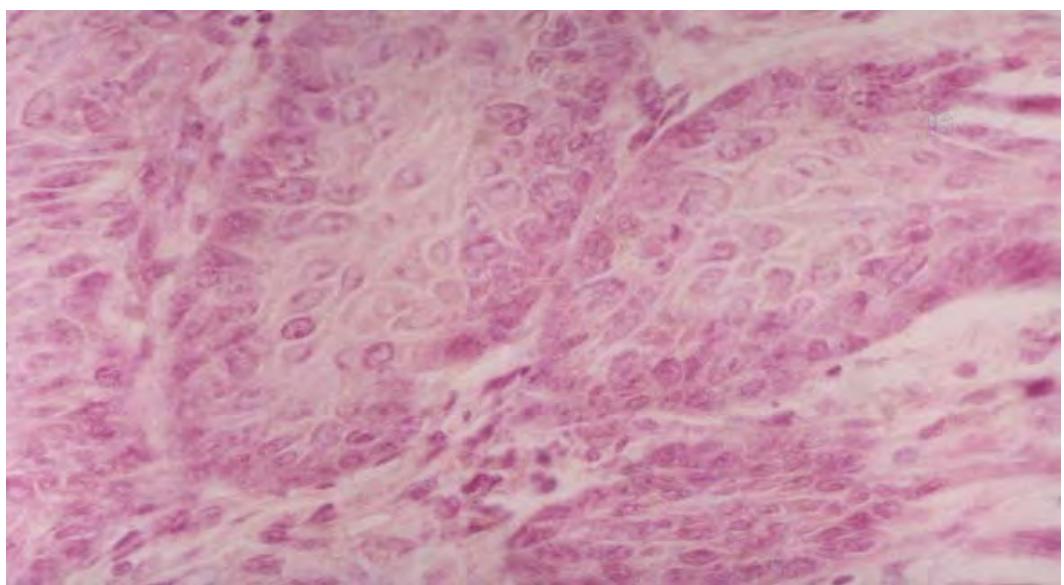
POCO

6. Peso final

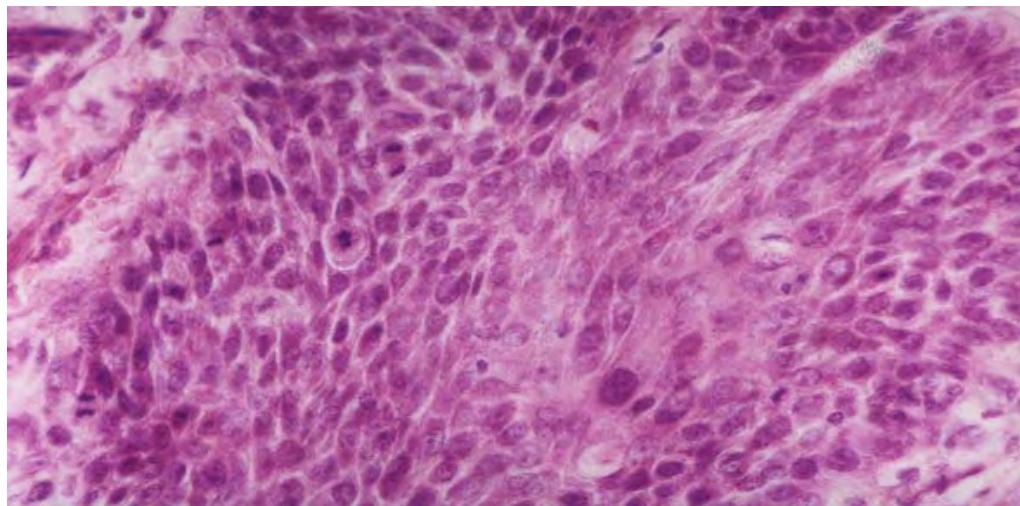
ANEXO 31: FOTOS



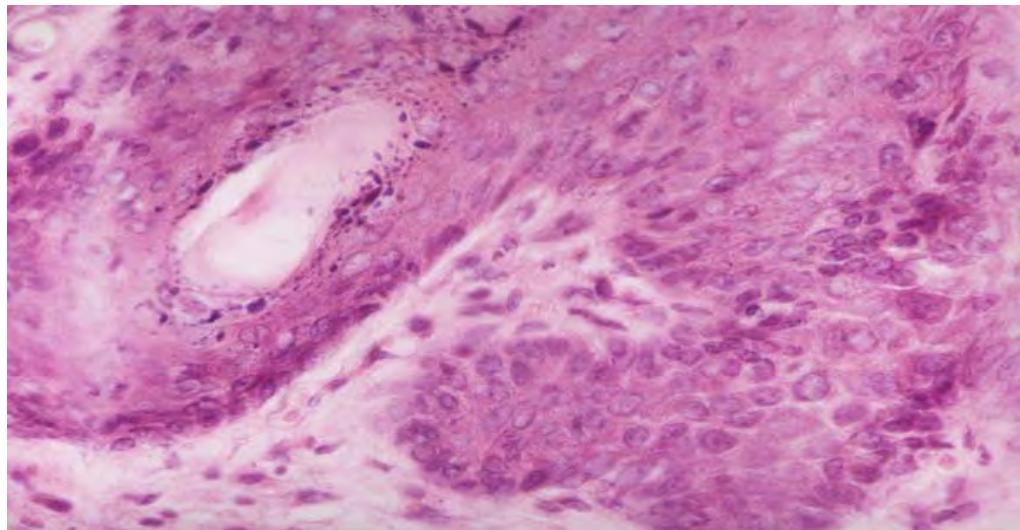
**1. PRESENCIA DE ABUNDANTE CÉLULAS INFLAMATORIAS
A NIVEL DEL TEJIDO CONECTIVO EN EL GRUPO CON H₂O₂ AL 30%**



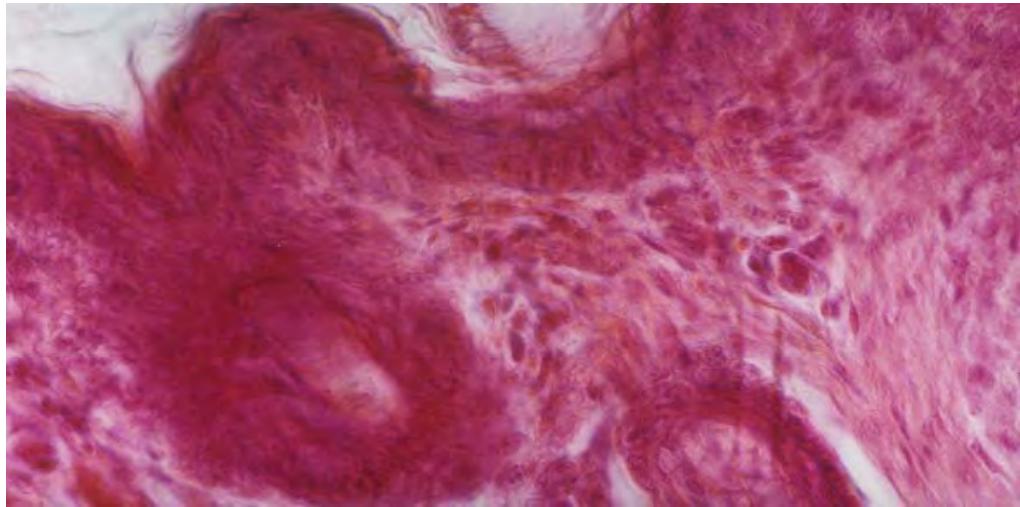
**2. ACANTOSIS- AUMENTO DEL GROSOR DEL EPITELIO
POLIESTRATIFICADO POR HIPERPLASIA DEL ESTRATO ESPINOSO
H₂O₂ 30%**



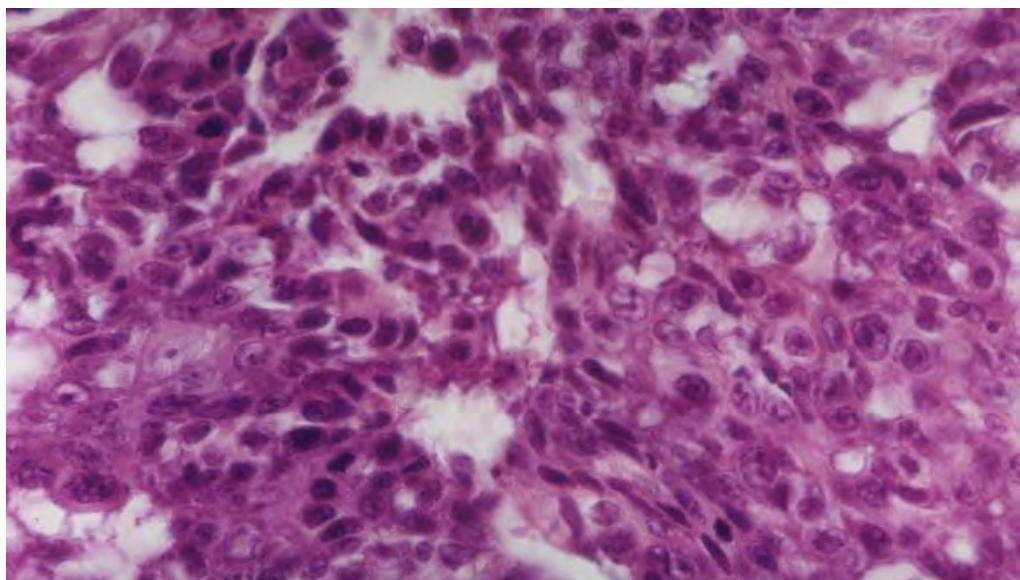
**3. DESARROLLO DE CARCINOMA EPIDERMOIDE H₂O₂ 30%
MITOSIS ATÍPICA, NÚCLEOS GRANDES HIPERCROMÁTICOS**



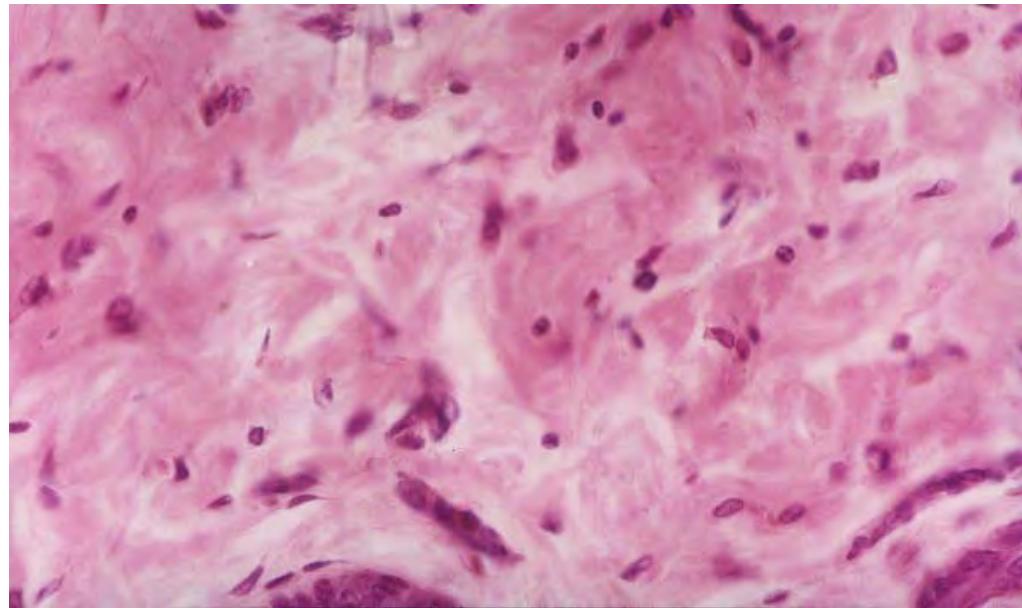
**4. CRESTAS EPITELIALES PRONUNCIADOS
“BORDES DE LA RED EN FORMA DE GOTA”**



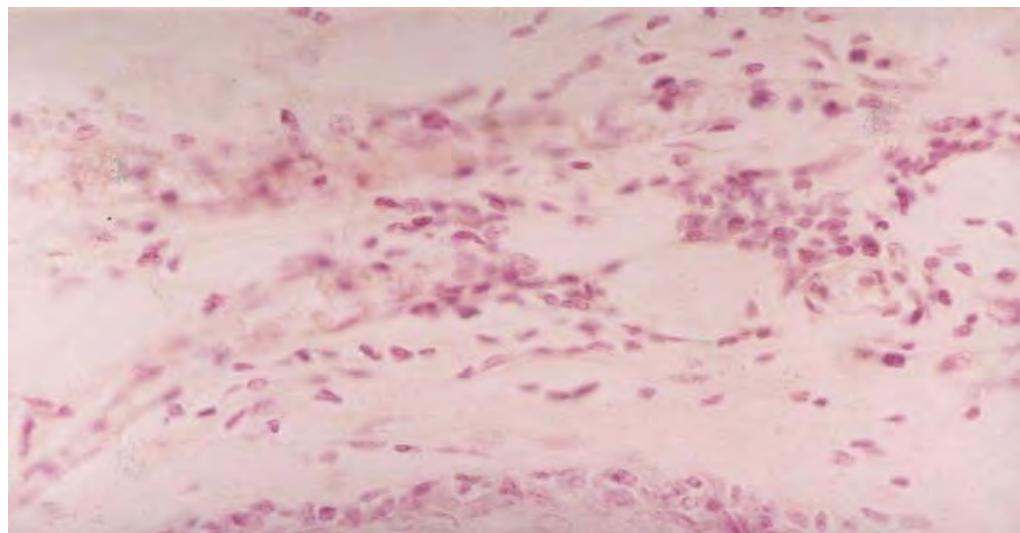
5. HIPERQUERATOSIS



6. PLEOMORFISMO NUCLEAR Y CELULAR, MITOSIS ATÍPICAS, NÚCLEOS GRANDES HIPERCROMÁTICOS



7. ESCASAS CÉLULAS INFLAMATORIAS TEJIDO CONECTIVO GRUPO AGUA DESTILADA



8. REGULAR CANTIDAD DE CÉLULAS INFLAMATORIAS A NIVEL DEL TEJIDO CONECTIVO