



Universidad  
Nacional  
de Córdoba



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA**

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

**ESCUELA DE POSGRADO**

**“INFLAMACIÓN DE LA MUCOSA BUCAL: SU RELACIÓN  
CON ÁCIDOS GRASOS DIETARIOS Y ENVEJECIMIENTO”**

TESISTA:

**OD. EVANGELINA CONSTANTINO**

DIRECTOR:

**PROF. DRA. ADRIANA BEATRIZ ACTIS**

**CÓRDOBA, 2021**



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



**Universidad Nacional de Córdoba**  
**Facultad de Odontología**  
**Escuela de Posgrado**

**INFLAMACIÓN DE LA MUCOSA BUCAL: SU RELACIÓN  
CON ÁCIDOS GRASOS DIETARIOS Y ENVEJECIMIENTO**

**TESIS DE DOCTORADO EN ODONTOLOGÍA**

**Od. Evangelina Costantino**  
**Becaria Doctoral de CONICET**

**Córdoba**  
**2021**

**Directora**

**Dra. Adriana Beatriz Actis**

**Codirectora**

**Dra. María Cristina Pistoresi**

**Asesor científico**

**Dr. René Luis Panico**

**Comisión de seguimiento de tesis**

**Dra. Silvia López de Blanc**

**Dra. Adriana Gruppi**

**Evaluador externo**

**Dra. Myriam Adriana Koss**

## ÍNDICE

<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	1
<b>ABREVIATURAS</b> .....	4
<b>RESUMEN</b> .....	7
<b>ABSTRACT</b> .....	9
<b>MARCO TEÓRICO</b> .....	11
<b>Inflamación</b> .....	12
Inflamación y cáncer.....	13
Inflamación en la mucosa bucal.....	14
<b>Desórdenes potencialmente malignos de la mucosa bucal</b> .....	15
Enfermedades liquenoides bucales.....	15
Liquen plano bucal.....	16
Lesión liquenoide bucal.....	17
Controversias sobre el diagnóstico de liquen plano y lesión liquenoide bucal.....	18
Riesgo de transformación maligna.....	19
<b>Cáncer bucal</b> .....	20
<b>Ácidos grasos</b> .....	22
Ácidos grasos e inflamación.....	26
<b>Envejecimiento</b> .....	28
<b>HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</b> .....	30
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	32
<b>Participantes</b> .....	33
<b>Materiales y métodos</b> .....	36
Información alimentario-nutricional.....	36
Muestra de saliva.....	36
Procesamiento de la información alimentario-nutricional.....	37
Análisis de citoquinas en saliva.....	37
Análisis de ácidos grasos en saliva.....	37
Análisis de eicosanoides en saliva.....	38
Análisis estadísticos.....	38
<b>RESULTADOS</b> .....	40

<b>DISCUSIÓN</b> .....	65
<b>CONCLUSIONES</b> .....	83
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	87
<b>Referencias bibliográficas del texto principal</b> .....	88
<b>Referencias bibliográficas del anexo</b> .....	102
<b>ANEXOS</b> .....	107
<b>Anexo 1</b> .....	108
<b>Anexo 2</b> .....	109
<b>Anexo 3</b> .....	110
<b>Anexo 4</b> .....	111
<b>Anexo 5</b> .....	112
<b>Anexo 6</b> .....	113
<b>Anexo 7</b> .....	114
<b>Anexo 8</b> .....	115
<b>Anexo 9</b> .....	116

## AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Adriana B. Actis, por quien siento un profundo cariño y admiración. A ella le debo el camino recorrido y mi agradecimiento eterno por confiar en mi trabajo. Atesoro su ejemplo diario como modelo a seguir, no solo en el ámbito académico y profesional sino también como mujer que ama incalculablemente la vida y lucha por un mundo más justo y humano. Gracias Adriana... por tu acompañamiento como directora de este trabajo de tesis pero también por tu saber como profesora, investigadora y amiga.

A la Dra. María Cristina Pistoressi, codirectora de este trabajo de tesis, por su gran apoyo y por abrirme las puertas del Centro de Investigación en Bioquímica Clínica e Inmunología, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, lo cual volvió factible el desarrollo y aprendizaje de diferentes técnicas de laboratorio en la disciplina.

A los miembros de la comisión de tesis y al tribunal, Dra. Silvia López de Blanc, Dra. Adriana Gruppi y Dra. Myriam Adriana Koss, por sus valiosos aportes y correcciones durante el desarrollo de este trabajo, así como también por el cariño y respeto hacia mi aprendizaje y desempeño ¡gracias!

A la Dra. Sofía Daiana Castell, por acompañarme y enseñarme tantas cosas en mi trabajo, por guiarme y aconsejarme pero, sobre todo, por transmitirme en cada entrada al laboratorio el hermoso espíritu investigador de su corazón.

Al Dr. René Panico y a todos los integrantes de la Cátedra A de Estomatología, quienes día a día pregonan en nuestra Facultad de Odontología la hermosa vocación de la investigación, la docencia y el servicio a los demás, sobre todo hacia aquellos que sufren enfermedad, otorgando el mejor de los tratamientos y trato humanizado.

A la Dra. María Eugenia Pasqualini, quien de manera desmedida me ha regalado sus conocimientos y confianza. Gracias a su tiempo y cariño he podido aprender, conocer y avanzar en mi trabajo. ¡Gracias Euge! porque siempre me fui con una gran sonrisa después de trabajar a tu lado.

A la Dra. Silvia López de Blanc y a todos los integrantes de la Cátedra B de Estomatología, por su respeto y generosidad, por su tiempo y trabajo.

Al Dr. Eduardo Piemonte, por su cariño y tantos consejos oportunos. Gracias por confiar en mí y por el saber desinteresado.

A la Dra. Roxana Morelato, Fofi, por su cariño y momentos compartidos.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), por la beca otorgada, gracias a la cual he podido tener dedicación exclusiva de mi tiempo para el desarrollo de este trabajo de tesis y para mi formación.

Al Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (INICSA), por ser mi lugar de trabajo y permitir el desarrollo de esta tesis. Gracias a todos sus miembros por el gran aporte que realizan a diario para el avance de la ciencia y el conocimiento.

A la Dra. Patricia Quiroga y al Dr. Gastón Repossi, por sus conocimientos, trabajo y acompañamiento.

A Marcela Carranza, por su cariño, respeto y trabajo, por ser una persona de bien al servicio de los demás y tener siempre la palabra justa y humana para quien lo necesita.

A Yanet Alvarez, por su mimo cada mañana con un rico café, porque estuvo presente con su oído y corazón en momentos difíciles de mi vida en donde había que seguir trabajando... Besos al cielo, querida Yanet.

A los integrantes del Laboratorio 108 del Centro de Investigación en Bioquímica Clínica e Inmunología, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Sofi, Flor, Mer, Ine, Coti, Nico, Niño, Cristina, Belkys, Gabi, por el cariño y acompañamiento, porque a través de su trabajo cotidiano han sido para mí motivo de inspiración y alegría en el camino de la ciencia.

A mis compañeros de equipo de investigación: Dr. Jorge Dario Escandriolo Nackauzi, Dra. Verónica Heinze, Od. Cesar Combina, por sus aportes en la elaboración de este trabajo de tesis.

A la Mgter. Patricia Bertolotto por su tiempo, cariño y asesoramiento en este trabajo.

Al Dr. Pablo Fontanetti, por ser un excelente profesional y motivar en mí el deseo de cruzar fronteras, intercambiar y compartir conocimientos, disfrutar de otras culturas y universidades, sembrar amistades y cosechar experiencias que guardo en mi corazón.

A la Lic. Rosario Montequín, por su amistad, trabajo y aportes profesionales en esta tesis.

A mis compañeros de Cátedra, por compartir, en este camino de formación, la docencia y el trabajo.

A los pacientes y voluntarios que formaron parte de este trabajo de tesis, por su valioso y desinteresado aporte.

A la Escuela de Posgrado, a los integrantes del Consejo Asesor de Doctorado y, muy especialmente, a Sofía y a Liliana quienes con mucha responsabilidad y respeto respondieron a cada inquietud y acompañaron mi desempeño.

A mis padres, Eduardo y Lidia, y a mi hermano Emanuel, por acompañarme con tanto entusiasmo en cada sueño que emprendo. Gracias por ser el lugar físico y emocional a donde puedo volver segura de sentirme inmensamente amada.

A mi esposo Guillermo y a nuestra hija Ernestina. Gracias compañero, por tu apoyo incondicional y el respeto con el que valoras mi profesión y trabajo.

Finalmente...gracias a Dios, por todas las personas que me regala a diario, por las grandes oportunidades que presenta en mi vida y por brindarme su amor incondicional.

## ABREVIATURAS

**AA:** ácido araquidónico

**AAL:** ácido alfa linolénico

**ADGL:** ácido dihomo-gamma-linolénico

**ADH:** ácido docosaheptaenoico

**ADN:** ácido desoxirribonucleico

**ADP:** ácido docosapentaenoico

**AEP:** ácido eicosapentaenoico

**AG:** ácido graso/ácidos grasos

**AGL:** ácido gamma-linolénico

**AGPI:** ácidos grasos poliinsaturados

**AGS:** ácidos grasos saturados

**AGSa:** ácido graso en saliva/ ácidos grasos en saliva

**AL:** ácido linoleico

**ARNm:** ácido ribonucleico mensajero

**BSA:** albúmina sérica bovina (*bovine serum albumin*)

**CAIS:** Comité Académico de Investigación en Salud

**CBCE:** carcinoma bucal de células escamosas

**CHREBP:** proteína de unión al elemento de respuesta a carbohidratos (*carbohydrate-responsive element-binding protein*)

**CIEIS:** Comité Institucional de Ética en Investigaciones en Salud

**COX:** ciclooxigenasa

**DAMPs:** patrones moleculares asociados a daño (*danger-associated molecular patterns*)

**ELISA:** ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (*enzyme-linked immunosorbent assay*)

**g:** gramo

**H/E:** hematoxilina/eosina

**HETE:** ácido hidroxieicosatetraenoico

**5-HETE:** ácido 5-hidroxieicosatetraenoico

**12-HETE:** ácido 12-hidroxieicosatetraenoico

**15-HETE:** ácido 15-hidroxieicosatetraenoico

**15-HETrE:** ácido 15-hidroxieicosatetraenoico

**HEPE:** ácido hidroxieicosapentaenoico

**18-HEPE:** ácido 18-hidroxieicosapentaenoico

**HODE:** ácido hidroxióctadecadienoico

**13-HODE:** ácido 13- hidroxióctadecadienoico

**HPETE:** ácido hidroperoxieicosatetraenoico

**5-HPETE:** ácido 5-hidroperoxieicosatetraenoico

**12-HPETE:** ácido 12-hidroperoxieicosatetraenoico

**15-HPETE:** ácido 15-hidroperoxieicosatetraenoico

**HPLC:** cromatografía líquida de alta resolución (*high performance liquid chromatography*)

**12-HHT:** ácido 12-hidroxiheptadecatrienoico

**IL-1- $\alpha$ :** interleuquina-1 $\alpha$

**IL-1 $\beta$ :** interleuquina-1 $\beta$

**IL-2 a IL-23:** interleuquina 2 a 23

**IFN $\gamma$ :** interferon gamma

**I $\kappa$ B:** subunidad inhibidora de NF- $\kappa$ B

**Kg:** kilogramo

**LOX:** lipooxigenasa

**LOX-5:** lipooxigenasa-5

**LOX-15:** lipooxigenasa-15

**LOX-12:** lipooxigenasa-12

**LPS:** lipopolisacárido/lipopolisacáridos

**LT:** leucotrienos

**LTB<sub>4</sub>:** leucotrieno B<sub>4</sub>

**LXA<sub>4</sub>:** lipoxina A<sub>4</sub>

**mg:** miligramo

**min:** minuto

**mL:** mililitro

**MyD88:** proteína de respuesta primaria a la diferenciación mieloides 88 (*Myeloid differentiation primary response 88*)

**NF- $\kappa$ B:** factor de transcripción nuclear kappa beta (*nuclear factor kappa-beta*)

**ng:** nanogramo

**NIC:** nivel de inserción clínica

**OMS:** Organización Mundial de la Salud

**PBS:** solución *buffer* fosfato

**pg:** picogramo

**PAMPs:** patrones moleculares asociados a patógenos (*pathogen associated molecular patterns*)

**PG:** prostaglandinas

**PGE<sub>1</sub> a PGE<sub>3</sub>:** prostaglandina E<sub>1</sub> a E<sub>3</sub>

**PGH<sub>2</sub>:** prostaglandina H<sub>2</sub>

**PPAR- $\gamma$ :** receptor gamma activado por proliferador de peroxisoma (*peroxisome proliferator activated receptor gamma*)

**PS:** profundidad de sondaje

**rpm:** revoluciones por minuto

**SECyT:** Secretaría de Ciencia y Tecnología

**SREBP-1c:** proteína de unión al elemento regulador del estero ( *sterol regulatory element-binding protein 1*)

**STAT3:** transductor de señal y activador de la transcripción 3 (*signal transducer and activator of transcription 3*)

**TGF- $\beta$ :** factor de crecimiento transformante beta (*transforming growth factor beta*)

**Th1, Th2, Th17:** células T *helper* 1, 2, 17

**TLR:** receptor *toll like* (*toll like receptor*)

**TLR-4:** receptor *toll like 4* (*toll like receptor-4*)

**TNF:** factor de necrosis tumoral (*tumor necrosis factor*)

**TXAS:** tromboxano sintetasa

**TX:** tromboxanos

**TXA<sub>2</sub>:** tromboxano A<sub>2</sub>

**$\mu$ L:** microlitro

**$\mu$ m:** micrómetro

**UNC:** Universidad Nacional de Córdoba

**%á:** porcentaje de área

## RESUMEN

**Objetivo:** analizar la relación entre AG dietarios y envejecimiento y la inflamación de la mucosa bucal, determinada a través de citoquinas en saliva, de personas sanas y con diagnóstico de enfermedades liquenoides bucales (ELB) y carcinoma bucal de células escamosas (CBCE).

**Participantes, materiales y métodos:** se incluyeron 95 participantes distribuidos de la siguiente manera: 64 voluntarios de ambos sexos, aparentemente sanos, divididos en tres grupos etarios: 20-39 (G1; n=20), 40-59 (G2; n=24), 60-80 (G3; n=20); 31 personas que concurren a las Cátedras A y B de Estomatología y al Servicio de diagnóstico y prevención de cáncer bucal, Facultad de Odontología (FO)-UNC, con diagnóstico clínico de ELB (G4; n=20), y CBCE (G5; n=11) sin tratamiento (40-80 años). En cada participante se realizó historia clínica, examen del sistema estomatognático y periodontal. Se completó una encuesta de frecuencia de consumo alimentario cualitativo-cuantitativo validada. Los datos se procesaron mediante *Interfood v.1.3*. De cada participante se obtuvo saliva total no estimulada y se determinaron IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF (ELISA), eicosanoides 12-HHT, 13-HODE, 5- y 12-HETE (HPLC), y AG (cromatografía de gas). Se empleó prueba de Kruskal Wallis y coeficiente de correlación de Spearman ( $p < 0,05$ ). Los aspectos éticos fueron aprobados por el CIEIS-FO.

**Resultados:** los niveles de IL-1 $\beta$  y TNF fueron más bajos en G2 y G3 que en G1, e IL-6 en G3 con respecto a G2 y G1. No se observaron diferencias según sexo en ningún grupo. IL-6 y TNF fueron mayores en personas con lesión bucal que en sanas con edades similares. Se observó que IL-6 disminuye a mayor ingesta de AG n-3 en G1 y G3, pero también aumenta en G3 a mayor consumo de AG saturados (AGS). IL-6 e IL-1 $\beta$  disminuyen a mayor ingesta de AGS en G2. TNF disminuye a mayor consumo de AG n-3 en G1, G2 y G3, pero aumenta con mayor ingesta de AG n-6 en G2 y G3, y de AGS en G1 y G3. En CBCE, IL-1 $\beta$  e IL-6 aumentan a mayor consumo de AGS 12:0 y 20:0, respectivamente. Se hallaron asociaciones entre AG dietarios y en saliva: *positivas* para 18:3 n-3 en G1 y G2, y 18:2 n-6 y 20:4 n-6 en G1, G2 y G3; *negativas* entre 20:5 n-3 y 22:6 n-3 dietarios y el 18:2 n-6 en saliva de G3; *positiva* entre 18:3 n-3 dietario y el 22:5 n-3 en saliva de ELB, y entre el total de AGPI dietarios y el 22:5 n-3 en saliva de CBCE. Los niveles de eicosanoides 13-HODE, 5 y 12-HETE fueron mayores en personas con lesión bucal que en sanas. Se encontraron las siguientes asociaciones entre AG dietarios y eicosanoides en saliva: en G1, *negativas* entre 18:2 n-6 y 18:3 n-3 y 12-HETE, y *positiva* entre 18:2 n-6 y 5-HETE; en

ELB, *positiva* entre 18:2 n-6 y 12-HHT, y *negativas* entre 18:3 n-6 y 20:4 n-6 y 5-HETE; en CBCE, *negativas* entre 18:3 n-6 y 12-HHT, y 18:2 n-6 y 13-HODE.

**Conclusiones:** el envejecimiento y la ingesta de AG n-3 se asocian, en personas sanas, a una disminución de la concentración de citoquinas proinflamatorias en saliva, en tanto que lo contrario ocurre con el consumo de AG n-6 y AGS. Además, estos últimos se asocian a un aumento de esas citoquinas en saliva de pacientes con cáncer. Es necesario continuar investigando a fin de contribuir en el avance de técnicas complementarias de diagnóstico y en las recomendaciones alimentarias tendientes a prevenir el desarrollo de enfermedades inflamatorias y cáncer bucal.

## ABSTRACT

**Objective:** to analyze the relationship between dietary fatty acids (FA) and ageing and inflammation of the oral mucosa, determined through salivary cytokines, in healthy subjects and persons with a diagnosis of oral lichenoid diseases (OLD) and oral squamous cell carcinoma (OSCC).

**Participants, materials and methods:** 95 participants were included in the study and distributed as follows: 64 healthy volunteers of both sexes divided into groups according to age: 20-39 (G1; n=20), 40-59 (G2; n=24), 60-80 (G3; n=20); 31 persons with a clinical diagnosis of OLD (G4; n=20) and OSCC (G5; n=11) (40-80 years old) with no previous treatment (they attended the Department of Stomatology and the Service of diagnosis and prevention of oral cancer, School of Dentistry, National University of Córdoba). A clinical history as well as an examination of the stomatognathic system and periodontal tissues were performed. A validated qualitative-quantitative food frequency questionnaire was completed. Data were processed using Interfood v.1.3. Mixed unstimulated saliva was obtained from each participant to analyze IL-1 $\beta$ , IL-6 and TNF (ELISA), eicosanoids 12-HHT, 13-HODE, 5- and 12-HETE (HPLC), and FA (chromatography of gas). Kruskal Wallis test and Spearman's correlation coefficient were used ( $p < 0.05$ ). The ethical aspects were approved by CIEIS-FO.

**Results:** IL-1 $\beta$  and TNF levels were lower in G2 and G3 than in G1, and IL-6 in G3 with respect to G2 and G1. No differences according to sex were found in any group. IL-6 and TNF were higher in oral lesion bearing participants than in healthy subjects of similar ages. IL-6 decreased with a higher n-3 FA intake in G1 and G3, but also increased in G3 with a higher consumption of saturated FA (SFA). IL-6 and IL-1 $\beta$  decreased with a higher SFA intake in G2. TNF decreased with a higher consumption of n-3 FA in G1, G2 and G3, but increased with a greater n-6 FA intake in G2 and G3, and of SFA in G1 and G3. An increase of IL-1 $\beta$  and IL-6 was observed in OSCC with a higher consumption of 12:0 and 20:0 saturated FA, respectively. The following associations were found between dietary and salivary FA: *positive* for 18:3 n-3 in G1 and G2, and 18:2 n-6 and 20:4 n-6 in G1, G2 and G3; *negative* between dietary 20:5 n-3 and 22:6 n-3 and salivary 18:2 n-6 in G3; *positive* between dietary 18:3 n-3 and salivary 22:5 n-3 in OLD, and between total dietary PUFA and salivary 22:5 n-3 in OSCC. 13-HODE, 5 and 12-HETE eicosanoids were higher in oral lesion bearing patients than in healthy subjects. The following associations between dietary FA and salivary eicosanoids were found: in G1, *negative* between 18:2 n-6 and

18:3 n-3 and 12-HETE, and *positive* between 18:2 n-6 and 5-HETE; in OLD, *positive* between 18:2 n-6 and 12-HHT, and *negative* between 18:3 n-6 and 20:4 n-6 and 5-HETE; in OSCC, *negative* between 18:3 n-6 and 12-HHT, and 18:2 n-6 and 13-HODE.

**Conclusions:** ageing and the intake of n-3 FA are associated with a decrease of proinflammatory salivary cytokine concentration in healthy subjects, while the opposite occurs with the n-6 and saturated FA consumption. Furthermore, the intake of SFA is associated with an increase in these salivary markers of inflammation in cancer patients. Further studies are necessary in order to contribute to the advancement of complementary diagnostic techniques and to dietary recommendations oriented to the prevention of inflammatory diseases and oral cancer.

# MARCO TEÓRICO

La inflamación es un proceso fisiológico necesario para el correcto funcionamiento del organismo, pero cuando persiste puede favorecer el desarrollo de cáncer. La mucosa bucal es sitio de asiento de procesos inflamatorios como los desórdenes potencialmente malignos y el cáncer bucal. La dieta y el envejecimiento juegan un papel importante en la modulación de los procesos inmunológicos y la inflamación.

## **INFLAMACIÓN**

La inflamación es una respuesta inmune innata, indispensable para la homeostasis del hospedador contra patógenos invasores y para la cicatrización de los tejidos, que puede ser aguda o crónica (1-4). La inflamación aguda se caracteriza por el movimiento de proteínas séricas y leucocitos, desde la sangre hacia el tejido extravascular, con reclutamiento inicial de neutrófilos seguido de monocitos que se diferencian en macrófagos (4,5). Esos eventos iniciales relacionados con un aumento de la permeabilidad vascular e infiltrado leucocitario son regulados por mediadores lipídicos -como prostaglandinas (PG), leucotrienos (LT) y endocannabinoides- péptidos como citoquinas y quimiocinas (3,4,6-8) (véase ANEXO 1), especies reactivas de oxígeno, derivados de aminoácidos y enzimas (4).

La inflamación normalmente es autolimitada y se resuelve rápidamente debido a la secreción de citoquinas antiinflamatorias y mediadores lipídicos proresolución, que actúan para inhibir la señalización proinflamatoria, y también a la pérdida de receptores para mediadores inflamatorios y a la activación de células que regulan a otras que tienen acción inflamatoria (4,9). Dentro de los mediadores antiinflamatorios endógenos se encuentran las resolvinas, lipoxinas, protectinas y maresinas, biosintetizadas a partir de los ácidos grasos (AG) n-3 (4,6,9-12). La supresión del infiltrado leucocitario revierte la vasodilatación, la permeabilidad vascular y promueve la eliminación de células inflamatorias, exudado y detritus del tejido, restaurando la homeostasis (6,13).

Sin embargo, si la resolución oportuna de la inflamación falla, ésta persiste y puede progresar a inflamación crónica y a enfermedades autoinmunes (3,4,14-16). La mayoría de las características de la inflamación aguda continúan a medida que se vuelve crónica, incluida la vasodilatación, el aumento del flujo sanguíneo, la permeabilidad capilar y la migración de neutrófilos al tejido lesionado o infectado. Los macrófagos y linfocitos comienzan a reemplazar a los neutrófilos (17) los que, junto a las células plasmáticas, producen citoquinas inflamatorias, factores de crecimiento y enzimas, y contribuyen a la progresión del daño tisular y la reparación secundaria, incluida la fibrosis y la formación

de granulomas (18). En respuesta a antígenos extraños o autoantígenos, los macrófagos y las células dendríticas liberan citoquinas como interleuquina 1- $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) y factor de necrosis tumoral (TNF), las que inducen a las células endoteliales a liberar selectinas e integrinas que estimulan la quimiotaxis y la diapédesis de los leucocitos circulantes. Los macrófagos y células dendríticas también desempeñan un papel importante en la eliminación del antígeno por fagocitosis y en la liberación de citoquinas, además de que actúan como presentadoras de antígeno para los linfocitos. Una vez que los leucocitos circulantes ingresan al sitio de la lesión son activados por las diversas citoquinas y quimiocinas secretadas y liberan aún más citoquinas y mediadores de la inflamación (17,18) (Véase ANEXO 1).

### **Inflamación y cáncer**

La inflamación persistente puede favorecer la aparición y el desarrollo de cáncer al promover el crecimiento de vasos sanguíneos, la proliferación de células neoplásicas malignas y la invasión tumoral (19-21). Las células del microambiente inflamatorio, basado en citoquinas proinflamatorias, estimulan la activación de las especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno que juegan un papel importante en los daños del ADN (3, 21-27). Se producen mutaciones y, como resultado, los genes supresores de tumores como p53 pueden inactivarse, mientras que oncogenes como Kras pueden activarse (25,28). Todo esto genera una estimulación sostenida de vías de señalización, como la del factor de transcripción nuclear kappa beta (NF- $\kappa$ ) y el transductor de señal y activador de la transcripción 3 (STAT3) (20,25), que promueve la proliferación y diferenciación de células epiteliales y endoteliales, y el desarrollo de cáncer (20).

El microambiente tumoral presenta varios tipos de células inflamatorias, incluidos los fibroblastos, macrófagos, pericitos y células endoteliales que forman los vasos sanguíneos del tumor. Las células tumorales se comunican con esas células inflamatorias, mediante la secreción de citoquinas y factores de crecimiento, para favorecer el desarrollo tumoral y generar resistencia. Las citoquinas son esenciales e incluyen IL-1 $\beta$ , interleuquina-6, -17 y -23 (IL-6, IL-17, IL-23), TNF, factor de crecimiento transformante beta (TGF- $\beta$ ) y factores estimulantes de colonias (21,28,29). Todo ese ambiente inflamatorio continúa estimulando las vías de señalización NF- $\kappa$  y STAT3, las que promueven el avance del cáncer a través de diferentes mecanismos (28).

A continuación se presentan algunos ejemplos acerca de la relación entre inflamación crónica y tumorigénesis: infección por *Helicobacter pylori*, gastritis crónica y

cáncer gástrico; tabaquismo, desarrollo de neumonía crónica y cáncer de pulmón; virus de hepatitis B y C, desarrollo de hepatitis crónica y cáncer hepático (20,21,28); enfermedad inflamatoria intestinal y cáncer colorrectal (21,25,28); inflamación cutánea asociada a la radiación ultravioleta y cáncer de piel; litiasis biliar, colecistitis crónica y cáncer de vesícula biliar (21).

### **Inflamación en la mucosa bucal**

La mucosa bucal, que en estado de salud actúa como barrera de protección, también puede ser sitio de asiento de procesos inflamatorios y cáncer (30-34). Lesiones físicas, infecciones microbianas y reacciones inmunes, dan como resultado la inducción de péptidos antimicrobianos y producción de citoquinas y quimiocinas que promueven el infiltrado celular, la respuesta vascular, destrucción de tejidos y proliferación celular (32). Además, la mucosa bucal tiene un notable potencial regenerativo y su epitelio se reemplaza constantemente con un rápido recambio de las células de la superficie, actuando como un mecanismo protector contra esos ataques (35,36).

Los queratinocitos participan en la defensa del hospedador, ya que constituyen una barrera física y producen citoquinas para provocar inflamación en respuesta a una infección o lesión (34,35,37-39). La mucosa bucal posee, además, células del sistema inmune innato como macrófagos, células dendríticas, células de Langerhans y *natural killer*, leucocitos polimorfonucleares y sus mediadores inflamatorios que incluyen citoquinas, quimiocinas, péptidos antibacterianos y componentes del sistema del complemento. La inmunoglobulina A secretoria, los mediadores biológicos derivados de los queratinocitos bucales y los componentes del líquido crevicular gingival también aportan a la inmunidad de la mucosa bucal (31,34,39,40).

Los queratinocitos y las células del sistema inmune innato en la lámina propia de la mucosa bucal detectan distintos patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) a través de receptores de reconocimiento de patrones tales como *Toll-like*, receptores de lectina tipo C, de manosa y receptores dominio de oligomerización por unión de nucleótidos. Ellos reconocen patrones moleculares bacterianos, virales, fúngicos y protozoarios y, tras la activación, median la secreción de citoquinas y quimiocinas, e inducen respuestas inflamatorias -a través de células T *helper* (Th) 1, Th2 y Th17- o tolerancia inmune periférica (31,34,39).

La inmunidad de la mucosa puede ser analizada en la saliva a través de marcadores de inflamación como las citoquinas. La saliva es un fluido biológico que puede ser

recolectado por el paciente de manera sencilla y no invasiva (41-44). Es eficaz para la predicción, diagnóstico y pronóstico del cáncer bucal, ya que permite la medición de macromoléculas salivales específicas, tales como enzimas, factores de crecimiento, metaloproteinasas, endotelinas, telomerasas, citoqueratinas, transcripciones del ARNm y ADN, además de las citoquinas ya mencionadas (27,44-49). Además, la saliva es empleada para el diagnóstico de desórdenes hereditarios, endocrinos, enfermedades autoinmunes, infecciosas y desórdenes potencialmente malignos (27,41,49-52). En el ANEXO 2 se presenta un esquema sobre los componentes y mecanismos de formación de la saliva.

## **DESÓRDENES POTENCIALMENTE MALIGNOS DE LA MUCOSA BUCAL**

Los desórdenes potencialmente malignos de la mucosa bucal comprenden un grupo heterogéneo de lesiones asociadas con un riesgo variable de transformación maligna. Poseen una amplia gama de características clínicas que incluyen variaciones de color (blanco, rojo y mixtas), cambios topográficos (placa/meseta, liso, corrugado, verrugoso, granular, atrófico) y tamaño variable de las lesiones. Pueden afectar a cualquier sitio anatómico de la cavidad bucal y ser unifocales o multifocales (53). Durante la transformación maligna de esas lesiones, se produce la liberación de citoquinas y la activación de la inmunidad innata, lo que genera la activación de NF- $\kappa$ B y la presencia de IL-1 $\beta$ , IL-6 e interleuquina-8 (IL-8), asociadas a carcinoma bucal de células escamosas (54).

Las enfermedades liquenoides bucales, junto a la leucoplasia, eritroplasia, fibrosis submucosa y leucoplasia verrugosa proliferativa, se encuentran entre los desórdenes potencialmente malignos más comunes (27,53,55-59).

### **Enfermedades liquenoides bucales**

Los dos subtipos clínicos principales de enfermedades liquenoides bucales son el liquen plano y la lesión liquenoide. La pápula blanca es la lesión clínica característica de esas enfermedades, habitualmente lineal y con disposición reticular, que siempre debe estar presente en la mucosa bucal para realizar su diagnóstico clínico (59). En todos los casos clínicamente compatibles con estas enfermedades es necesario realizar un análisis histopatológico a través de una o más biopsias para completar el diagnóstico, descartar otras patologías y evaluar la presencia de displasia epitelial. Las enfermedades liquenoides bucales son procesos inflamatorios crónicos que, a pesar de su aún discutido diagnóstico,

por falta de consenso y confusión en la terminología -y dudas acerca de la incidencia de su transformación maligna- pueden evolucionar a cáncer (59-61).

### *Liquen plano bucal*

El liquen plano bucal es una enfermedad inflamatoria crónica cuya etiología y patogénesis siguen siendo inciertas (38,53,62,63). Afecta aproximadamente al 1-2% de la población, con mayor frecuencia en adultos de mediana edad y con un ligero predominio en el sexo femenino (64).

Se considera que la enfermedad está mediada por mecanismos inmunológicos a través de células específicas de antígeno, mecanismos no específicos, respuesta autoinmune e inmunidad humoral (64-66). Las células epiteliales basales alteradas antigénicamente pueden estimular a los mastocitos y éstos presentar el antígeno a las células T, lo que provoca la activación y desgranulación de los mastocitos con la liberación de TNF, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-11, IL-13 e IL-16, histamina, quimasa y triptasa. Esto conduce a la ruptura de la membrana basal del epitelio, exponiendo así los queratinocitos basales a las células T CD8+ citotóxicas que conducen a su muerte (64-68).

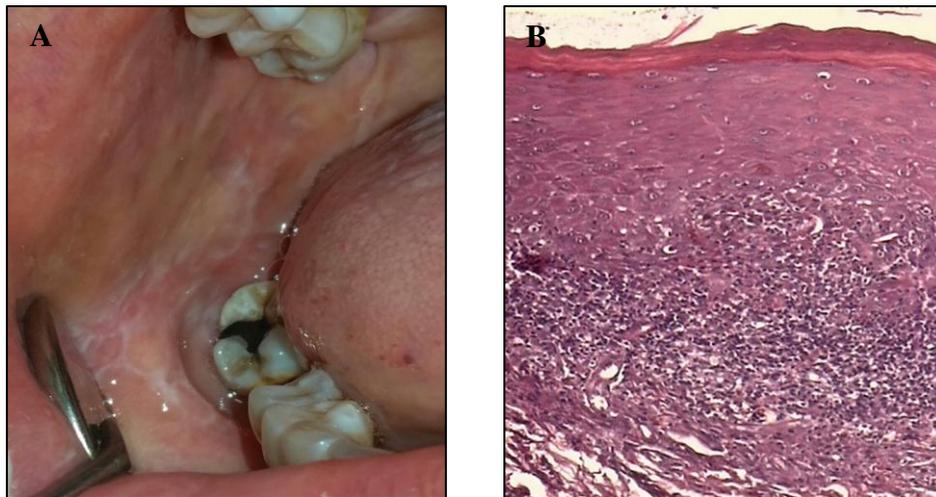
Histopatológicamente, el liquen plano bucal se caracteriza por un intenso infiltrado linfocitario yuxtaepitelial, degeneración hidrópica de queratinocitos basales y alteración de la membrana basal, epitelio ortoqueratinizado o paraqueratinizado engrosado y cuerpos de *Civatte* en el epitelio y lámina propia (65,69). Clínicamente, se observa un enrojecimiento de la mucosa bucal con líneas blancas en forma de red (estrías de Wickham) pudiendo exhibir varias formas clínicas: reticular, papular, de placa, atrófico, erosivo y ampollar (56,64-66,68-70). Las tres últimas son sintomáticas, producen un grado variable de incomodidad o dolor (64,70), y tienen mayor posibilidad de transformación maligna (70). Las lesiones son generalmente de distribución bilateral y simétricas (53,56,65,68). La figura 1 muestra una imagen clínica y microscópica del liquen plano bucal. Los sitios de localización más frecuentes son la mucosa yugal, los bordes y dorso de la lengua y la encía, en tanto que el paladar duro o blando, los labios y el piso de la boca son menos afectados (64). Las lesiones bucales pueden estar acompañadas de manifestaciones en mucosa genital, piel y faneras (56,64,66).

El potencial maligno del liquen plano bucal es discutido actualmente y existe controversia debido a la falta de criterios diagnósticos histopatológicos confiables (56,59,71). La tasa de transformación maligna reportada en la literatura varía considerablemente, de 0% a 5,4% (57,64,70).

### *Lesión liquenoide bucal*

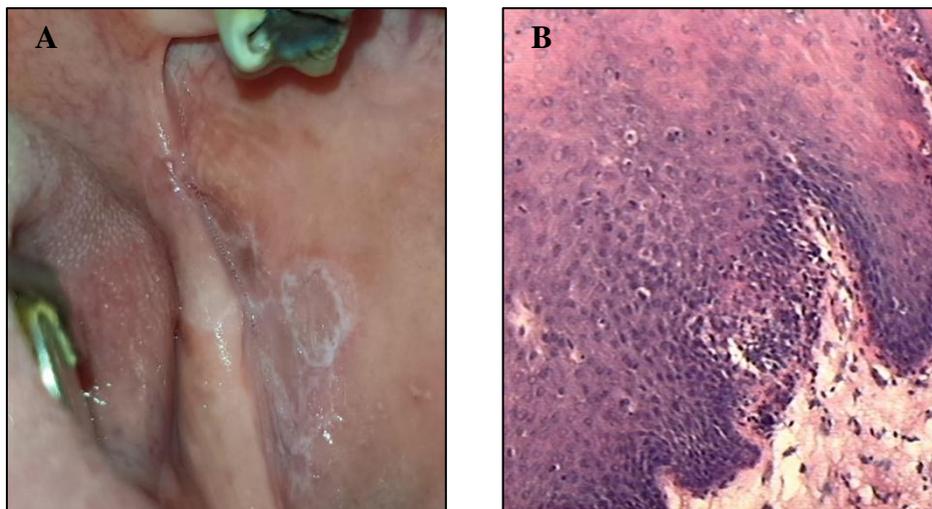
Las lesiones liquenoides bucales, también llamadas reacciones liquenoides bucales, son lesiones con características clínicas e histopatológicas similares al liquen plano bucal (56,57,65) que pueden ser causadas por materiales dentales, medicamentos, agentes aromatizantes como la canela, la menta, el mentol y el eugenol, enfermedad de injerto contra huésped o pueden ser de etiología no identificada (53,56,57,59,61,65,68). Junto con el liquen plano bucal, puede afectar al 1-2% de la población general (72). Tienden a mostrar una distribución unilateral en comparación con el liquen plano bucal y pueden resolverse, cuando es posible, identificando y eliminando el agente causal (56,57,59). Las características microscópicas no son específicas y se asemejan a las del liquen plano bucal (Figura 2).

**Figura 1. Imagen clínica y microscópica de liquen plano bucal**



**A.** Imagen clínica de liquen plano bucal con patrón reticular (gentileza de la Cátedra A de Estomatología, Facultad de Odontología, UNC). **B.** Imagen microscópica de liquen plano bucal con patrón reticular (tinción H/E, aumento original 100X).

**Figura 2. Imagen clínica y microscópica de lesión liquenoide bucal**



**A.** Imagen clínica de lesión liquenoide bucal (gentileza de la Cátedra A de Estomatología, Facultad de Odontología, UNC). **B.** Imagen microscópica de lesión liquenoide bucal (tinción H/E, aumento original 100X).

### **Controversias sobre el diagnóstico de liquen plano y lesión liquenoide bucal**

Actualmente existe mucha controversia sobre el diagnóstico del liquen plano bucal y los estudios han sido orientados al diagnóstico diferencial de esa patología con relación a la lesión liquenoide bucal (73). No existe consenso sobre la clasificación, los criterios de diagnóstico, el comportamiento clínico y su tratamiento (64). La distinción histopatológica es a menudo difícil y no existe un acuerdo universal entre los patólogos para distinguir entre esas dos entidades (56).

En 1978, la Organización Mundial de la Salud (OMS) desarrolló los criterios clínicos e histopatológicos ampliamente utilizados para el diagnóstico del liquen plano bucal, los cuales fueron modificados por van der Meij y van der Waal en 2003, ya que existiría variabilidad -en cada observador y entre diferentes observadores- y pérdida de la correlación clinicopatológica al aplicar esos criterios (74). Se propuso, además, considerar la presencia de displasia epitelial como un criterio de exclusión para el diagnóstico histopatológico de liquen plano bucal a fin de evitar confusiones con la terminología displasia liquenoide, y utilizar la definición de lesión liquenoide bucal para incluir a aquellos casos en los que existan diferencias entre la evaluación clínica e histológica (74). En 2016, la Academia Americana de Patología Bucal y Maxilofacial (AAOMP, por sus

siglas en inglés) realizó modificaciones adicionales a los criterios de diagnóstico de van der Meij y van der Waal (2003) a fin de diagnosticar al liquen plano bucal y distinguirlo de las lesiones liquenoides bucales, término bajo el cual los autores incluyen a las siguientes patologías: penfigoide de membrana mucosa, liquen plano penfigoide, enfermedad crónica de injerto contra el huésped, reacción liquenoide bucal a medicamentos, reacción liquenoide bucal por hipersensibilidad al contacto, lupus eritematoso, estomatitis ulcerativa crónica, leucoplasia verrugosa proliferativa, displasia epitelial bucal (61).

La posibilidad de que el liquen plano bucal muestre displasia no puede ser descartada y la exclusión de las lesiones que se parecen al liquen plano bucal pero que presentan displasia epitelial puede llevar a una subestimación de la tasa de transformación maligna (59,75). Algunos patólogos acuerdan con los criterios diagnósticos de la OMS de 1978 y otros con los modificados por van der Meij y van der Waal, y esa diferencia tiene una gran influencia en los datos producidos y publicados (59,61,75). Así, Aguirre-Urizar y col. propusieron, en el año 2020, los criterios diagnósticos de enfermedades liquenoides bucales y sus subtipos, liquen plano bucal y lesión liquenoide bucal (59). Warnakulasuriya y col., sobre la base de las propuestas anteriores, presentaron sus criterios diagnósticos (53) y recomiendan evitar el término displasia liquenoide bucal para describir una entidad entre el liquen plano bucal o los trastornos liquenoides que muestran cambios displásicos. Esos autores sugieren que, si hay displasia, el diagnóstico sea displasia epitelial bucal con características liquenoides o liquen plano bucal con displasia (53). En el ANEXO 3 se presenta una tabla con los diferentes criterios diagnósticos de las enfermedades liquenoides bucales.

### **Riesgo de transformación maligna**

Dada la controversia en cuanto a los criterios diagnósticos de las enfermedades liquenoides bucales, también es discutida la tasa de transformación maligna del liquen plano y la lesión liquenoide bucal (72).

La historia natural y el comportamiento biológico de muchos desórdenes potencialmente malignos de la mucosa bucal siguen siendo desconocidos y se necesitan más estudios con criterios de diagnóstico clínico-patológico bien definidos para caracterizar su historia natural y tratar así de prevenir el desarrollo de cáncer bucal (53).

## CÁNCER BUCAL

A nivel mundial, el cáncer bucal se clasifica como la cuarta neoplasia maligna más común en países de ingresos bajos o medios (según el índice de desarrollo humano-IDH), mientras que en los países de ingresos altos o muy altos se encuentra dentro de los diez tipos de cáncer más comunes (76). Con diferencias geográficas significativas, su incidencia anual estimada (incluyendo el cáncer de labio) es de aproximadamente 354.864, con una tasa de incidencia estandarizada por edad de 5,8 para hombres y 2,3 para mujeres por 100.000 habitantes y una estimación de 177.384 muertes, con una tasa de mortalidad estandarizada por edad de 2,8 para hombres y 1,2 para mujeres por 100.000 habitantes (76,77). Las tasas más altas se registran en el sur y sureste de Asia (p. ej. India y Sri Lanka) y también en las islas del Pacífico. Otros países de alta incidencia son Francia, Hungría, Brasil, Cuba y Puerto Rico y está aumentando en muchos países de Europa del Este (76). El riesgo de desarrollar cáncer bucal aumenta con la edad y ocurre, principalmente, en personas de 50 años o más (78).

El carcinoma bucal de células escamosas representa aproximadamente el 90% de todos los tumores malignos de la región bucal (27,78-80), con una tasa de supervivencia a cinco años de aproximadamente 60% (76,79). Se caracteriza por una proliferación celular incontrolada, un aumento de la supervivencia celular y la alteración de la estructura del tejido local, con queratinocitos malignos que invaden el tejido conectivo subyacente a través de la membrana basal (81)

En Europa y América del Norte más del 50% de los carcinomas bucales afectan los bordes de la lengua y piso de la boca, pero también se localizan en el paladar, trigono retromolar y labio. Pueden manifestarse inicialmente como áreas eritroleucoplásicas localizadas y bien delimitadas, de color rojo o rojo combinado con blanco. Con el tiempo aparecen una o más zonas ulceradas con aumento de la profundidad y márgenes elevados e irregulares. En la etapa preulcerativa, las lesiones suelen ser indoloras o causar solo algunas molestias inespecíficas y también pueden presentar un crecimiento tumoral exofítico temprano, con márgenes mal definidos. Todas estas características clínicas pueden coexistir en las primeras etapas del cáncer bucal. Luego, las lesiones se vuelven cada vez más grandes y se manifiestan como extensas zonas ulceradas con infiltración profunda, o como crecimientos exofíticos con componente verrugoso, y es común observar presentaciones clínicas combinadas. Además del dolor intenso y constante que se irradia a zonas distantes como el oído externo, puede haber movilidad dentaria, sangrado y

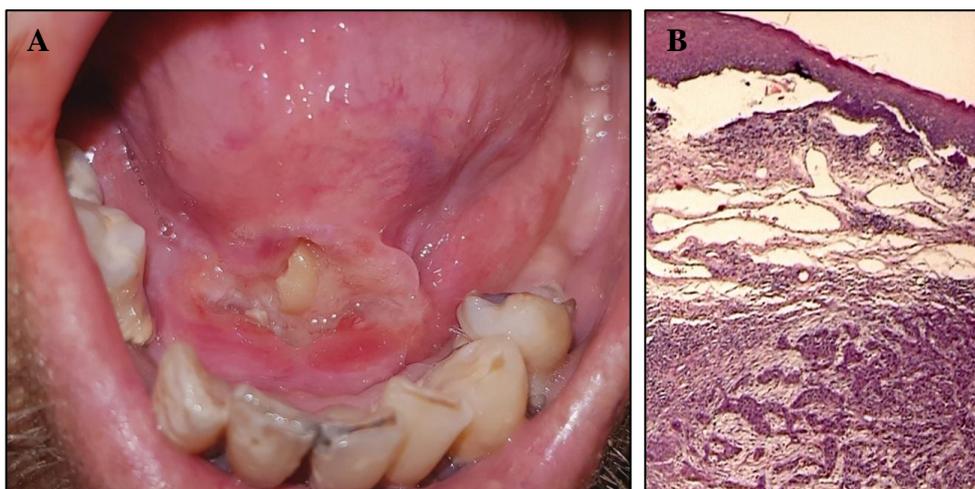
parestesias (82). En la figura 3 se observa el aspecto clínico y microscópico que puede presentar el carcinoma bucal de células escamosas.

Las características clínicopatológicas del cáncer bucal que se desarrolla a partir de la transformación maligna del liquen plano han sido escasamente investigadas, pero se ha sugerido que este tipo de cáncer podría presentar diferentes aspectos, tanto clínicos, histológicos como moleculares, en comparación con los carcinomas convencionales (83).

Los factores de riesgo asociados con el desarrollo de cáncer son, principalmente, el tabaco, la masticación de betel (común en ciertos países asiáticos como Camboya, Laos, Tailandia), el consumo de alcohol y la infección producida por el virus del papiloma humano (48,76,84). Las poblaciones desfavorecidas presentan una mayor tasa de cáncer bucal, y las diferencias socioeconómicas que conducen a un mayor riesgo son, en parte, atribuibles a la prevalencia poblacional del tabaquismo, el consumo de alcohol y una mala nutrición (76).

La inflamación crónica causada por agentes físicos, químicos, bacterianos y virales persistentes, así como el trauma repetitivo aplicado en los tejidos blandos y ciertas reacciones autoinmunes, se han asociado con el cáncer en general y con el cáncer bucal en particular (23-25,31,86-88). Como ya se ha descrito, las citoquinas proinflamatorias, que actúan en el contexto de la inflamación crónica, tienen un papel crucial en el proceso de carcinogénesis (27,47).

**Figura 3. Imagen clínica y microscópica de carcinoma bucal de células escamosas**



**A.** Imagen clínica de carcinoma bucal de células escamosas localizado en piso de boca (gentileza de la Cátedra A de Estomatología, Facultad de Odontología, UNC). **B.** Imagen microscópica de carcinoma bucal de células escamosas (tinción H/E, aumento original 40X).

## ÁCIDOS GRASOS

Los AG son moléculas orgánicas constituidas exclusivamente por carbono, hidrógeno y oxígeno en proporciones variables, que forman parte de la estructura de los lípidos. Sus átomos de carbono, en número par entre 4 y 26 según el tipo de AG, están unidos entre sí formando una cadena con un grupo carboxilo en un extremo y un grupo metilo en el otro extremo de la molécula (89). Según el número de átomos de carbono, los AG se clasifican de la siguiente manera (90):

- AG de cadena corta: 4 a 6 átomos de carbono.
- AG de cadena media: 8 a 14 átomos de carbono.
- AG de cadena larga: 16 a 20 átomos de carbono o más.

Según el tipo de enlace, los AG pueden ser (89,91):

- AG saturados: no poseen dobles enlaces entre los átomos de carbono. Son sólidos a temperatura ambiente.
- AG insaturados: presentan dobles enlaces entre los átomos de carbono de su cadena. Son líquidos a temperatura ambiente.
  - Monoinsaturados: contienen un doble enlace (monoetilénicos).
  - Poliinsaturados: poseen dos o más dobles enlaces.

La presencia de un doble enlace en los AG crea la posibilidad de isomería geométrica. Según la orientación espacial de los átomos de hidrógeno enlazados a los de carbono, existen isómeros *cis* y *trans* (89,92):

- AG *cis*: los átomos de hidrógeno están del mismo lado del plano delimitado por el doble enlace de carbono.
- AG *trans*: los átomos de hidrógeno están en lados opuestos al plano delimitado por el doble enlace de carbono.

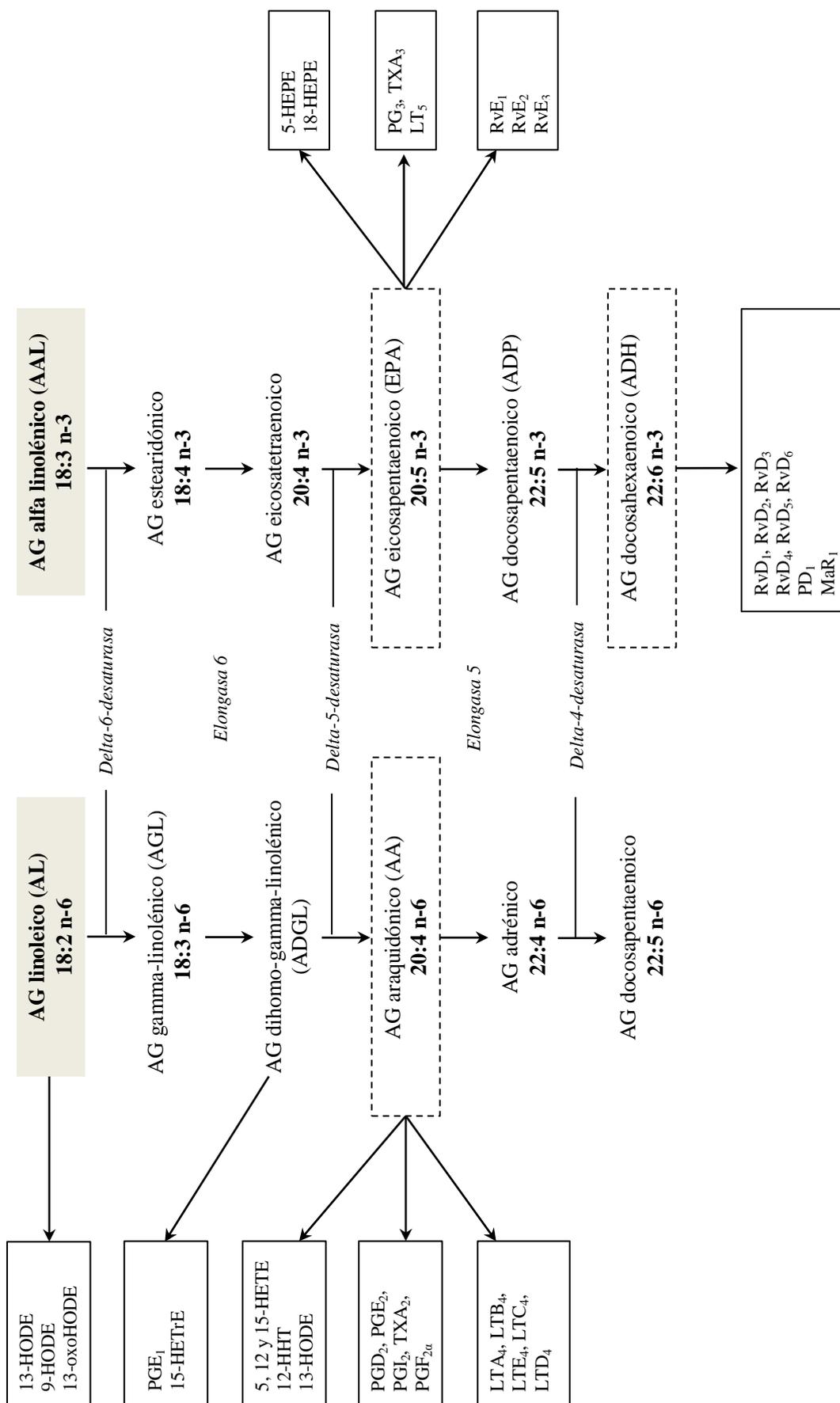
La tabla 1 presenta los AG que se encuentran en la naturaleza con sus respectivos nombres, común y sistemático, sus correspondientes números de átomos de carbono y principales fuentes alimentarias (4,91,93).

**Tabla 1. Ácidos grasos**

Nombre común	Nombre sistemático	Número de átomos de C	Alimentos fuente
<b>AG saturados</b>			
Butírico	Butanoico	4:0	Manteca, lácteos
Caproico	Hexanoico	6:0	Margarina, manteca
Caprílico	Octanoico	8:0	Aceite de coco
Cáprico	Decanoico	10:0	Aceite de coco
Láurico	Dodecanoico	12:0	Aceite de coco
Mirístico	Tetradecanoico	14:0	Manteca, lácteos, carnes y derivados, aceite de coco
Palmítico	Hexadecanoico	16:0	Lácteos, carnes y derivados, vísceras, huevos, frutas secas, aceites
Esteárico	Octadecanoico	18:0	Lácteos, vísceras, huevos, frutas secas, grasa de vaca y cerdo, aceites
Araquídico	Eicosaenoico	20:0	Aceite de maní, vísceras, fiambres y embutidos
Behénico	Docosaenoico	22:0	Maní y su aceite, avellana, soja
<b>AG insaturados</b>			
<i>Monoinsaturados</i>			
Lauroleico	9-dodecaenoico	12:1	Manteca
Miristoleico	9-tetradecaenoico	14:1	Manteca
Palmitoleico	9-hexadecaenoico	16:1	Lácteos, carne y derivados, aceites de pescado, huevos
Oleico	9-octadecaenoico	18:1	Aceites (en especial de oliva), aceitunas, frutas secas, palta, carnes y lácteos
Elaídico	9-octadecaenoico	18:1	Manteca
Vaccénico	11-octadecaenoico	18:1	Manteca
Nervónico	15-tetracosanoico	24:1	Carnes, yema de huevo, piel de pollo, aceitunas, aceites de uva, girasol, maíz
<i>Poliinsaturados</i>			
Linoleico (AL)	9,12-octadecadienoico	18:2	Aceites vegetales: cártamo, maíz, girasol y soja. Trigo, sésamo y nueces
Dihomo- $\gamma$ -linolénico (ADGL)	8,11,14-eicosatrienoico	18:2	Aceites vegetales: cártamo, maíz, girasol y soja
Linolénico (ALA)	9,12,15-octadecatrienoico	18:3	Canola, chía, nueces, soja, semillas de lino, maní y sus aceites
Araquidónico (AA)	5,8,11,14-eicosatetraenoico	20:4	Yema de huevo, carne de vaca, pescados
Timnodónico (AEP)	5,8,11,14,17-eicosapentaenoico	20:5	Sardina, salmón, caballa, arenque, aceites de pescado
Clupanodónico (ADP)	7,10,13,16,19-docosapentaenoico	22:5	Algunos aceites de pescado, pollo
Cervónico (ADH)	4,7,10,13,16,19-docosahexaenoico	22:6	Sardina, salmón, caballa, algunos aceites de pescado

Los mamíferos carecen de las enzimas necesarias para introducir dobles enlaces en los átomos de carbono en las posiciones n-3 y n-6 de la cadena acílica del AG. Por lo tanto, los seres humanos no pueden sintetizar ácido linoleico (AL) ni alfa linolénico (AAL). A esos AG se los denomina esenciales y deben ser suministrados a través de la dieta para la síntesis de otros AG poliinsaturados (AGPI) (91). En la figura 4 se muestran sus vías metabólicas, incluyendo los eicosanoides generados a partir del ácido araquidónico (AA) y eicosapentaénico (AEP), derivados del AL y AAL, respectivamente (4,91,94-96).

Figura 4. Vías metabólicas de los ácidos grasos esenciales



**AG:** ácido graso; **5-HETE:** ácido 5-hidroxiicosatetraenoico; **12-HETE:** ácido 12-hidroxiicosatetraenoico; **15-HETE:** ácido 15-hidroxiicosatetraenoico; **15-HETE:** ácido 15-hidroxiicosatetraenoico; **15-HETE:** ácido 15-hidroxiicosatetraenoico; **12-HHT:** ácido 12-hidroxiheptadecatrienoico; **9-HODE:** ácido 9-hidroxiioctadecadienoico; **13-HODE:** ácido 13-hidroxiioctadecadienoico; **PGD<sub>2</sub>:** prostaglandina D<sub>2</sub>; **PGE<sub>1</sub>:** prostaglandina E<sub>1</sub>; **PGE<sub>2</sub>:** prostaglandina E<sub>2</sub>; **PGL<sub>2</sub>:** prostaglandina I<sub>2</sub>; **TXA<sub>2</sub>:** tromboxano A<sub>2</sub>; **PGF<sub>2α</sub>:** prostaglandina F<sub>2α</sub>; **LTA<sub>4</sub>:** leucotrieno A<sub>4</sub>; **LTB<sub>4</sub>:** leucotrieno B<sub>4</sub>; **LTE<sub>4</sub>:** leucotrieno E<sub>4</sub>; **LTC<sub>4</sub>:** leucotrieno C<sub>4</sub>; **LTD<sub>4</sub>:** leucotrieno D<sub>4</sub>; **5-HEPE:** ácido 5-hidroxiicosapentaenoico; **18-HEPE:** ácido 18-hidroxiicosapentaenoico; **PG<sub>3</sub>:** prostaglandina 3; **TXA<sub>3</sub>:** tromboxano A<sub>3</sub>; **LT<sub>5</sub>:** leucotrieno 5; **RvE<sub>1</sub>:** resolovina E<sub>1</sub>; **RvD<sub>1</sub>:** resolovina D<sub>1</sub>; **RvD<sub>2</sub>:** resolovina D<sub>2</sub>; **RvD<sub>3</sub>:** resolovina D<sub>3</sub>; **RvD<sub>4</sub>:** resolovina D<sub>4</sub>; **RvD<sub>5</sub>:** resolovina D<sub>5</sub>; **RvD<sub>6</sub>:** resolovina D<sub>6</sub>; **PD<sub>1</sub>:** protectina D<sub>1</sub>; **MaR<sub>1</sub>:** maresina 1.

El término eicosanoides se utiliza para describir los derivados bioactivos de los AG AA, AEP y dihomo-gamma-linolénico (ADGL; 20:3 n-6). Los eicosanoides derivados del AA son los lípidos bioactivos más conocidos y estudiados (97). El AA que se libera de la membrana celular por acción de la enzima fosfolipasa A<sub>2</sub> actúa como sustrato para las enzimas ciclooxigenasa (COX), lipoxigenasa (LOX) y citocromo P450 para formar eicosanoides. Esos incluyen PG, tromboxanos (TX) y LT que actúan como mediadores y reguladores de los procesos inflamatorios (4). Los eicosanoides derivados del AA son componentes centrales del proceso inflamatorio (4,98,99). Sin embargo, no todas sus acciones son proinflamatorias, ya que algunos de esos eicosanoides parecen ser importantes en la resolución de la inflamación (4).

A partir del AA, las enzimas LOX -5, 12 y 15- generan los respectivos ácidos 5, 12 y 15-hidroperoxieicosatetraenoicos (HPETE) que se reducen por acción de las peroxidasas a ácidos 5, 12 y 15-hidroxeicosatetraenoicos (HETE) (100,101). Las monooxigenasas del citocromo P450 catalizan las epoxigenaciones y las omegahidroxiaciones de cadena media y producen una variedad de AG monohidroxi de tipo LOX (HETE, HEPE, HODE) (97).

Otro eicosanoide derivado del AA es el ácido 12-hidroxiheptadecatrienoico (12-HHT) que se biosintetiza por vías enzimáticas, como la tromboxano sintetasa (TXAS) y el citocromo P450 o por una vía no enzimática. TXAS cataliza la reacción de isomerización de PGH<sub>2</sub> a 12-HHT (102,103).

Durante la agregación plaquetaria se producen grandes cantidades de TXA<sub>2</sub> y 12-HHT por las acciones de la fosfolipasa citosólica A<sub>2</sub> $\alpha$ , COX-1 y TXAS. El ácido 12-HETE también se produce a partir de plaquetas activadas por la acción de la LOX-12. Además, la enzima CYP2S1 del citocromo P450 que se expresa en macrófagos genera 12-HHT (103). La LOX-15 es la enzima involucrada en la reacción de oxigenación del AL con la producción de ácido 13- hidroxi octadecadienoico (13-HODE). La LOX-15-1 convierte al AL y AA en sus metabolitos, 13-HODE y 15-HETE, respectivamente, y se expresa preferentemente en eritrocitos, eosinófilos, macrófagos, células epiteliales traqueobronquiales, piel y colon. 15-LOX-1 prefiere el AL sobre el AA como sustrato y produce 13-HODE en exceso cuando ambos AG están disponibles (100).

### **Ácidos grasos e inflamación**

La ingesta de ciertos alimentos puede favorecer o disminuir la inflamación (104-110) (véase ANEXO 4). Los AG modulan las funciones inmunes de la célula al influir en su estructura, metabolismo y función, actuando a través de proteínas de superficie,

receptores intranucleares o transportadores de membrana. Mediante la modulación de la estructura de la membrana, las balsas lipídicas, los segundos mensajeros y los eicosanoides, los AG pueden alterar las vías de señalización intracelular y extracelular, afectando la expresión génica y las respuestas fisiológicas y metabólicas en diferentes tipos de células y tejidos (4,91). Como resultado de esas acciones moleculares y celulares, los AG afectan la salud e influyen en el riesgo y la gravedad de ciertas enfermedades inflamatorias (4).

Los **AG insaturados**, y dentro de ellos los **AGPI**, poseen propiedades inmunomoduladoras que están relacionadas con eventos mediados por linfocitos T y comprenden la alteración de las membranas celulares, cambios en las vías de señalización ligadas a proteínas de membrana y a la producción de metabolitos bioactivos -como PG, LT, y endocannabinoides- vinculados a los procesos inflamatorios (97,111). Esos AG también pueden influenciar la expresión de genes involucrados en el desarrollo y la diferenciación de células inmunes e inflamatorias (4,112).

Los AGPI de la **serie n-6** tienen efectos inflamatorios y los de la **serie n-3**, como los ácidos ADH y AEP, tienen efectos inmunomoduladores y antiinflamatorios (4, 91,98,113-119). Esos efectos antiinflamatorios se deben a la regulación negativa de NF- $\kappa$ B, IL-1 $\beta$ , TNF e IL-6, y positiva de IL-10 (112,118,120), alterando posteriormente la transcripción de citoquinas proinflamatorias (114,115). Además, existen compuestos bioactivos derivados de AEP y ADH, como resolvinas, protectinas, maresinas y PGE<sub>3</sub> que son mediadores lipídicos antiinflamatorios con distintas vías de acción (117,119,121). Un aumento de los AG n-3 provoca cambios en los fosfolípidos de membrana de las células inmunes incidiendo en las vías de señalización proinflamatorias (111,119).

Los derivados bioactivos de los AG AA, AEP, ADH y ADGL, aunque en su mayoría relacionados con la inflamación, también están involucrados en la migración celular, la proliferación, la quimiotaxis y las reacciones inmunes.

El aumento en la proporción de AGPI de la serie n-6 -como AA y AL- con relación a los de la familia n-3 (cociente n-6:n-3 más alto) incrementa la producción de mediadores de la inflamación como eicosanoides y citoquinas, aumenta la incidencia de enfermedades de esta naturaleza, y da como resultado un impacto sobre la expresión de genes inflamatorios (4,98,99). Un mayor consumo de AGPI de la serie n-3 disminuye el AA en las membranas celulares y, por lo tanto, su disponibilidad para la producción de eicosanoides proinflamatorios (4,122). Eso se logra, en parte, mediante el reemplazo de AA en los fosfolípidos de membrana y mediante la inhibición competitiva del metabolismo

de AA, cambiando el metabolismo de los potentes eicosanoides proinflamatorios derivados de AA hacia la producción de mediadores lipídicos derivados de AEP y ADH (4,123,124).

Los **AG saturados** (AGS) inducen la inflamación (117,125,126) al promover la expresión de genes inflamatorios que codifican citoquinas, quimiocinas, COX, síntesis de óxido nítrico y metaloproteinasas (112). Lo mismo ocurre con los **AG trans**, que incrementan la producción de citoquinas inflamatorias (127), pero sus mecanismos aún no están claros. Otros efectos adversos incluyen una disminución de la incorporación de otros AG en las membranas celulares, disminución y aumento de HDL-colesterol y LDL-colesterol, respectivamente, inhibición de la enzima 2 desaturasa, aumento de la agregación plaquetaria, lipoproteína-a, proteína de transferencia de éster de colesterol y peso corporal (128).

## **ENVEJECIMIENTO**

El envejecimiento afecta la función homeostática del sistema inmune, lo que conduce a cambios en la inmunidad innata, humoral y celular (94,129-132) y está asociado con una inflamación crónica de bajo nivel causada por trauma mecánico, isquemia, estrés o condiciones ambientales como la radiación ultravioleta. Esos estímulos inducen la secreción de patrones moleculares asociados a daño (DAMPs), los cuales son reconocidos por receptores que inician las rutas de transducción de señal que conducen a la inflamación (133,134) por estimulación de NF- $\kappa$ B y la cascada inflamatoria mediada por IL-1 $\beta$ . El control homeostático y la modulación de la respuesta inmunitaria se vuelven más frágiles con el aumento de la edad, la señalización de NF- $\kappa$ B se activa con mayor facilidad, se produce una desregulación de citoquinas y predomina un fenotipo proinflamatorio (135).

Citoquinas como IL-6, TNF e IL-1 $\beta$  contribuyen significativamente a la persistencia inapropiada de la inflamación que predispone el desarrollo de enfermedades relacionadas con la edad tales como cáncer, artritis reumatoidea, arteroesclerosis, enfermedades neurodegenerativas (134,135). Las concentraciones séricas de mediadores inflamatorios están elevadas en la vejez (94,132,134) y existen numerosos estudios que muestran aumento de las concentraciones circulantes de marcadores y mediadores de la inflamación en adultos mayores con respecto a personas más jóvenes. Sin embargo, se ha demostrado una asociación significativa y consistente con la edad solo para algunos mediadores, mientras que para otros, como IL-1 $\beta$ , proteína amiloide A sérica, TNF e IL-8, las observaciones han sido menos consistentes (94).

A su vez, la mucosa bucal puede presentar un bajo y constante estado de inflamación basal asociada con la edad (136) ya que, debido al envejecimiento, se generan respuestas inflamatorias persistentes (137-139). A este respecto, la saliva de personas sanas ( $\leq 40$  años) mostró mayores niveles de mediadores inflamatorios como  $\text{PGE}_2$  y actividad de metaloproteinasa de matriz-9 en comparación con la saliva de participantes de mayor edad ( $>40$  años) (136). Los cambios moleculares que subyacen al constante estado de inflamación basal asociado con la edad no se conocen por completo, pero podrían estar involucradas variaciones en la respuesta inmune innata relacionada con el reconocimiento y la interacción con los microorganismos en las superficies mucosas (140).

Si bien el envejecimiento y los AG dietarios han sido investigados en cuanto a su relación con el sistema inmune, y en especial con los procesos inflamatorios, no se han hallado estudios referidos a la asociación entre la edad e ingesta de estos compuestos dietarios y la inflamación de la mucosa bucal.

# **HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

## **HIPÓTESIS**

Los AG de la dieta y el envejecimiento influyen en la inflamación de la mucosa bucal.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Analizar la relación entre AG dietarios y envejecimiento y la inflamación de la mucosa bucal, determinada a través de citoquinas en saliva, de personas sanas y con diagnóstico de enfermedades liquenoides bucales y carcinoma bucal de células escamosas.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Analizar la concentración de citoquinas proinflamatorias IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF en saliva, con respecto a sexo y edad en personas sanas y con diagnóstico de enfermedad liquenoide bucal y carcinoma bucal de células escamosas.
2. Analizar, en personas sanas, la relación entre la concentración de citoquinas proinflamatorias en saliva y la ingesta de ácidos grasos y otras variables nutricionales tales como índice de masa corporal y valor energético total.
3. Determinar la concentración de ácidos grasos y eicosanoides 12-HHT, 13-HODE, 12-HETE y 5-HETE en saliva, y su correlación con la ingesta de ácidos grasos n-3 y n-6 en personas sanas y con diagnóstico de enfermedad liquenoide bucal y carcinoma bucal de células escamosas.
4. Correlacionar la ingesta de ácidos grasos n-3 y n-6 y la inflamación de la mucosa bucal, medida a través de citoquinas presentes en saliva, en pacientes con enfermedad liquenoide bucal y carcinoma bucal de células escamosas.

# **MATERIALES Y MÉTODOS**

El presente estudio se adecua a los principios bioéticos de investigación en seres humanos según consta en la normativa nacional e internacional y sus aspectos éticos fueron evaluados por el Comité Académico de Investigación en Salud (CAIS) y el Comité Institucional de Ética en Investigaciones en Salud (CIEIS) de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Córdoba (UNC). *Proyecto ODO-CIEIS N°6T*.

Este estudio se desprende del proyecto marco de investigación titulado *Influencia de los ácidos grasos dietarios sobre la modulación de citoquinas proinflamatorias y sobre procesos moleculares relacionados con la prevención de cáncer bucal* dirigido por la Dra. Adriana B. Actis. Este ha sido aprobado y subsidiado por la Secretaría de Ciencia y Tecnología de la Universidad Nacional de Córdoba (SECyT-UNC) para el período 2018-2022 (*Resolución N° 411/18; RHCS-2021-97-E-UNC-REC*).

### **Participantes**

A continuación se describen las características de los participantes de cada grupo según los objetivos específicos del trabajo:

#### **Objetivos 1 y 2**

Participaron en el estudio 64 personas de ambos sexos, aparentemente sanas, sin lesión en la mucosa bucal ni patología del sistema estomatognático ni sistémica, y con edades comprendidas entre 20 y 80 años, que asistieron a la Facultad de Odontología de la UNC (docentes; alumnos de 3°, 4° y 5° año sin relación académica con la tesista y la directora de tesis; personal técnico, administrativo y de servicio). Los participantes fueron divididos en tres grupos etarios: 20-39 (G1; n=20), 40-59 (G2; n=24) y 60-80 (G3; n=20).

Luego de la firma del consentimiento informado (ANEXO 5: consentimiento informado para participantes sanos) se efectuó una historia clínica y un examen del sistema estomatognático para conocer su estado de salud general y bucal, resguardando la identidad de las personas. Se empleó una planilla en la que se consignaron datos generales, antecedentes tales como enfermedad, medicación actual y el resultado del examen clínico odontoestomatológico, a fin de descartar enfermedades infecciosas (caries macropenetrantes, enfermedad periodontal, pericoronaritis), tumorales y metabólicas, tanto sistémicas como locales.

El examen del sistema estomatognático fue realizado siempre por la misma profesional odontóloga (tesista). Para ello se empleó instrumental de exploración metálico

esterilizado en autoclave, y se incluyó tanto a los tejidos duros como blandos (labios, comisuras labiales, paladar, piso de boca, lengua, mucosa yugal) de la cavidad bucal y glándulas anexas (salivales). Debido a la importancia de conocer el estado periodontal de los participantes se efectuó una valoración del estado periodontal, considerando la clasificación de las enfermedades y condiciones periodontales de la Academia Americana de Periodoncia y la Federación Europea de Periodoncia, con la finalidad de descartar inflamación en estos tejidos (141,142). Para ello, se utilizó una sonda periodontal tipo marquis. Los parámetros considerados para determinar salud periodontal fueron los siguientes: profundidad de sondaje (PS) y nivel de inserción clínica (NIC)  $\leq 3$ mm en todos los sitios, hemorragia al sondaje  $<10\%$  (142). La información resultante de la inspección clínica odontoestomatológica y periodontal, realizada en base a las normas de bioseguridad, fue registrada en la historia clínica (ANEXO 6).

Se establecieron los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

#### *Criterios de inclusión*

- Firma del consentimiento informado.
- Ambos sexos.
- Edades comprendidas entre 20 y 80 años.
- Ausencia de patologías infecciosas, tumorales o metabólicas, ya sean sistémicas o localizadas en el sistema estomatognático, detectadas mediante historia clínica y examen clínico odontoestomatológico, respectivamente.
- Estado periodontal sano.
- Índice de masa corporal (IMC) normal: 18,5- 24,9 kg/m<sup>2</sup> en personas de 20 a 59 años (143) y 23 a 29 kg/m<sup>2</sup> en personas de 60 a 80 años (144).
- Dieta mixta.

#### *Criterios de exclusión*

- Regímenes alimentarios especiales (ej: dieta lacto-ovo-vegetariana, vegana, regímenes hipoglucémicos, hiperproteicos, hiposódicos, etc).
- Hábito de fumar (se consideró fumador a quien consumió 1 o más cigarrillos diarios, semanales, mensuales en los últimos 5 años).
- Consumo excesivo de alcohol: en mujeres  $>20$ g y en hombres  $>30$ g por día (145).
- Administración habitual de medicamentos (incluidos los anticonceptivos).
- Presencia de factores irritativos locales tales como prótesis removible, fractura dentaria, aparatología ortodóntica.

#### **Objetivo 4.**

Se incluyeron 31 personas que concurrieron a las Cátedras A y B de Estomatología y al Servicio de diagnóstico y prevención de cáncer bucal, pertenecientes a la Facultad de Odontología de la UNC, con diagnóstico clínico de enfermedades liquenoides bucales, tales como liquen plano y lesión liquenoide (G4; n=20), y carcinoma bucal de células escamosas (G5; n=11), las cuales no habían iniciado aún ningún tipo de tratamiento (40-80 años). Luego de la firma del consentimiento informado (ANEXO 5: consentimiento informado para participantes con lesión en la mucosa bucal), se entregaron las instrucciones para la recolección de saliva -la cual fue obtenida previamente a la realización de la biopsia- y se tomaron fotografías clínicas. Una vez confirmado el diagnóstico sobre la base del informe anatomopatológico, se incorporó el paciente al estudio (ANEXO 5-A).

##### *Criterios de inclusión*

- Diagnóstico de enfermedades liquenoides bucales, tales como liquen plano y lesión liquenoide (53, 74), y carcinoma bucal de células escamosas (146), confirmado mediante informe anatomopatológico.
- Ausencia de tratamiento en el momento de la obtención de la muestra de saliva (el tratamiento fue indicado por el profesional tratante una vez confirmado el diagnóstico mediante el informe anatomopatológico).
- Dieta mixta

#### **Objetivo 3.**

Para alcanzar este objetivo, se conformaron submuestras de los participantes incorporados a todos los grupos de estudio.

- Análisis de ácidos grasos salivales: G1: n=9, G2: n=10, G3: n=9, G4: n=11 y G5: n=9.
- Análisis de eicosanoides: G1: n=10, G2: n=10, G3: n=10, G4: n=11 y G5: n=11.

## **Materiales y métodos**

### **Información alimentario-nutricional**

Una vez incorporado el/la participante al grupo de estudio G1, G2, G3, G4 o G5, según los criterios de inclusión, se completó una encuesta de frecuencia de consumo alimentario cualitativo-cuantitativo validada (147) (ANEXO 7) a fin de conocer el consumo habitual de alimentos y nutrientes. Esta consiste en un cuestionario individual estructurado que permite calcular la frecuencia habitual de la ingesta alimentaria. A través de ella se obtuvo información sobre datos antropométricos y sobre las características de la dieta habitual (alta o baja en cantidad y calidad de grasas). El instrumento contiene 257 ítems de alimentos y bebidas consumidos (con su composición en macronutrientes, micronutrientes y fitoquímicos), frecuencia de consumo (mensual, semanal, diaria o nunca) y tamaño de la porción (pequeña, mediana o grande). Esta encuesta fue realizada a ciego por dos nutricionistas entrenadas, quienes emplearon un atlas fotográfico validado, el cual contiene modelos visuales de referencia, a fin de facilitar la cuantificación de la porción de los alimentos (148) (ANEXO 8).

Además de los datos mencionados, también se registró el IMC (indicador nutricional que mide la asociación entre el peso y la talla;  $\text{peso}/\text{talla}^2$ ) y el valor energético total (VET; suma de energía aportada por cada uno de los macronutrientes tomados con la dieta; Kcal/día) de cada participante, ya que son variables nutricionales importantes a considerar.

### **Muestras de saliva**

De cada participante se obtuvo una muestra de saliva total o mixta no estimulada, cuya recolección se efectuó según las normas internacionales para estudios en este fluido (ANEXO 9). Para ello, cada persona recibió un recipiente limpio y seco (con una marca que indicó el volumen a alcanzar durante la recolección), un refrigerante que debió permanecer en *freezer* o congelador hasta el momento de transportar la muestra, hilo dental para una correcta higiene bucal en la noche previa a la recolección de la saliva y un instructivo que orientó al paciente para efectuar una adecuada recolección. Este último indicó que la muestra debía ser recogida entre las 08:00 y 10:00 horas, después de un mínimo de seis horas de ayuno, sin actividad física ni higiene bucal previa. Para la recolección, la persona debió permanecer sentada, relajada y con su cabeza inclinada hacia adelante, dejando fluir la saliva en el recipiente hasta alcanzar un volumen de 5-6 mL.

Inmediatamente, se debió tapar el frasco y colocarlo en una bolsa plástica en contacto con el refrigerante congelado (unidos mediante una banda elástica) para ser entregado rápidamente al investigador.

Una vez recibidas, las muestras fueron centrifugadas a 3500 rpm durante 15 min a 4 °C y la fase fluida fue removida para su estudio. Se utilizó el ensayo de Bradford (149) con un estándar de BSA (Sigma-Aldrich) para determinar el contenido total de proteína en la saliva. Luego, cada muestra fue diluida en PBS (1:1), el que contenía inhibidores de proteasa (PMSF 0,1 mM, cloruro de bencetonio 0,1 mM, EDTA 10 mM, aprotinina A 0,01 mg/mL, y *Tween* 20 al 0,05%), separada en alícuotas y almacenada en *freezer* a -80 °C hasta su procesamiento.

### **Procesamiento de la información alimentario-nutricional**

Los datos recolectados a través de la encuesta de frecuencia de consumo alimentario fueron procesados mediante el programa informático *Interfood v.1.3* (150), el cual brindó información sobre el consumo de alimentos y de nutrientes (lípidos y AG) (g/día, mg/día).

### **Análisis de citoquinas en saliva**

Las citoquinas IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF fueron determinadas mediante el ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (*enzyme linked immunosorbent assay; ELISA*) para humanos siguiendo su protocolo de manufactura (50). Se utilizaron los siguientes kits comerciales para medir la concentración de esas citoquinas en saliva de acuerdo con las instrucciones del fabricante: *set human* IL-1 $\beta$  (BD Biosciences, San Diego, USA), *set human* IL-6 (BD Biosciences, San Diego, USA) y TNF (BD Biosciences, San Diego, USA). Se utilizó la concentración de proteína total para normalizar los valores de IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF para cada muestra de saliva. Las concentraciones de citoquinas en saliva fueron calculadas mediante el programa informático *GraphPad Prism 6* (San Diego, CA, USA) y expresadas en pg/mg.

### **Análisis de ácidos grasos en saliva**

Los lípidos totales de las muestras de saliva fueron extraídos con cloroformo/metanol 2:1 (V/V) de acuerdo a la técnica de Folch (151). La fase inferior fue recuperada y evaporada hasta sequedad bajo atmósfera de nitrógeno. La metilación de los AG fue realizada con metóxido de sodio (152). La fase superior también fue recuperada y secada bajo atmósfera de

nitrógeno. La separación, identificación y cuantificación de AG de saliva fue realizada mediante un cromatógrafo de gas Shimadzu 2014 equipado con un detector de ionización de llama (Jenck S.A. Instrumental, Buenos Aires, Argentina). La temperatura de los inyectores y del detector fue de 250 °C y se utilizó nitrógeno como gas portador. Los ésteres metílicos de AG fueron analizados mediante una columna capilar de 100 metros de longitud, ID 0,25 mm x 0,2 mm, espesor de película SP-Sil. 88 (Varian, Darmstadt, Alemania). Los resultados fueron expresados como porcentaje del área total (%á) de todos los picos de AG individuales comprendidos entre el ácido palmítico (16:0) y el ADH (22:6 n-3). Los valores de AG por debajo de 0,5% no fueron considerados. Los AG fueron identificados por comparación con los tiempos de retención de estándares internos comerciales (autenticado Accustandard, New Haven, Estados Unidos y Sigma, St. Louis MO, Estados Unidos). Los datos cromatográficos fueron procesados a través del programa informático de solución de cromatografía de gases (Jenck S.A. Instrumental, Buenos Aires, Argentina).

El análisis de los AG fue realizado en función de su relevancia nutricional y biológica, habiéndose seleccionado los siguientes: ácido palmítico 16:0; ácido palmitoleico 16:1 n-9; ácido esteárico 18:0; ácido oleico 18:1 n-9; AL 18:2 n-6; ADGL 20:3 n-6; AA 20:4 n-6; AAL 18:3 n-3; AEP 20:5 n-3; ácido docosapentaenoico 22:5 n-3 y ADH 22:6 n-3.

### **Análisis de eicosanoides en saliva**

Se analizaron los eicosanoides 12-HHT, 13-HODE, 12-HETE y 5-HETE mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) asociada a espectrometría de masa (MS). Se utilizó un cromatógrafo Beckman System Gold provisto de bomba binaria y detector UV con una columna C18 (4,6 x 250 mm, 5 µm) (Phenomenex, Inc. USA). La separación de metabolitos se logró con un gradiente lineal de disolvente metanol: agua: ácido acético, 50: 50: 0,02 (v/v/v), pH 6 a disolvente metanol, durante 20 min (153). Los metabolitos fueron detectados en espectrómetro de masa (154). Los eicosanoides fueron identificados por comparación con estándares comerciales (Cayman Chemical) y sus valores expresados como ng de eicosanoides por mL de saliva (ng/mL) (153).

### **Análisis estadístico**

Se evaluaron los parámetros de resumen estadístico como la media, mediana, rango y desvío estándar. Se empleó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis para comparar los valores de citoquinas en saliva según rango etario y todas las variables en estudio (sexo, índice de masa corporal, valor energético total, ingesta de ácidos grasos saturados, monoinsaturados,

poliinsaturados y eicosanoides salivales) y el coeficiente de Spearman para correlacionarlos con la ingesta de alimentos y de ácidos grasos (155). En ambos casos se consideró un nivel de significancia del 5%. Para realizar esos análisis se utilizó el programa estadístico *InfoStat* v.p.1. (156).

# **RESULTADOS**

La muestra de este estudio quedó conformada por un total de 95 participantes, cuya descripción se presenta en la tabla 2. Además de la distribución según sexo y edad, se presentan las medias de IMC y VET. Los valores mínimos y máximos de edad en cada grupo fueron los siguientes: G1 (20-34), G2 (41-57), G3 (60-79), personas con enfermedad liquenoide (40-79) y cáncer bucal (42-80).

**Tabla 2. Descripción de la muestra.**

Ca	Grupo									
	G1 (n=20)		G2 (n=24)		G3 (n=20)		G4 (n=20)		G5 (n=11)	
Sexo	M (n=10)	H (n=10)	M (n=13)	H (n=11)	M (n=10)	H (n=10)	M (n=15)	H (n=5)	M (n=4)	H (n=7)
Edad (años)	23,60 ± 2,88	26,10 ± 4,18	52,00 ± 5,12	50,18 ± 5,21	67,60 ± 2,55	66,90 ± 5,15	58,80 ± 11,07	52,60 ± 10,93	66,00 ± 15,94	56,29 ± 10,87
IMC	22,06 ± 1,92	23,90 ± 1,17	23,45 ± 1,69	24,53 ± 0,43	27,29 ± 2,08	27,45 ± 2,10	28,84 ± 5,06	29,03 ± 1,68	24,83 ± 7,22	29,70 ± 8,42
VET (Kcal)	1813,13 ± 313,11	2607,47 ± 567,41	2055,41 ± 583,56	3292,62 ± 1029,92	2495,49 ± 890,72	2655 ± 622,43	2375,17 ± 870,22	3629,14 ± 744,00	1932,73 ± 439,44	2969,70 ± 832,11

**Ca:** características; **G1:** personas sanas de 20-39 años; **G2:** personas sanas de 40-59 años; **G3:** personas sanas de 60-80 años; **G4:** personas con diagnóstico de enfermedad liquenoide bucal; **G5:** personas con diagnóstico de carcinoma bucal de células escamosas; **M:** mujeres; **H:** hombres; **IMC:** índice de masa corporal; **VET:** valor energético total. Los valores son expresados como la media ± desvío estándar.

A continuación, se presentan los resultados obtenidos según cada objetivo específico planteado para este estudio.

### Objetivo 1

Analizar la concentración de citoquinas proinflamatorias IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF en saliva, con respecto a sexo y edad en personas sanas y con diagnóstico de enfermedad liquenoide bucal y carcinoma bucal de células escamosas.

Los resultados correspondientes a este objetivo están presentados de la siguiente manera: concentración de citoquinas en saliva de personas sanas según sexo y edad y de personas con lesión bucal; comparación de la concentración de citoquinas en saliva entre personas sanas y con lesión bucal del mismo rango etario.

### 1. Concentración de citoquinas en saliva de personas sanas según sexo y edad.

Las concentraciones de las citoquinas proinflamatorias IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF en saliva de personas sanas según edad y sexo, se presentan en las tablas 3 y 4, respectivamente. Es importante destacar que las concentraciones de estas citoquinas disminuyeron con la edad, observándose los valores más bajos en las personas de 40-59 (G2) y 60-80 años (G3). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas según sexo en cada grupo etario ( $p > 0,05$ ). De las tres citoquinas analizadas en saliva, IL-1 $\beta$  fue la de mayor concentración en los tres grupos ( $p < 0,001$ ).

**Tabla 3. Concentración de citoquinas proinflamatorias en saliva de personas sanas según grupo etario.**

Cq	Grupo etario			p*
	G1 (n=20)	G2 (n=24)	G3 (n=20)	
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	2402,91 $\pm$ 1705,42 <sup>A</sup>	792,89 $\pm$ 404,05 <sup>B</sup>	1143,21 $\pm$ 1367,6 <sup>B</sup>	<b>0,001</b>
<b>IL-6</b>	235,76 $\pm$ 158,18 <sup>A</sup>	64,14 $\pm$ 45,78 <sup>B</sup>	29,91 $\pm$ 32,74 <sup>C</sup>	<b>&lt;0,001</b>
<b>TNF</b>	284,41 $\pm$ 213,10 <sup>A</sup>	63,63 $\pm$ 103,70 <sup>B</sup>	20,33 $\pm$ 42,33 <sup>B</sup>	<b>&lt;0,001</b>

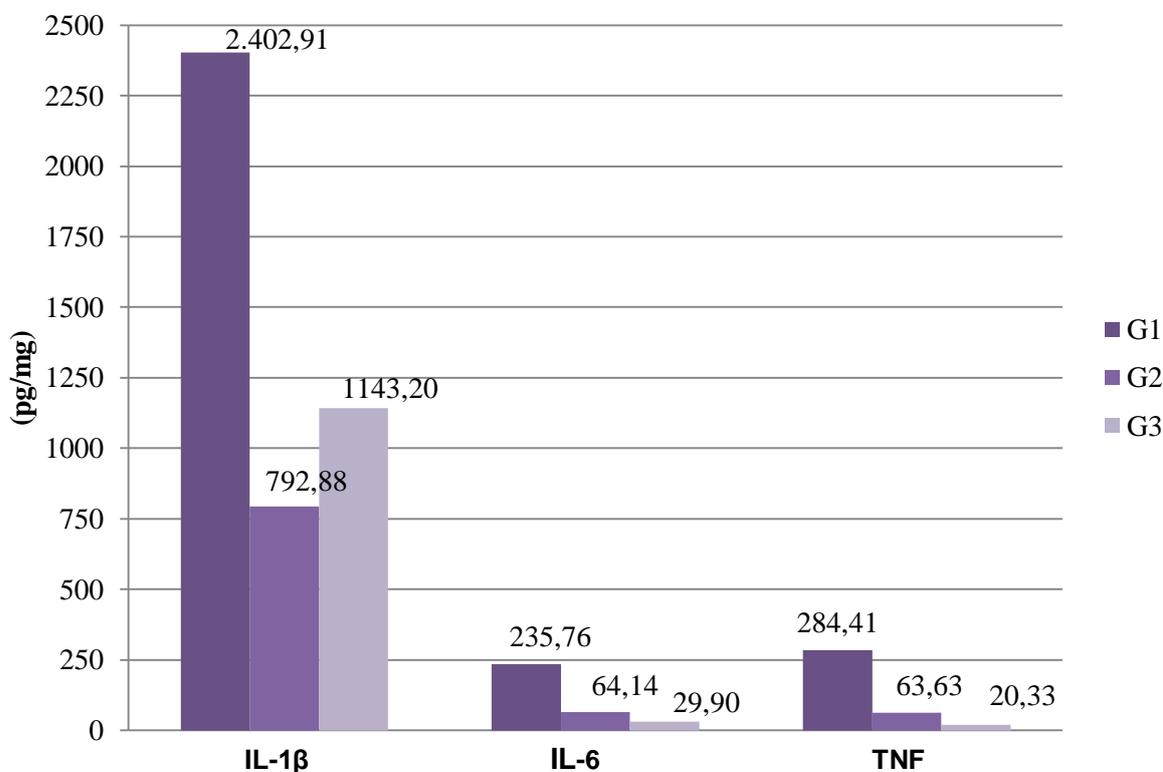
**Cq:** citoquinas; **G1:** personas sanas de 20-39 años; **G2:** personas sanas de 40-59 años; **G3:** personas sanas de 60-80 años; **IL-1 $\beta$ :** interleuquina 1 $\beta$ ; **IL-6:** interleuquina 6; **TNF:** factor de necrosis tumoral. Los valores son expresados como la media  $\pm$  desvío estándar (pg/mg). Letras distintas en superíndice indican diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (A/B/C  $p < 0,05$ ). \*Prueba de Kruskal Wallis ( $p < 0,05$ ).

**Tabla 4. Concentración de citoquinas proinflamatorias en saliva de personas sanas según sexo.**

Cq	Grupo								
	G1 (n=20)			G2 (n=24)			G3 (n=20)		
	M	H	p*	M	H	p*	M	H	p*
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	1972,62 $\pm$ 1441,27	2833,21 $\pm$ 1910,86	0,364	729,92 $\pm$ 264,23	867,30 $\pm$ 529,59	0,794	1412,63 $\pm$ 1815,34	873,78 $\pm$ 701,27	0,596
<b>IL-6</b>	242,79 $\pm$ 193,59	228,74 $\pm$ 123,44	0,880	59,85 $\pm$ 37,48	69,21 $\pm$ 55,52	0,977	41,16 $\pm$ 39,28	18,66 $\pm$ 20,94	0,200
<b>TNF</b>	300,98 $\pm$ 258,79	267,85 $\pm$ 168,20	>0,999	69,31 $\pm$ 117,01	56,91 $\pm$ 90,62	0,706	30,10 $\pm$ 58,84	10,56 $\pm$ 10,37	0,762

**Cq:** citoquinas; **G1:** personas sanas de 20-39 años; **G2:** personas sanas de 40-59 años; **G3:** personas sanas de 60-80 años; **M:** mujeres; **H:** hombres; **IL-1 $\beta$ :** interleuquina 1 $\beta$ ; **IL-6:** interleuquina 6; **TNF:** factor de necrosis tumoral. Los valores son expresados como la media  $\pm$  desvío estándar (pg/mg). \*Prueba de Kruskal Wallis ( $p < 0,05$ ).

**Gráfico 1. Concentración de citoquinas proinflamatorias en saliva de personas sanas según grupo etario.**



**G1:** personas sanas de 20-39 años; **G2:** personas sanas de 40-59 años; **G3:** personas sanas de 60-80 años. **IL-1β:** interleuquina 1β; **IL-6:** interleuquina 6; **TNF:** factor de necrosis tumoral.

A fin de descartar la presencia de patología inflamatoria periodontal, establecida como un criterio de exclusión para participantes sanos, se llevó a cabo la valoración del estado de esos tejidos. Las principales características clínicas periodontales se muestran en la tabla 5, en la que se observan diferencias estadísticamente significativas según edad en todos los parámetros con excepción de la hemorragia al sondaje. Cabe aclarar que el grupo de 20-39 años (G1) presentó un mayor número de dientes ( $p < 0,001$ ) y, por lo tanto, mayor cantidad de sitios de medición de PS y NIC con respecto a los de mayor edad (G2 y G3). No se encontraron asociaciones al correlacionar las concentraciones de citoquinas proinflamatorias en saliva con los parámetros clínicos periodontales ( $p > 0,05$ ).

**Tabla 5. Características clínicas periodontales en personas sanas según grupo etario.**

Parámetros periodontales	Grupo etario			p*
	G1 (n=20)	G2 (n=24)	G3 (n=20)	
<b>PS (mm)</b>	1,10 ± 0,12 <sup>A</sup>	1,09 ± 0,12 <sup>A</sup>	0,91 ± 0,43 <sup>B</sup>	<b>0,001</b>
<b>NIC (mm)</b>	0,55 ± 0,42 <sup>A</sup>	1,59 ± 0,60 <sup>B</sup>	1,98 ± 1,08 <sup>B</sup>	<b>&lt;0,001</b>
<b>HS (%)</b>	3,60 ± 5,57	2,22 ± 2,85	2,71 ± 5,58	0,163
<b>Número de dientes</b>	28 ± 2 <sup>A</sup>	24 ± 6 <sup>B</sup>	14 ± 10 <sup>C</sup>	<b>&lt;0,001</b>

**G1:** personas sanas de 20-39 años; **G2:** personas sanas de 40-59 años; **G3:** personas sanas de 60-80 años. **PS:** profundidad de sondaje; **NIC:** nivel de inserción clínica; **HS:** hemorragia al sondaje. Los valores son expresados como la media ± desvío estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (A/B/C p<0,05). \*Prueba de Kruskal Wallis.

## 2. Concentración de citoquinas proinflamatorias en saliva de personas con lesión bucal.

Los parámetros clínicos periodontales en las personas con lesión bucal son presentados en la tabla 6. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las personas con diagnóstico de enfermedad liquenoide y cáncer bucal (G4 y G5. respectivamente) (p>0,05). En cada grupo, se analizaron y compararon las concentraciones de citoquinas proinflamatorias en saliva entre quienes presentaron tejidos periodontales sanos y enfermedad periodontal pero no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, razón por la cual se los mantuvo en el mismo grupo para el posterior análisis de citoquinas (p>0,05). Este resultado indica que la patología periodontal no influiría, según este estudio, en el nivel de citoquinas en saliva. Cuando se correlacionaron los parámetros periodontales de las personas con diagnóstico de enfermedad liquenoide y cáncer bucal (G4 y G5. respectivamente) con la concentración de IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF en saliva, no se encontraron asociaciones estadísticamente significativas (p>0,05).

**Tabla 6. Características clínicas periodontales en personas con lesión bucal.**

Parámetros periodontales	Grupo		
	G4 (n=20)	G5 (n=11)	p*
PS (mm)	0,92 ± 0,61	1,06 ± 0,57	0,220
NIC (mm)	1,70 ± 1,21	2,07 ± 1,16	0,383
HS (%)	10,08 ± 16,99	13,34 ± 12,39	0,277
Número de dientes	14 ± 9	16 ± 10	0,560

**G4:** personas con diagnóstico de enfermedad liquenoide bucal; **G5:** personas con diagnóstico de carcinoma bucal de células escamosas; **PS:** profundidad de sondaje; **NIC:** nivel de inserción clínica; **HS:** hemorragia al sondaje. Los valores son expresados como la media ± desvío estándar. \*Prueba de Kruskal Wallis (p<0,05).

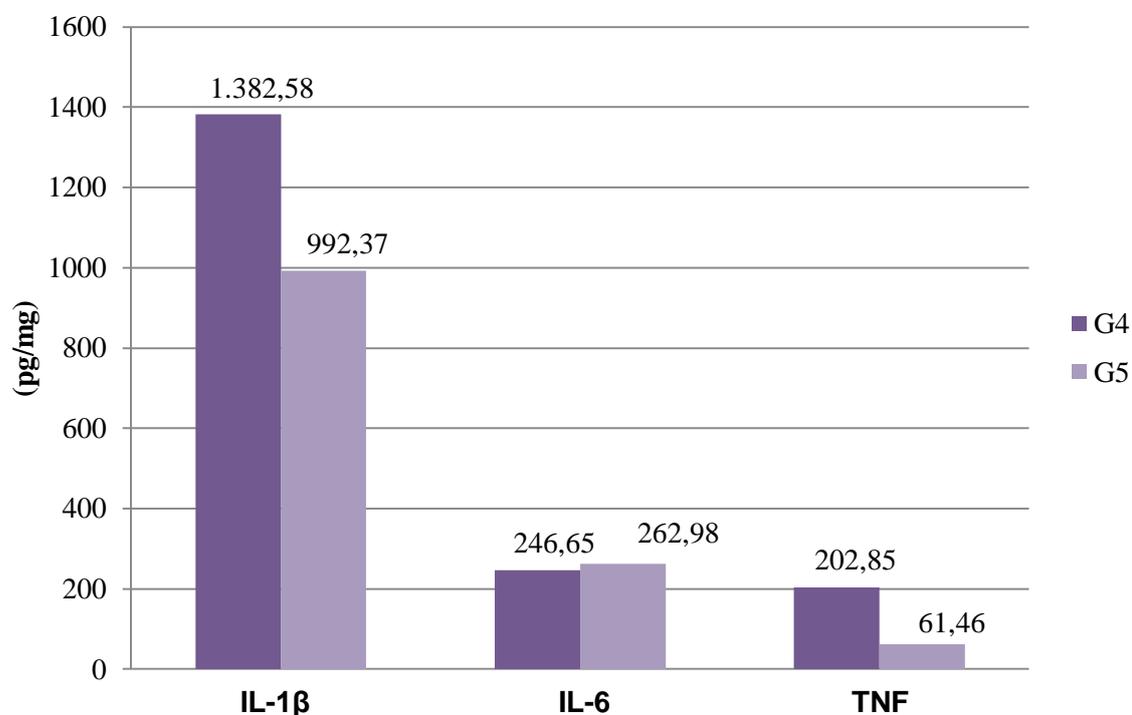
La tabla 7 muestra la concentración de IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF en saliva de personas con lesión bucal. Si bien los niveles de IL-1 $\beta$  y TNF fueron mayores en las personas con enfermedad liquenoide bucal con respecto a los que presentaron cáncer, las diferencias no fueron estadísticamente significativas (p>0,05). En personas con enfermedad liquenoide bucal, al igual que en las sanas, los niveles de IL-1 $\beta$  en saliva fueron más elevados que los de las otras citoquinas (p<0,001). En las personas con cáncer bucal, las citoquinas de mayor concentración fueron IL-1 $\beta$  e IL-6 (gráfico 2).

**Tabla 7. Concentración de citoquinas proinflamatorias en saliva de personas con lesión bucal.**

Citoquinas	Grupo		
	G4 (n=20)	G5 (n=11)	p*
IL-1 $\beta$	1382,58 ± 1291,33	992,37 ± 846,12	0,342
IL-6	246,65 ± 352,24	262,98 ± 193,66	0,231
TNF	202,84 ± 589,32	61,46 ± 76,82	0,869

**G4:** personas con diagnóstico de enfermedad liquenoide bucal; **G5:** personas con diagnóstico de carcinoma bucal de células escamosas; **IL-1 $\beta$ :** interleuquina 1 $\beta$ ; **IL-6:** interleuquina 6; **TNF:** factor de necrosis tumoral; **DE:** Desvío estándar. Los valores son expresados como la media ± desvío estándar (pg/mg). \* Prueba de Kruskal Wallis (p<0,05).

**Gráfico 2. Concentración de citoquinas proinflamatorias en saliva de personas con lesión bucal.**



**G4:** personas con diagnóstico de enfermedad liquenoide bucal; **G5:** personas con diagnóstico de carcinoma bucal de células escamosas. **IL-1 $\beta$ :** Interleuquina 1 $\beta$ ; **IL-6:** Interleuquina 6; **TNF:** Factor de necrosis tumoral.

3. *Comparación de la concentración de citoquinas en saliva entre personas sanas y con lesión bucal del mismo rango etario.*

Se comparó la concentración de citoquinas en saliva entre personas con lesión bucal (G4 y G5) y personas sanas con edades similares (G2 y G3 agrupados) (tabla 8). Los niveles de IL-6 y TNF en saliva fueron mayores en las personas con lesión bucal que en los participantes sanos, al igual que IL-1 $\beta$ , aunque en esta última las diferencias no fueron estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ).

**Tabla 8. Concentración de citoquinas proinflamatorias en saliva de personas sanas y con lesión bucal.**

Cq	Grupos			p*
	G2 y G3 (n=44)	G4 (n=20)	G5 (n=11)	
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	952,12 $\pm$ 972,06	1382,58 $\pm$ 1291,33	992,37 $\pm$ 846,12	0,334
<b>IL-6</b>	48,58 $\pm$ 43,50 <sup>A</sup>	246,65 $\pm$ 352,24 <sup>B</sup>	262,98 $\pm$ 193,66 <sup>B</sup>	<b>&lt;0,001</b>
<b>TNF</b>	43,95 $\pm$ 83,78 <sup>A</sup>	202,84 $\pm$ 589,32 <sup>B</sup>	61,46 $\pm$ 76,82 <sup>B</sup>	<b>0,005</b>

**Cq:** citoquinas; **G2 y G3:** personas sanas de 40-80 años; **G4:** personas con diagnóstico de enfermedad liquenoide bucal; **G5:** personas con diagnóstico de carcinoma bucal de células escamosas; **IL-1 $\beta$ :** interleuquina 1 $\beta$ ; **IL-6:** interleuquina 6; **TNF:** factor de necrosis tumoral. Los valores son expresados como la media  $\pm$  desvío estándar (pg/mg). Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (A/B p<0,05). \*Prueba de Kruskal Wallis.

## Objetivo 2

Analizar, en personas sanas, la relación entre la concentración de citoquinas proinflamatorias IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF en saliva, y la ingesta de ácidos grasos y otras variables nutricionales tales como índice de masa corporal y valor energético total.

Los resultados correspondientes a este objetivo están presentados de la siguiente manera: caracterización del patrón de consumo diario de alimentos y la ingesta de alimentos fuente de ácidos grasos; ingesta de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados; correlación entre la ingesta de ácidos grasos y la concentración de citoquinas en saliva; correlación entre la ingesta de alimentos fuente de ácidos grasos y la concentración de citoquinas en saliva.

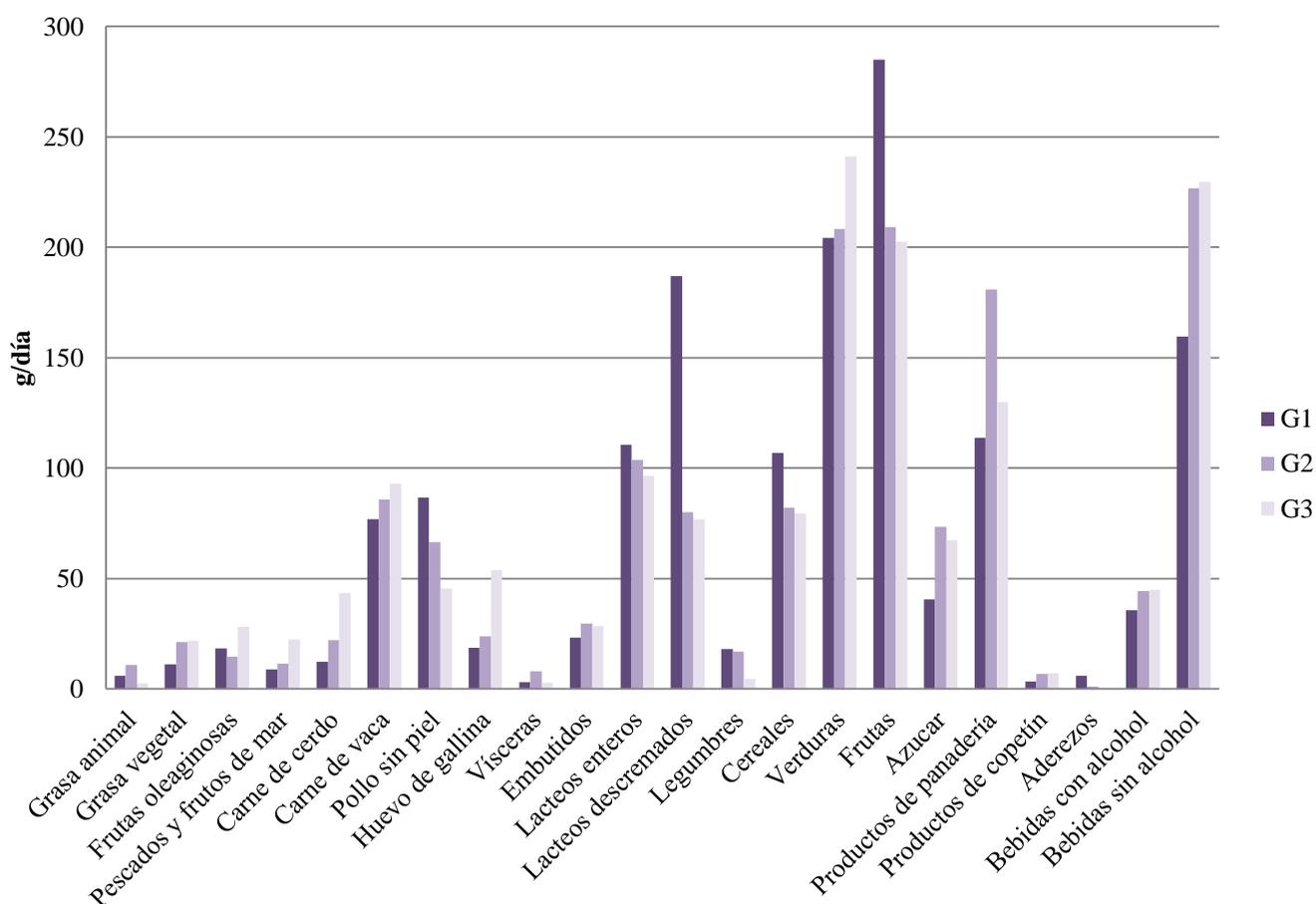
### 1. Patrón de consumo diario de alimentos e ingesta de alimentos fuente de ácidos grasos en personas sanas.

El análisis de los datos obtenidos a través de la encuesta de frecuencia de consumo alimentario cualitativo-cuantitativo validada permitió caracterizar el patrón alimentario de los grupos en estudio. El gráfico 3 presenta el patrón de consumo diario de alimentos, expresado en gramos/día, según grupo etario en personas sanas. La mayor ingesta de grasa animal se observó en G2 (10,78 g/día), y la de grasa vegetal en G2 y G3 (21,24 y 21,67

g/día, respectivamente). El consumo de frutas oleaginosas fue mayor en G3 (27,99 g/día) con respecto a G2 (14,51 g/día). G3 presentó, además, un mayor consumo de pescados y frutos de mar (22,49 g/día) con relación a los otros dos grupos. G1 y G3 presentaron diferencias en la ingesta de los siguientes alimentos (g/día): carne de cerdo (G1: 12,26; G3: 43,51), huevo de gallina (G1: 18,60; G3: 53,93), legumbres (G1: 18,02; G3: 4,58), azúcar (G1: 40,58; G3: 67,38) y aderezos (G1: 5,88; G3: 0,52).

La tabla 9 muestra las diferencias encontradas al analizar la ingesta de alimentos fuente de ácidos grasos según grupo etario.

**Gráfico 3. Patrón de consumo diario de alimentos en personas sanas según grupo etario.**



**G1:** personas sanas de 20-39 años; **G2:** personas sanas de 40-59 años; **G3:** personas sanas de 60-80 años.

**Tabla 9. Consumo de los principales alimentos fuente de ácidos grasos en personas sanas según grupo etario.**

Alimentos	Grupo etario			p*
	G1 (n=20)	G2 (n=24)	G3 (n=20)	
<b>De origen animal</b>				
<i>Total grasa animal</i>	6,04 ± 9,41 <sup>A</sup>	10,78 ± 13,57 <sup>B</sup>	2,60 ± 2,08 <sup>A</sup>	<b>0,004</b>
Mayonesa	3,15 ± 5,56 <sup>A</sup>	5,08 ± 6,69 <sup>B</sup>	1,63 ± 1,72 <sup>A</sup>	<b>0,022</b>
<i>Total pescados y frutos de mar</i>	8,85 ± 10,54 <sup>A</sup>	11,54 ± 8,33 <sup>A</sup>	22,49 ± 15,77 <sup>B</sup>	<b>0,003</b>
Atún al aceite	1,33 ± 3,21 <sup>A</sup>	0,36 ± 1,07 <sup>A</sup>	5,74 ± 5,79 <sup>B</sup>	<b>&lt;0,001</b>
Pejerrey	0,00 ± 0,00 <sup>A</sup>	2,25 ± 3,18 <sup>B</sup>	2,15 ± 3,86 <sup>AB</sup>	<b>0,004</b>
<i>Total carne de cerdo</i>	12,26 ± 15,75 <sup>A</sup>	22,08 ± 26,00 <sup>AB</sup>	43,51 ± 59,20 <sup>B</sup>	<b>0,017</b>
Bondiola	0,21 ± 0,76 <sup>A</sup>	1,15 ± 2,88 <sup>AB</sup>	3,53 ± 4,87 <sup>B</sup>	<b>0,005</b>
<i>Huevo de gallina</i>	18,60 ± 13,84 <sup>A</sup>	23,80 ± 21,01 <sup>AB</sup>	53,93 ± 78,63 <sup>B</sup>	<b>0,028</b>
<i>Morcilla</i>	1,14 ± 1,47 <sup>A</sup>	3,73 ± 5,24 <sup>B</sup>	2,86 ± 3,42 <sup>AB</sup>	<b>0,038</b>
<i>Jamón cocido</i>	9,51 ± 10,12 <sup>B</sup>	4,35 ± 6,50 <sup>A</sup>	6,63 ± 14,55 <sup>A</sup>	<b>0,018</b>
<i>Leche parcialmente descremada</i>	154,29 ± 171,2 <sup>B</sup>	36,90 ± 76,52 <sup>A</sup>	28,57 ± 54,84 <sup>A</sup>	<b>0,005</b>
<b>De origen vegetal</b>				
<i>Total grasa vegetal</i>	11,16 ± 10,01 <sup>A</sup>	21,24 ± 12,94 <sup>B</sup>	21,67 ± 8,40 <sup>B</sup>	<b>&lt;0,001</b>
Aceite de girasol	7,43 ± 6,58 <sup>A</sup>	15,24 ± 13,86 <sup>B</sup>	18,36 ± 11,36 <sup>B</sup>	<b>0,008</b>
Aceite de oliva	3,73 ± 5,42 <sup>B</sup>	4,53 ± 8,19 <sup>AB</sup>	0,86 ± 1,63 <sup>A</sup>	<b>0,027</b>
<i>Total frutas oleaginosas</i>	18,19 ± 13,85 <sup>AB</sup>	14,51 ± 11,97 <sup>A</sup>	27,99 ± 22,92 <sup>B</sup>	<b>0,027</b>
Nuez	1,44 ± 2,17 <sup>A</sup>	1,85 ± 2,27 <sup>A</sup>	4,50 ± 4,62 <sup>B</sup>	<b>0,003</b>
Aceituna	1,99 ± 2,00 <sup>AB</sup>	2,68 ± 4,47 <sup>A</sup>	6,96 ± 10,05 <sup>B</sup>	<b>0,044</b>
Palta	5,02 ± 6,25 <sup>B</sup>	0,89 ± 2,57 <sup>A</sup>	3,58 ± 6,05 <sup>AB</sup>	<b>0,018</b>
<i>Total legumbres</i>	18,02 ± 27,69 <sup>B</sup>	17,01 ± 44,17 <sup>AB</sup>	4,58 ± 8,08 <sup>A</sup>	<b>0,012</b>
Poroto	0,00 ± 0,00 <sup>A</sup>	2,00 ± 3,04 <sup>B</sup>	0,77 ± 2,13 <sup>AB</sup>	<b>0,006</b>
Productos de soja	11,90 ± 21,39 <sup>B</sup>	9,17 ± 44,91 <sup>A</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>A</sup>	<b>&lt;0,0001</b>

**G1:** personas sanas de 20-39 años; **G2:** personas sanas 40-59 años; **G3:** personas sanas 60-80 años. Los valores son expresados como la media ± desvío estándar (g/día). Letras distintas en superíndice indican diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (A/B p<0,05). \*Prueba de Kruskal Wallis. Solo se muestran aquellos alimentos fuente de AG que presentaron diferencias estadísticamente significativas.

2. *Ingesta de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados en personas sanas.*

Las tablas 10, 11, 12 y 13 muestran la ingesta diaria de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados, grasa total y colesterol, así como también el índice de masa corporal y el valor energético total en los grupos G1, G2 y G3.

**Tabla 10. Variables nutricionales e ingesta del total de ácidos grasos en personas sanas según grupo etario.**

Variables nutricionales	Grupo etario			
	G1 (n=20)	G2 (n=24)	G3 (n=20)	p*
IMC	22,98 ± 1,81 <sup>A</sup>	23,94 ± 1,36 <sup>B</sup>	27,37 ± 2,04 <sup>C</sup>	<0,001
VET (Kcal)	2210,29 ± 604,14	2622,46 ± 1017,55	2575,24 ± 752,35	0,269
Colesterol (mg)	325,50 ± 111,35	366,33 ± 182,89	466,10 ± 365,74	0,593
Grasa total (g)	85 ± 32,87	103,27 ± 40,53	98,55 ± 18,07	0,172
AGS (mg)	35,15 ± 21,23	39,47 ± 16,87	36,02 ± 11,32	0,453
AGMI (mg)	34,40 ± 12,92	41,79 ± 14,62	40,55 ± 12,30	0,247
AGPI (mg)	15,87 ± 6,12	22,01 ± 11,53	21,99 ± 8,27	0,060

**G1:** personas sanas de 20-39 años; **G2:** personas sanas de 40-59 años; **G3:** personas sanas de 60-80 años. **IMC:** índice de masa corporal; **VET:** valor energético total; **AGS:** ácidos grasos saturados; **AGMI:** ácidos grasos monoinsaturados; **AGPI:** ácidos grasos poliinsaturados. Los valores son expresados como la media ± desvío estándar. \*Prueba de Kruskal Wallis (p<0,05).

**Tabla 11. Ingesta de ácidos grasos saturados en personas sanas según grupo etario.**

AGS	Grupo etario			
	G1 (n=20)	G2 (n=24)	G3 (n=20)	p*
<b>4:0</b>	4,52 ± 16,37	0,95 ± 0,84	0,59 ± 0,45	0,212
<b>12:0</b>	0,56 ± 0,27	0,71 ± 0,44	0,59 ± 0,48	0,189
<b>14:0</b>	2,85 ± 1,25	3,51 ± 1,84	3,19 ± 1,51	0,621
<b>16:0</b>	19,13 ± 7,97	23,48 ± 9,75	21,32 ± 7,15	0,467
<b>18:0</b>	7,98 ± 3,21	10,64 ± 4,58	10,60 ± 3,68	0,060
<b>20:0</b>	0,10 ± 0,07 <sup>A</sup>	0,18 ± 0,13 <sup>B</sup>	0,37 ± 0,33 <sup>B</sup>	<0,001
<b>22:0</b>	2,5 ± 0,01	0,01 ± 0,01	1,0 ± 3,1	0,133

**G1:** personas sanas de 20-39 años; **G2:** personas sanas de 40-59 años; **G3:** personas sanas de 60-80 años; **AGS:** ácidos grasos saturados; **4:0:** butírico; **12:0:** láurico; **14:0:** mirístico; **16:0:** palmítico; **18:0:** esteárico; **20:0:** araquídico; **22:0:** behénico. **Nd:** no detectado. Los valores son expresados como la media ± desvío estándar (mg/día). Letras distintas en superíndice indican diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (A/B p<0,05). \*Prueba de Kruskal Wallis.

**Tabla 12. Ingesta de ácidos grasos monoinsaturados en personas sanas según grupo etario.**

AGMI	Grupo etario			p*
	G1 (n=20)	G2 (n=24)	G3 (n=20)	
16:1	3,30 ± 2,00	4,59 ± 2,70	3,45 ± 1,55	0,192
18:1	30,97 ± 11,38	37,05 ± 12,50	36,97 ± 11,02	0,268
24:1	0,14 ± 0,22	0,16 ± 0,27	0,12 ± 0,22	0,930

**G1:** personas sanas de 20-39 años; **G2:** personas sanas de 40-59 años; **G3:** personas sanas de 60-80 años; **AGMI:** ácidos grasos monoinsaturados; **16:1:** palmitoleico; **18:1:** oleico; **24:1:** nervónico. Los valores son expresados como la media ± desvío estándar (mg/día). \*Prueba de Kruskal Wallis (p<0,05).

**Tabla 13. Ingesta de ácidos grasos poliinsaturados en personas sanas según grupo etario.**

AGPI	Grupo etario			p*
	G1 (n=20)	G2 (n=24)	G3 (n=20)	
18:3 n-3	0,18 ± 0,11 <sup>A</sup>	0,37 ± 0,26 <sup>B</sup>	0,36 ± 0,28 <sup>B</sup>	<b>0,021</b>
20:3 n-3	1,50 ± 0,98	1,55 ± 0,86	1,79 ± 1,15	0,769
20:5 n-3	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,707
22:5 n-3	0,24 ± 0,18	0,25 ± 0,17	0,27 ± 0,18	0,937
22:6 n-3	0,04 ± 0,06 <sup>A</sup>	0,15 ± 0,09 <sup>B</sup>	0,19 ± 0,07 <sup>B</sup>	<b>&lt;0,001</b>
18:2 n-6	12,50 ± 5,73 <sup>A</sup>	18,45 ± 10,99 <sup>AB</sup>	17,94 ± 7,75 <sup>B</sup>	<b>0,045</b>
18:3 n-6	1,20 ± 0,78	1,01 ± 0,65	1,19 ± 1,08	0,528
20:4 n-6	0,21 ± 0,14	0,21 ± 0,16	0,26 ± 0,18	0,706

**G1:** personas sanas de 20-39 años; **G2:** personas sanas de 40-59 años; **G3:** personas sanas de 60-80 años; **AGPI:** ácidos grasos poliinsaturados; **18:3 n-3:** alfa linolénico; **20:3 n-3:** eicosatrienoico; **20:5 n-3:** eicosapentaenoico; **22:5 n-3:** docosapentaenoico; **22:6 n-3:** docosahexaenoico; **18:2 n-6:** linoleico; **18:3 n-6:** gamma linolénico; **20:4 n-6:** araquidónico. Los valores son expresados como la media ± desvío estándar (mg/día). Letras distintas en superíndice indican diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (A/B p<0,05). \*Prueba de Kruskal Wallis.

3. *Correlación entre la ingesta de ácidos grasos y la concentración de citoquinas proinflamatorias en saliva de personas sanas.*

La tabla 14 muestra las asociaciones encontradas entre los valores de las citoquinas proinflamatorias IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF en saliva y la ingesta de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados, IMC y VET en personas sanas. No se halló correlación entre las citoquinas y el IMC y VET ( $p>0,05$ ).

**Tabla 14. Correlación entre la concentración de citoquinas en saliva y la ingesta de ácidos grasos en personas sanas según grupo etario.**

Cq	Grupo etario					
	G1 (n=20)		G2 (n=24)		G3 (n=20)	
	AG	CCS	AG	CCS	AG	CCS
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	-	NC	22:0	-0,46	-	NC
	22:6 n-3	-0,69	22:0	-0,47	16:0	0,73
<b>IL-6</b>					18:0	0,62
					18:3 n-3	-0,52
					22:6 n-3	-0,46
					22:6 n-3	-0,46
<b>TNF</b>	4:0	0,69	20:4 n-6	0,59	20:0	0,60
	22:6 n-3	-0,95	22:6 n-3	-0,98	18:2 n-6	0,70
			20:5 n-3	-0,46	22:6 n-3	-0,83
					20:5 n-3	-0,49
					20:5 n-3	-0,49

**Cq:** citoquinas; **G1:** personas sanas de 20-39 años; **G2:** personas sanas de 40-59 años; **G3:** personas sanas de 60-80 años; **AG:** ácido graso; **4:0:** butírico; **16:0:** palmítico; **18:0:** esteárico; **18:2 n-6:** linoleico; **18:3 n-3:** alfa linolénico; **20:0:** araquídico; **20:4 n-6:** araquidónico; **20:5 n-3:** eicosapentaenoico; **22:0:** behénico; **22:6 n-3:** docosahexaenoico; **IL-1 $\beta$ :** interleuquina 1 $\beta$ ; **IL-6:** interleuquina 6; **TNF:** factor de necrosis tumoral; **CCS:** coeficiente de correlación de Spearman ( $p<0,05$ ). **NC:** no se halló correlación.

4. *Correlación entre la ingesta de alimentos fuente de ácidos grasos y la concentración de citoquinas proinflamatorias en saliva de personas sanas.*

La tabla 15 muestra las correlaciones encontradas entre las citoquinas en estudio y la ingesta de alimentos fuente de ácidos grasos según edad. Se han incluido sólo las correlaciones cuyas diferencias entre grupos etarios han sido estadísticamente significativas. Es importante destacar que se han hallado asociaciones negativas con algunos alimentos fuente de AG considerados antiinflamatorios (pescados y frutos de mar,

lácteos descremados) así como positivas con los proinflamatorios (carne de cerdo, vaca y vísceras, lácteos enteros).

**Tabla 15. Correlación entre la ingesta de alimentos fuente de ácidos grasos y la concentración de citoquinas en saliva de personas sanas según grupo etario.**

Cq	Grupo etario					
	G1 (n=20)		G2 (n=24)		G3 (n=20)	
	Alimento fuente	CCS	Alimento fuente	CCS	Alimento fuente	CCS
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	-	NC	Carne de cerdo	0,39	-	NC
			Lácteos descremados	-0,43		
<b>IL-6</b>	Grasa animal	0,52	Lácteos enteros	0,41	Pescados, frutos de mar	-0,59
	Vísceras	0,46	Lácteos descremados	-0,40		
<b>TNF</b>	Grasa animal	0,71	Carne de vaca	0,50	Pescados, frutos de mar	-0,55
	Pescados, frutos de mar	-0,81			Legumbres	0,45

**Cq:** citoquinas; **G1:** personas sanas de 20-39 años; **G2:** personas sanas de 40-59 años; **G3:** personas sanas de 60-80 años; **IL-1 $\beta$ :** interleuquina 1 $\beta$ ; **IL-6:** interleuquina 6; **TNF:** factor de necrosis tumoral. **CCS:** Coeficiente de correlación de Spearman ( $p < 0,05$ ). **NC:** no se halló correlación.

### Objetivo 3

Determinar la concentración de ácidos grasos y eicosanoides 12-HHT, 13-HODE, 12-HETE y 5-HETE en saliva, y su correlación con la ingesta de ácidos grasos n-3 y n-6 en personas sanas y con diagnóstico de enfermedad liquenoide bucal y carcinoma bucal de células escamosas.

Los resultados correspondientes a este objetivo se presentan de la siguiente manera: concentración de ácidos grasos en saliva de personas sanas y con lesión bucal y su correlación con la ingesta de ácidos grasos; concentración de eicosanoides en saliva de personas sanas y con lesión bucal y su correlación con ácidos grasos dietarios y en saliva.

1. *Ácidos grasos en saliva: concentración en personas sanas y su correlación con la ingesta de ácidos grasos.*

Se determinaron las concentraciones de ácidos grasos en saliva, en una submuestra de personas sanas según grupo etario, las cuales luego fueron correlacionadas con la

ingesta de ácidos grasos n-6 y n-3. Los resultados se muestran en las tablas 16 y 17, respectivamente.

**Tabla 16. Concentración de ácidos grasos en saliva de personas sanas según grupo etario.**

AGSa	Grupo			p*
	G1 (n=9)	G2 (n=10)	G3 (n=9)	
<b>14:0</b>	1,44 ± 1,59	0,73 ± 1,06	1,48 ± 1,14	0,244
<b>16:0</b>	13,04 ± 6,57 <sup>B</sup>	7,49 ± 2,77 <sup>A</sup>	7,41 ± 4,47 <sup>A</sup>	<b>0,021</b>
<b>16:1</b>	5,46 ± 2,97 <sup>B</sup>	2,67 ± 1,94 <sup>A</sup>	2,99 ± 1,76 <sup>A</sup>	<b>0,039</b>
<b>18:0</b>	9,12 ± 2,59	9,23 ± 8,38	11,86 ± 8,50	0,428
<b>18:1</b>	17,04 ± 6,94	15,70 ± 8,86	10,11 ± 9,06	0,160
<b>20:0</b>	7,72 ± 4,52 <sup>A</sup>	13,44 ± 4,22 <sup>B</sup>	6,64 ± 5,13 <sup>A</sup>	<b>0,015</b>
<b>22:0</b>	3,79 ± 3,47	3,35 ± 5,52	0,19 ± 0,38	0,054
<b>24:1</b>	1,05 ± 1,21	0,61 ± 1,61	0,86 ± 1,43	0,401
<b>18:3 n-3</b>	4,24 ± 1,63	6,40 ± 3,53	5,58 ± 3,31	0,271
<b>20:5 n-3</b>	0,59 ± 1,02 <sup>A</sup>	2,82 ± 4,28 <sup>A</sup>	9,17 ± 3,81 <sup>B</sup>	<b>0,002</b>
<b>22:5 n-3</b>	0,18 ± 0,35	0,94 ± 2,14	0,72 ± 0,91	0,422
<b>22:6 n-3</b>	0,00 ± 0,00 <sup>A</sup>	0,87 ± 1,36 <sup>AB</sup>	3,62 ± 3,81 <sup>B</sup>	<b>0,008</b>
<b>18:2 n-6</b>	8,21 ± 3,08	9,17 ± 5,23	9,99 ± 5,08	0,956
<b>18:3 n-6</b>	7,51 ± 7,12 <sup>A</sup>	15,41 ± 3,34 <sup>B</sup>	12,41 ± 5,10 <sup>AB</sup>	<b>0,029</b>
<b>20:4 n-6</b>	8,43 ± 5,37	6,50 ± 4,63	12,30 ± 5,81	0,089

**AGSa:** ácido graso salival; **G1:** personas sanas de 20-39 años; **G2:** personas sanas de 40-59 años; **G3:** personas sanas de 60-80 años; **14:0:** mirístico; **16:0:** palmítico; **16:1:** palmitoleico; **18:0:** esteárico; **18:1:** oleico; **20:0:** araquídico; **22:0:** behénico; **24:1:** nervónico; **18:3 n-3:** alfa linolénico; **20:5 n-3:** eicosapentaenoico; **22:5 n-3:** docosapentaenoico; **22:6 n-3:** docosahexaenoico; **18:2 n-6:** linoleico; **18:3 n-6:** gamma linolénico; **20:4 n-6:** araquidónico. Los valores se expresan como porcentaje de área (%á) y corresponden a la media ± desvío estándar. Letras distintas en superíndice indican diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (A/B p<0,05). \*Prueba de Kruskal Wallis.

**Tabla 17. Correlación entre ácidos grasos n-3 y n-6 dietarios y de la saliva de personas sanas según grupo etario.**

AGD	Grupo					
	G1 (n=9)		G2 (n=10)		G3 (n=9)	
	AGSa	CCS	AGSa	CCS	AGSa	CCS
<b>18:3 n-3</b>	18:3 n-3	0,94	18:3 n-3	0,93	-	NC
<b>20:5 n-3</b>	-	NC	-	NC	18:2 n-6	-0,70
<b>22:6 n-3</b>	-	NC	-	NC	18:2 n-6	-0,76
<b>18:2 n-6</b>	18:2 n-6	0,75	18:2 n-6	0,88	18:2 n-6	0,98
<b>20:4 n-6</b>	20:4 n-6	0,66	20:4 n-6	0,75	20:4 n-6	0,70
<b>Total</b>	18:3 n-3	0,87	18:2 n-6	0,84	18:2 n-6	0,95
<b>AGPI</b>	20:5 n-3	0,68				

**AGD:** Ácido graso dietario; **G1:** personas sanas de 20-39 años; **G2:** personas sanas de 40-59 años; **G3:** personas sanas de 60-80 años; **AGSa:** ácido graso salival; **18:3 n-3:** alfa linolénico; **20:5 n-3:** eicosapentaenoico; **22:6 n-3:** docosahexaenoico; **18:2 n-6:** linoleico; **20:4 n-6:** araquidónico; **AGPI:** ácidos grasos poliinsaturados. **CCS:** Coeficiente de correlación de Spearman ( $p < 0,05$ ). **NC:** no se halló correlación.

2. *Ácidos grasos en saliva: concentración en personas con lesión bucal y su correlación con la ingesta de ácidos grasos.*

La concentración de ácidos grasos en saliva de personas con lesión bucal se muestra en la tabla 18. Solo se observó diferencia en los niveles de ADH, los cuales fueron mayores en personas con carcinoma bucal de células escamosas ( $p=0,05$ ). Cuando se analizó la correlación entre la ingesta de ácidos grasos n-6 y n-3 y las concentraciones de esos ácidos grasos en saliva de personas con lesión bucal, no se observó asociación estadísticamente significativa con un  $p < 0,05$ . Sin embargo, al considerar un  $p=0,05$  se observó una asociación positiva entre el consumo de ALA y los niveles de ADH (0,60;  $p=0,05$ ) en saliva de personas con enfermedad liquenoide bucal, y entre la ingesta total de AGPI y la concentración de ADH en saliva (0,68;  $p=0,05$ ) de personas con carcinoma bucal de células escamosas.

**Tabla 18. Concentración de ácidos grasos en saliva de personas con lesión bucal.**

AGSa	Grupo		p*
	G4 (n=11)	G5 (n=9)	
<b>14:0</b>	0,62 ± 0,81	1,31 ± 1,23	0,072
<b>16:0</b>	11,48 ± 5,49	9,65 ± 6,55	0,342
<b>16:1</b>	6,97 ± 7,95	2,31 ± 0,94	0,270
<b>18:0</b>	9,09 ± 4,23	8,93 ± 7,08	0,305
<b>18:1</b>	12,12 ± 13,63	12,10 ± 6,50	0,425
<b>18:2 n-6</b>	9,82 ± 6,36	5,50 ± 2,35	0,160
<b>18:3 n-6</b>	5,65 ± 7,13	5,81 ± 6,16	0,732
<b>18:3 n-3</b>	1,43 ± 1,96	2,67 ± 1,76	0,060
<b>20:0</b>	5,13 ± 5,36	4,78 ± 3,43	0,680
<b>20:4 n-6</b>	6,35 ± 5,25	5,94 ± 4,60	0,790
<b>20:5 n-3</b>	12,60 ± 7,07	9,71 ± 10,26	0,183
<b>22:0</b>	1,08 ± 1,83	1,86 ± 1,83	0,260
<b>22:5 n-3</b>	2,40 ± 8,84	4,30 ± 2,89	0,102
<b>22:6 n-3</b>	1,72 ± 2,74 <sup>A</sup>	6,10 ± 4,34 <sup>B</sup>	<b>0,005</b>
<b>24:1</b>	0,96 ± 1,53	1,37 ± 0,86	0,073

**AGSa:** ácido graso salival; **G4:** personas con diagnóstico de enfermedad liquenoide bucal; **G5:** personas con diagnóstico de carcinoma bucal de células escamosas; **14:0:** mirístico; **16:0:** palmítico; **16:1:** palmitoleico; **18:0:** esteárico; **18:1:** oleico; **18:2 n-6:** linoleico; **18:3 n-6:** gamma linolénico; **18:3 n-3:** alfa linolénico; **20:0:** araquídico; **20:4 n-6:** araquidónico; **20:5 n-3:** eicosapentaenoico; **22:0:** behénico; **22:5 n-3:** docosapentaenoico; **22:6 n-3:** docosahexaenoico; **24:1:** nervónico. Los valores se expresan como porcentaje de área (%á) y corresponden a la media ± desvío estándar. Letras distintas en superíndice indican diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (A/B p<0,05). \*Prueba de Kruskal Wallis.

### 3. Eicosanoides en saliva: concentración en personas sanas y con lesión bucal.

Las concentraciones de eicosanoides en saliva, determinadas en una submuestra de personas sanas, se muestran en la tabla 19. No se observaron diferencias estadísticamente significativas según edad, incluso cuando se consideró el sexo en cada uno de esos grupos etarios (p>0,05).

**Tabla 19. Concentración de eicosanoides en saliva de personas sanas según grupo etario.**

Eicosanoides	Grupo etario			<i>p</i> *
	G1 (n=10)	G2 (n=10)	G3 (n=10)	
<b>12-HHT</b>	1,77 ± 2,93	0,46 ± 0,60	2,72 ± 5,46	0,958
<b>13-HODE</b>	1,10 ± 2,32	0,02 ± 0,06	0,00 ± 0,00	0,317
<b>12-HETE</b>	4,18 ± 3,79	5,10 ± 7,39	4,64 ± 6,92	0,757
<b>5-HETE</b>	8,94 ± 12,75	7,68 ± 7,60	8,08 ± 9,32	0,995

**G1:** personas sanas de 20-39 años; **G2:** personas sanas de 40-59 años; **G3:** personas sanas de 60-80 años; **12-HHT:** ácido 12-hidroxiheptadecatrienoico; **13-HODE:** ácido 13-hidroxi octadecaenoico; **12-HETE:** ácido 12-hidroxi eicosatetraenoico; **5-HETE:** ácido 5-hidroxi eicosatetraenoico; Los valores son expresados como la media ± desvío estándar (ng/mL). \*Prueba de Kruskal Wallis ( $p < 0,05$ ).

La tabla 20 muestra las concentraciones de eicosanoides en saliva en una submuestra de personas con lesión bucal. No se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos ( $p > 0,05$ ), aunque los valores de todos los eicosanoides son notoriamente más altos en el grupo de personas con enfermedad liquenoide bucal.

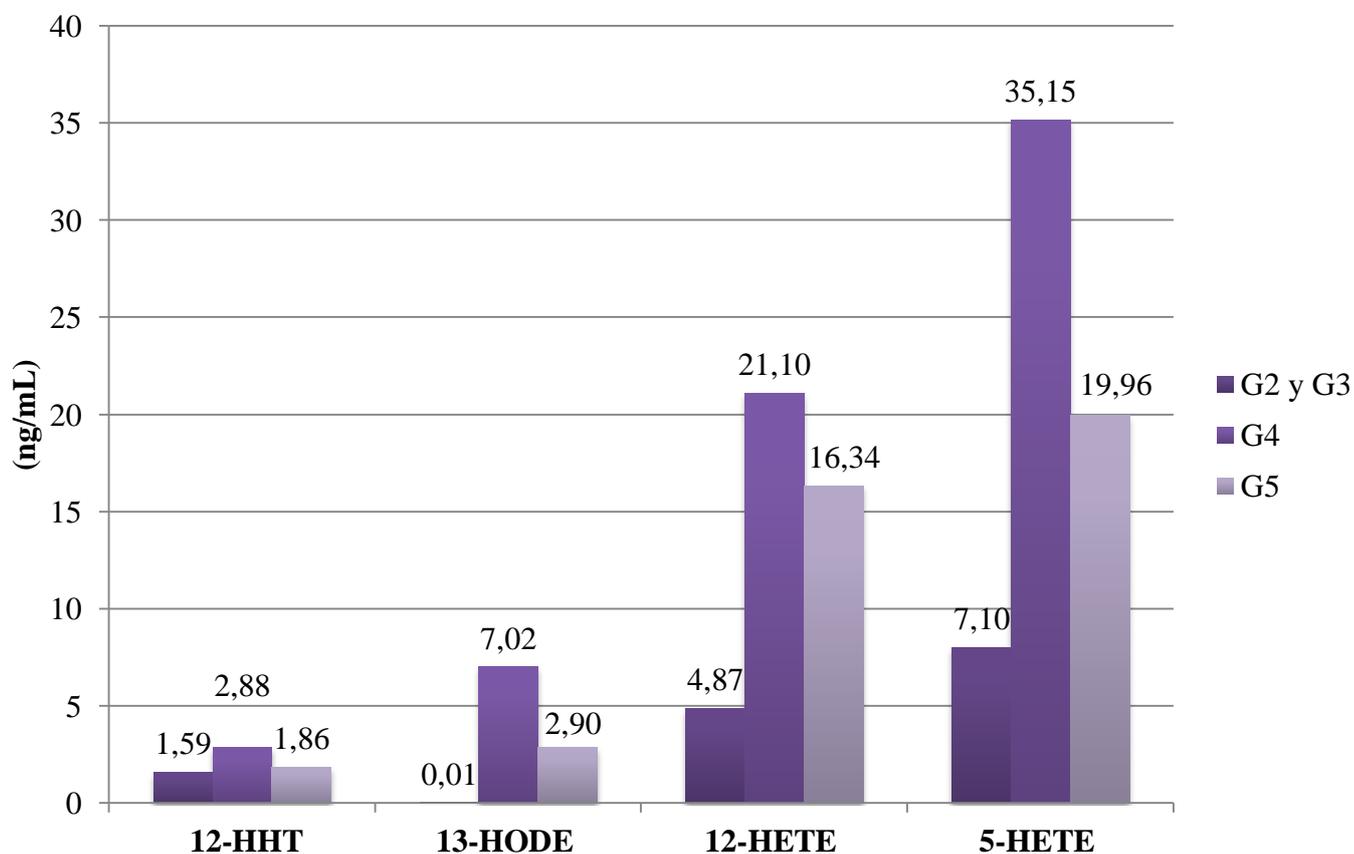
**Tabla 20. Concentración de eicosanoides en saliva de personas con lesión bucal.**

Eicosanoides	Grupo		<i>p</i> *
	G4 (n=11)	G5 (n=11)	
<b>12-HHT</b>	2,88 ± 3,51	1,87 ± 1,92	0,809
<b>13-HODE</b>	7,02 ± 6,96	2,90 ± 3,37	0,217
<b>12-HETE</b>	21,10 ± 19,80	16,34 ± 14,50	0,554
<b>5-HETE</b>	35,15 ± 32,09	19,96 ± 11,80	0,510

**G4:** personas con diagnóstico de enfermedad liquenoide bucal; **G5:** personas con diagnóstico de carcinoma bucal de células escamosas; **12-HHT:** ácido 12-hidroxiheptadecatrienoico; **13-HODE:** ácido 13-hidroxi octadecaenoico; **12-HETE:** ácido 12-hidroxi eicosatetraenoico; **5-HETE:** ácido 5-hidroxi eicosatetraenoico; Los valores son expresados como la media ± desvío estándar (ng/mL). \*Prueba de Kruskal Wallis ( $p < 0,05$ ).

Se compararon los niveles de eicosanoides en saliva entre G2 y G3 (agrupados) y personas con enfermedad liquenoide y cáncer bucal (G4 y G5, respectivamente), ya que pertenecen al mismo rango etario (gráfico 4), y se encontraron las diferencias que se presentan en la tabla 21. Las concentraciones de 13-HODE, 5 y 12-HETE en saliva, fueron mayores en personas con lesión bucal que en las sanas ( $p < 0,05$ ).

**Gráfico 4. Concentración de eicosanoides en saliva de personas sanas y con lesión bucal.**



**G2 y G3:** personas sanas de 40-80 años; **G4:** personas con diagnóstico de enfermedad liquenoide bucal; **G5:** personas con diagnóstico de carcinoma bucal de células escamosas; **12-HHT:** ácido 12-hidroxiheptadecatrienoico; **13-HODE:** ácido 13-hidroxi octadecaenoico; **12-HETE:** ácido 12-hidroxi eicosatetraenoico; **5-HETE:** ácido 5-hidroxi eicosatetraenoico.

**Tabla 21. Concentración de eicosanoides en saliva de personas sanas y con lesión bucal.**

Eicosanoides	Grupo			p*
	G2 y G3 (n=20)	G4 (n=11)	G5 (n=11)	
<b>12-HHT</b>	1,59 ± 3,95 <sup>A</sup>	2,88 ± 3,51 <sup>A</sup>	1,87 ± 1,92 <sup>A</sup>	0,586
<b>13-HODE</b>	0,01 ± 0,04 <sup>A</sup>	7,02 ± 6,96 <sup>B</sup>	2,90 ± 3,37 <sup>B</sup>	<b>&lt;0,001</b>
<b>12-HETE</b>	4,87 ± 6,97 <sup>A</sup>	21,10 ± 19,80 <sup>B</sup>	16,34 ± 14,50 <sup>B</sup>	<b>0,003</b>
<b>5-HETE</b>	8,00 ± 8,10 <sup>A</sup>	35,15 ± 32,09 <sup>B</sup>	19,96 ± 11,80 <sup>B</sup>	<b>0,010</b>

**G2 y G3:** personas sanas de 40-80 años; **G4:** personas con diagnóstico de enfermedad liquenoide bucal; **G5:** personas con diagnóstico de carcinoma bucal de células escamosas; **12-HHT:** ácido 12-hidroxiheptadecatrienoico; **13-HODE:** ácido 13-hidroxi-octadecaenoico; **12-HETE:** ácido 12-hidroxi-eicosatetraenoico; **5-HETE:** ácido 5-hidroxi-eicosatetraenoico; Los valores son expresados como la media ± desvío estándar (ng/ml). Letras distintas en superíndice indican diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (A/B p<0,05). \*Prueba de Kruskal Wallis.

#### 4. Eicosanoides en saliva: correlación con ácidos grasos dietarios y los presentes en saliva de personas sanas y con lesión bucal.

Las concentraciones de los eicosanoides en saliva fueron correlacionadas con la ingesta de AG dietarios en personas sanas. En el grupo de participantes más jóvenes (G1) se observó una asociación negativa entre la ingesta de AL (-0,73; p=0,018) y ALA (-0,74; p=0,014) y la concentración de 12-HETE en saliva, y positiva entre la ingesta de AL (0,65; p=0,042) y 5-HETE. No se observaron correlaciones en personas de mayor edad (G2 y G3) (p>0,05). Los niveles de eicosanoides en saliva también fueron correlacionados con los de AG n-3 y n-6 en el mismo fluido, pero no se encontraron asociaciones estadísticamente significativas en ningún grupo etario (p>0,05). Al realizar esta última correlación en los grupos de personas con enfermedad liquenoide y cáncer bucal (G4 y G5) se observó, en las primeras, una asociación positiva entre la ingesta de AL y los niveles de 12-HHT (0,62; p=0,042) en saliva, pero negativa entre el consumo de AGL y AA y la concentración de 5-HETE (-0,69; p=0,019; -0,64; p=0,034, respectivamente). En los pacientes con cáncer bucal se encontraron las siguientes asociaciones negativas: entre la ingesta de AGL y los niveles de 12-HHT (-0,64; p=0,033) en saliva, y entre AL y 13-HODE (-0,72; p=0,013).

Con respecto a la relación entre la concentración de eicosanoides y la de ácidos grasos en saliva, se encontraron asociaciones interesantes en el grupo de personas con enfermedad liquenoide bucal. Los niveles de 12-HHT en saliva se asociaron negativamente con los de DHA (-0,72; p=0,019), y los de 5-HETE con AGL (-0,68; p=0,031) y AA (-0,64; p=0,044), pero de manera positiva con AL (0,74; p=0,014).

#### **Objetivo 4**

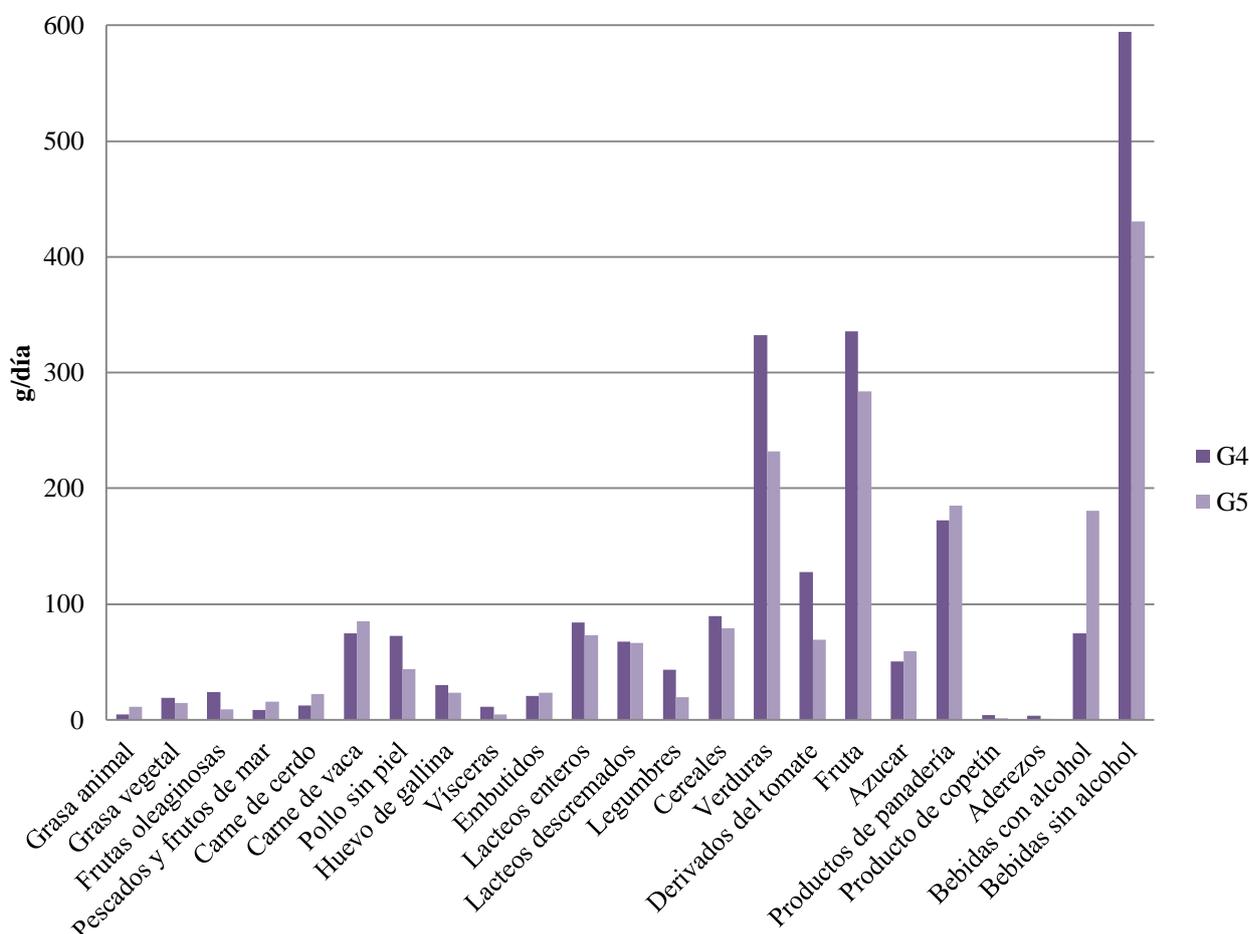
Correlacionar la ingesta de ácidos grasos n-3 y n-6 y la inflamación de la mucosa bucal, medida a través de citoquinas en saliva, de pacientes con enfermedad liquenoide bucal y carcinoma bucal de células escamosas.

Los resultados correspondientes a este objetivo se presentan de la siguiente manera: caracterización del patrón de consumo diario de alimentos e ingesta de alimentos fuente de ácidos grasos en personas con lesión bucal; consumo de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados y comparación con su ingesta en personas sanas; correlaciones entre la ingesta de ácidos grasos y de sus alimentos fuente y la concentración de citoquinas en saliva de personas con lesión bucal.

##### *1. Patrón de consumo diario de alimentos e ingesta de alimentos fuente de ácidos grasos en personas con lesión bucal.*

El patrón de consumo diario de alimentos de personas con lesión bucal (G4 y G5) se muestra en el gráfico 5. Cuando se analizó la ingesta de alimentos fuente de AG (gramo/día) se encontraron diferencias en el consumo de frutas oleaginosas (24,09 g en G4; 9,16 g en G5; p=0,03) y de pollo sin piel (72,57 g en G4; 43,89 g en G5), los que fueron mayores en personas con enfermedad liquenoide que en aquellas con cáncer bucal.

**Gráfico 5. Patrón de consumo diario de alimentos en personas con lesión bucal.**



**G4:** personas con diagnóstico de enfermedad liquenoide bucal; **G5:** personas con diagnóstico de carcinoma bucal de células escamosas.

2. *Ingesta de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados en personas con lesión bucal y comparación con su consumo en personas sanas.*

La ingesta diaria de ácidos grasos (mg/día) y otras variables nutricionales se muestra en la tabla 22. Es importante destacar que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el consumo de AG entre los dos grupos de pacientes con patología bucal, lo que permitió agruparlos y compararlos, en cuanto a la ingesta de estos nutrientes, con los sanos de edad similar (G2 y G3 agrupados) (tabla 23).

**Tabla 22. Variables nutricionales e ingesta de ácidos grasos en personas con lesión bucal.**

Variables nutricionales	Grupo		p*
	G4 (n=20)	G5 (n=11)	
<b>IMC</b>	28,89 ± 4,42	27,93 ± 8,01	<b>&lt;0,001</b>
<b>VET (Kcal)</b>	2688,66 ± 992,41	2592,64 ± 864,33	0,269
<b>Colesterol (mg)</b>	389,67 ± 234,16	326,83 ± 113,90	0,593
<b>Grasa total (g)</b>	77,94 ± 38,68	84,52 ± 38,15	0,172
<b>AGS (mg)</b>	22,59 ± 12,79	32,13 ± 14,55	0,453
<b>4:0</b>	0,40 ± 0,34	0,53 ± 0,52	0,650
<b>12:0</b>	0,52 ± 0,41	0,41 ± 0,25	0,409
<b>14:0</b>	2,62 ± 1,67	2,48 ± 1,18	0,901
<b>16:0</b>	19,05 ± 10,94	19,33 ± 8,95	0,967
<b>18:0</b>	8,35 ± 5,10	9,23 ± 4,34	0,620
<b>20:0</b>	0,19 ± 0,13	0,16 ± 0,12	0,679
<b>22:0</b>	0,01 ± 0,02	0,03 ± 0,01	0,935
<b>AGMI (mg)</b>	36,29 ± 19,80	35,18 ± 16,17	0,247
<b>16:1 n-7</b>	3,04 ± 2,21	3,52 ± 2,19	0,445
<b>18:1 n-9</b>	33,12 ± 17,87	31,43 ± 14,38	0,741
<b>24:1 n-9</b>	0,13 ± 0,22	0,22 ± 0,39	0,685
<b>AGPI (mg)</b>	19,05 ± 9,05	17,21 ± 9,04	0,060
<b>18:2 n-6</b>	15,65 ± 8,16	13,97 ± 7,64	0,312
<b>18:3 n-6</b>	1,12 ± 1,10	0,91 ± 0,71	0,951
<b>18:3 n-3</b>	0,22 ± 0,14	0,33 ± 0,21	0,094
<b>20:3 n-3</b>	1,52 ± 0,97	1,37 ± 0,87	0,694
<b>20:4 n-6</b>	0,22 ± 0,27	0,23 ± 0,23	0,869
<b>20:5 n-3</b>	1,5 ± 4,9	0,01 ± 0,02	0,436
<b>22:5 n-3</b>	0,29 ± 0,18	0,32 ± 0,18	0,603
<b>22:6 n-3</b>	0,03 ± 0,03	0,07 ± 0,08	0,216

**G4:** personas con diagnóstico de enfermedad liquenoide bucal; **G5:** personas con diagnóstico de carcinoma bucal de células escamosas; **IMC:** índice de masa corporal; **VET:** valor energético total; **AGS:** ácidos grasos saturados.; **4:0:** butírico; **12:0:** láurico; **14:0:** mirístico; **16:0:** palmítico; **18:0:** esteárico; **20:0:** araquídico; **22:0:** behénico; **AGMI:** ácidos grasos monoinsaturados; **16:1 n-7:** palmitoleico; **18:1 n-9:** oleico; **24:1 n-9:** nervónico; **AGPI:** ácidos grasos poliinsaturados; **18:2 n-6:** linoleico; **18:3 n-6:** gamma linolénico; **18:3 n-3:** alfa linolénico; **20:3 n-3:** eicosatrienoico; **20:4 n-6:** araquidónico; **20:5 n-3:** eicosapentaenoico; **22:5 n-3:** docosapentaenoico; **22:6 n-3:** docosahexaenoico; Los valores son expresados como la media ± desvío estándar (mg/día). \*Prueba de Kruskal Wallis (p<0,05).

**Tabla 23. Ácidos grasos dietarios y variables nutricionales: diferencias entre personas sanas y con lesión bucal.**

AG	Grupo		
	G2 y G3 (n=44)	G4 y G5 (n=31)	p*
IMC	25,50 ± 2,40	28,55 ± 5,83	0,004
AGMI	41,23 ± 13,47	35,90 ± 18,32	0,041
16:1 n-7	4,07 ± 2,30	3,21 ± 2,18	0,050
18:1 n-9	37,01 ± 11,72	32,52 ± 16,49	0,031
AGS	37,90 ± 14,56	25,98 ± 13,99	<0,001
4:0	0,78 ± 0,71	0,45 ± 0,41	0,020
12:0	0,65 ± 0,46	0,48 ± 0,36	0,040
14:0	3,36 ± 1,68	2,57 ± 1,49	0,001
18:0	10,62 ± 4,15	8,66 ± 4,79	0,025
22:6 n-3	0,16 ± 0,08	0,04 ± 0,05	<0,0001

**AG:** ácido graso; **G2 y G3:** personas sanas de 40-80 años; **G4 y G5:** personas con diagnóstico de enfermedad liquenoide bucal y carcinoma bucal de células escamosas. **IMC:** índice de masa corporal; **AGMI:** ácidos grasos monoinsaturados; **16:1 n-7:** palmitoleico; **18:1 n-9:** oleico; **AGS:** ácidos grasos saturados; **4:0:** butírico; **12:0:** láurico; **14:0:** mirístico; **18:0:** esteárico; **22:6 n-3:** docosahexaenoico; Los valores son expresados como la media ± desvío estándar (mg/día). \*Prueba de Kruskal Wallis ( $p < 0,05$ ). Solo se muestran aquellos AG y variables nutricionales que presentaron diferencias estadísticamente significativas.

### 3. *Correlación entre la ingesta de ácidos grasos y la concentración de citoquinas en saliva de personas con lesión bucal.*

Se correlacionó la ingesta de ácidos grasos, especialmente n-3 y n-6, y la inflamación de la mucosa bucal -determinada a través de las citoquinas en saliva de pacientes con enfermedad liquenoide bucal (G4) y carcinoma bucal de células escamosas (G5) y se encontraron asociaciones interesantes en este último grupo con respecto a ácidos grasos saturados. IL-1 $\beta$  mostró una asociación positiva con la ingesta del AG 12:0 (0,65;  $p=0,04$ ), y la citoquina IL-6 con el consumo de 20:0 (0,73;  $p=0,01$ ).

4. *Correlación entre la ingesta de alimentos fuente de ácidos grasos y la concentración de citoquinas en saliva de personas con lesión bucal.*

La tabla 24 muestra las correlaciones encontradas entre las citoquinas en estudio y la ingesta de alimentos fuente de ácidos grasos en personas con lesión bucal.

**Tabla 25. Correlación entre la ingesta de alimentos fuente de ácidos grasos y la concentración de citoquinas en saliva de personas con lesión bucal.**

Cq	Grupo			
	G4 (n=20)		G5 (n=11)	
	Alimento fuente	CCS	Alimento fuente	CCS
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	Aceite, mezcla	-0,59	Mayonesa	0,72
	Queso cremoso	0,53	Cerdo, lomo	0,67
			Vacuno, tira de asado	0,65
<b>IL-6</b>	Vacuno, costilla	0,54	Nuez	-0,78
	Vacuno, matambre	0,50	Pescados y frutos de mar	-0,62
	Vacuno, puchero	0,46	Vacuno, molida común	0,77
	Queso senda	0,47	Salchichas	0,65
	Lácteos descremados	0,52		
	Garbanzo hervido	-0,49		
<b>TNF</b>	Atún al natural	-0,53	Vacuno, puchero	0,72
	Pescados y frutos de mar	-0,49	Vacuno, molleja	0,67
	Vacuno, costeleta	0,47	Queso senda	0,77
	Vacuno, molida común	0,48	Queso gruyere	0,67

**Cq:** citoquinas; **G4:** personas con diagnóstico de enfermedad liquenoide bucal; **G5:** personas con diagnóstico de carcinoma bucal de células escamosas; **IL-1 $\beta$ :** interleuquina 1 $\beta$ ; **IL-6:** interleuquina 6; **TNF:** factor de necrosis tumoral. **CCS:** Coeficiente de correlación de Spearman ( $p < 0,05$ ).

# DISCUSIÓN

La inflamación es un mecanismo normal de defensa del hospedador frente a patógenos y como respuesta a diferentes lesiones. Es autolimitada y se resuelve mediante mecanismos que incluyen la secreción de citoquinas antiinflamatorias y mediadores lipídicos proresolutivos. Si esa resolución falla, el proceso se vuelve crónico y puede favorecer el desarrollo de patologías inflamatorias y cáncer. El envejecimiento y los AG dietarios se relacionan con el sistema inmune y los procesos inflamatorios, pero son escasos los estudios referidos a la asociación entre la edad y la ingesta de esos compuestos dietarios, y la inflamación de la mucosa bucal.

El objetivo de este trabajo fue analizar la relación entre AG dietarios y envejecimiento y la inflamación de la mucosa bucal, determinada a través de citoquinas presentes en saliva, en personas sanas y con diagnóstico de enfermedades liquenoides bucales, como liquen plano y lesión liquenoide, así como de carcinoma bucal de células escamosas.

A continuación, se presenta la discusión según los principales resultados encontrados.

*Las citoquinas proinflamatorias presentes en saliva de personas sanas disminuyen con el envejecimiento*

---

La mucosa bucal puede ser asiento de procesos inflamatorios (30-34) y su inmunidad puede ser analizada en la saliva a través de marcadores de inflamación como las citoquinas (41-44).

En este trabajo de tesis se analizaron las concentraciones de citoquinas proinflamatorias IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF en saliva, según sexo y edad, en personas sanas a fin de conocer la inflamación basal de la mucosa bucal. Se observó una menor concentración de estas citoquinas en los participantes de mayor edad que en los más jóvenes. Según estos resultados, el envejecimiento podría asociarse a una menor inflamación basal de la mucosa bucal, medida a través de citoquinas proinflamatorias en saliva, relación sobre la cual no se han hallado otros estudios.

Bäck y col. encontraron una correlación positiva significativa entre la edad y los niveles de marcadores inflamatorios en saliva, como PGE<sub>2</sub>, así como una mayor actividad de metaloproteinas se matriz en la saliva de personas mayores de 40 años en comparación con los menores de esa edad, sin diferencia según sexo (136). En nuestro estudio tampoco se detectaron diferencias en la concentración de IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF entre hombres y mujeres, indicando que el sexo no influye en la concentración de estos marcadores de inflamación en la saliva. Riis y col. analizaron citoquinas en suero y en saliva -interferón gamma (IFN $\gamma$ ), TNF, IL-1 $\beta$ , interleuquina-2 (IL-2), IL-6, IL-8, IL-10, e interleuquina-12 (IL-12)- en mujeres de 13-17 años de edad durante tres años consecutivos y observaron que, en los dos primeros años de estudio, la edad se asoció negativamente con los niveles de la mayoría de esas citoquinas en saliva (a mayor edad, niveles más bajos de citoquinas), sugiriendo una relación entre la inflamación de la mucosa bucal y los cambios hormonales vinculados a la transición puberal de las niñas. Estos autores también hallaron que los niveles de IL-1 $\beta$  e IL-8 en saliva fueron veinte veces más altos que los de las demás citoquinas (157), resultados que coinciden con los de nuestro trabajo, en el que se encontró una mayor concentración en saliva de IL-1 $\beta$  que de IL-6 y TNF, aunque las edades no son comparables. Es importante destacar que en los estudios citados, a diferencia del nuestro, no se ha tenido en cuenta -según consta en la metodología- la presencia de enfermedad periodontal, factores irritativos locales tales como prótesis removible, fractura dentaria, así como tampoco la ingesta de AG dietarios y sus alimentos fuente (que poseen propiedades antiinflamatorias y proinflamatorias), regímenes alimentarios especiales, consumo excesivo de alcohol y administración habitual de medicamentos, es decir, factores que modifican la inflamación.

Existen numerosos trabajos sobre citoquinas en saliva (158-161) pero no fueron llevados a cabo en pacientes sanos, tanto a nivel del sistema estomatognático como sistémico, ni se ha considerado edad y sexo.

La saliva contiene agua, proteínas, péptidos bioactivos, ácidos nucleicos, lípidos y electrolitos, células sanguíneas y epiteliales descamadas, además del aporte de la mucosa bucal, el periodonto, la microbiota y sus metabolitos (5,48,162,163). La mayoría de sus componentes se producen localmente en las glándulas salivales, pero algunas moléculas pasan de la sangre a la saliva a nivel de los conductos y a través de procesos biológicos como la difusión pasiva, el transporte activo y la ultrafiltración (162,163). No obstante, la concentración de la mayoría de los componentes plasmáticos presentes en la saliva es aproximadamente 300 a 3000 veces menor en este último fluido (164,165).

Numerosos estudios han descrito la producción de proteínas en las glándulas salivales. Se conoce que los aminoácidos ingresan a las células acinares mediante transporte activo y, después de la síntesis, la mayoría de las proteínas intracelulares se almacenan en gránulos que serán liberados ante estímulos secretores (41,165,166). Sin embargo, no se han hallado reportes sobre la producción de las citoquinas en saliva, así como tampoco sobre el aporte de esas proteínas desde la sangre, por lo que resulta necesario avanzar en la investigación acerca de la contribución de las glándulas salivales y la sangre al contenido final de las citoquinas en saliva.

La disminución de citoquinas proinflamatorias en saliva de personas de mayor edad podría deberse a los diferentes cambios acontecidos con el envejecimiento, tales como reducción de la microvasculatura -lo que provocaría una reducción de componentes salivales provenientes de la sangre debido a una disminución de la difusión pasiva, ultrafiltración y transporte activo-, reducción de la concentración total de proteínas en saliva (167), cambios anatómicos e histológicos en las glándulas salivales, tales como atrofia de las células acinares y reemplazo del parénquima normal por tejido fibroso (167,168). Según Xu y col, las glándulas salivales de personas de 23 años de edad presentan una estructura lobular y del parénquima más uniforme y compacta en comparación con personas de 83 años, en los que se ha observado un aumento proporcional del volumen de tejido graso y fibroso y una disminución del volumen de secreción de las células acinares, cambios que podrían resultar en una hipofunción de las glándulas salivales. A esas modificaciones estructurales y funcionales se sumaría la reducción en la intensidad de la estimulación y el reflejo ya que, con la edad, se produce una disminución de receptores olfativos y gustativos, de la estimulación neuronal de la saliva y de la perfusión sanguínea a nivel de las glándulas (168). Aunque se conoce que la composición salival se modifica en personas mayores de 60 años de edad -aumento de potasio, cloro, fosfato, ácido úrico, lisosima, amilasa, inmunoglobulina A secretoria, y disminución del calcio, lactoferrina, transferrina, glutatión oxidado y reducido y actividad peroxidasa- (168), es escaso el conocimiento sobre las citoquinas en saliva y su relación con la edad.

El envejecimiento está asociado con una inflamación crónica de bajo nivel (133) y con un aumento de la concentración de moléculas proinflamatorias en suero (94,132,134). Numerosos estudios muestran que las concentraciones circulantes de muchos mediadores de la inflamación son más altas en adultos mayores que en adultos jóvenes (94,134), aunque esa asociación significativa y consistente con la edad solo ha sido observada con

algunos mediadores séricos (94). Los estudios en saliva son escasos y los resultados no son concluyentes (157). En este sentido, Riis y col. no hallaron correlaciones significativas entre las concentraciones, en saliva y suero, de las citoquinas IFN $\gamma$ , TNF, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, y IL-12 en mujeres de 13-17 años y, además, reportaron niveles de todas las citoquinas más bajos en saliva que en suero, excepto IL-8 e IL-1 $\beta$  que fue a la inversa. Los niveles de IL-1 $\beta$  en saliva mostraron una asociación positiva con su concentración en suero (157). Nam y col. encontraron que los niveles de IL-1 $\beta$  e IL-6 fueron más altos que el de TNF en saliva de hombres jóvenes y, de ellas, la IL-6 fue la única que mostró una correlación significativa, aunque débil, con su homóloga en plasma (161).

A fin de proteger a los tejidos subyacentes ante diferentes noxas, la mucosa bucal -a través de los queratinocitos- produce citoquinas y quimiocinas que promueven el infiltrado celular, la respuesta vascular, destrucción de tejidos y proliferación celular (34,38,39). Esa mucosa protectora también está dotada de células del sistema inmune innato como macrófagos, células dendríticas, de Langerhans, *natural killer*, leucocitos polimorfonucleares y sus mediadores inflamatorios que incluyen citoquinas, quimiocinas, péptidos antibacterianos y componentes del sistema del complemento. La inmunoglobulina A secretoria, los mediadores biológicos derivados de los queratinocitos bucales y los componentes del líquido crevicular gingival agregan su aporte a la inmunidad de la mucosa bucal (31,34,39,40). Por todo ello, el trasudado mucoso aportaría citoquinas a la saliva a partir de la activación del sistema inmune. Dentro de los cambios relacionados con la edad se incluye la disminución del grosor del epitelio mucoso acompañado de un aumento del de queratina y una reducción de la microvasculatura (167), todo lo cual podría interferir en la producción y pasaje de citoquinas al medio bucal en personas de mayor edad, resultando en una disminución de la concentración de esas proteínas en saliva.

Las evidencias bibliográficas y nuestros hallazgos sugieren que, si bien el envejecimiento está asociado con una inflamación crónica de bajo nivel y esto se evidencia en algunos estudios por un aumento en los marcadores inflamatorios en suero como las citoquinas (133,134), no ocurriría lo mismo en saliva. Ello podría estar relacionado a los cambios histológicos y funcionales, antes mencionados, que se producen en las glándulas salivales y en la mucosa bucal.

---

***Las citoquinas proinflamatorias presentes en saliva de personas sanas disminuyen con la ingesta de AG n-3 y aumentan con la de n-6 y AGS***

---

Se analizó la ingesta de AG dietarios saturados, monoinsaturados y poliinsaturados en relación a la concentración de IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF en saliva de personas sanas, a fin de conocer su influencia sobre la inflamación basal de la mucosa bucal. Se observó que la concentración de IL-6 en saliva disminuye a mayor ingesta de AG n-3 en personas de 20-39 y en mayores de 60 años, pero también aumenta en este último grupo etario a mayor consumo de AGS. Por el contrario, los niveles de IL-6 e IL-1 $\beta$  en saliva disminuyen a mayor ingesta de AGS en personas de 40-59 años. La concentración de TNF en saliva fue más baja ante un mayor consumo de AG n-3 en todas las edades, pero más alta con una mayor ingesta de AG n-6 en personas de 40 años o más, al igual que con el consumo de AGS en personas del menor y mayor rango etario (20-39 y 60-80 años, respectivamente). Esto sugiere que la ingesta de AGPI n-3 podría asociarse a una disminución de la inflamación de la mucosa bucal, en tanto que lo contrario ocurriría con el consumo de AGPI n-6 y AGS. Se ha observado que las personas de 40-80 años consumen mayor cantidad de AGPI n-3 y n-6, así como de AGS, con respecto a las más jóvenes, lo cual podría favorecer las asociaciones observadas entre las citoquinas y esos AG.

Se conoce que los AGPI n-3 tienen efectos antiinflamatorios (4,91) debido a la regulación negativa de NF- $\kappa$ B, IL-1 $\beta$ , TNF e IL-6, y positiva de IL-10 (94,112,118,120) y la posterior alteración en la transcripción de citoquinas proinflamatorias (94,114,115). Los efectos antiinflamatorios de los AGPI n-3 sobre las citoquinas inflamatorias están relacionados con alteraciones en la expresión de genes que codifican esas proteínas (94), ya que interfieren en la activación del receptor *toll like 4* (TLR-4) (169) y la fosforilación de la subunidad inhibidora de NF- $\kappa$ B (I $\kappa$ B), y estimulan al receptor gamma activado por proliferador de peroxisoma (PPAR- $\gamma$ ), el cual bloquea la translocación de NF- $\kappa$ B al núcleo, reduciendo así la producción de TNF e IL-6 (94). Además, los mediadores lipídicos derivados de AEP y ADH, como resolvinas, protectinas, maresinas y PGE<sub>3</sub>, poseen acción antiinflamatoria (117,119,121,170). Por el contrario, los AGPI de la serie n-6 tienen efectos proinflamatorios y su mayor ingesta predispone mecanismos que incluyen la alteración en la producción de eicosanoides como PGE<sub>2</sub> y leucotrieno-B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>) a partir del AA, y el aumento de citoquinas proinflamatorias IL-6, IL-1 $\beta$  y TNF por activación de NF- $\kappa$ B (170,171). Los AGS también inducen la inflamación (120,125,126) ya que actúan sobre TLR-4, lo que conduce a la activación de la cascada de señalización dependiente o

independiente de la proteína de respuesta primaria a la diferenciación mieloide 88 (MyD88). En la vía dependiente de MyD88, la activación de NF- $\kappa$ B y de la proteína activadora del factor de transcripción 1 (AP-1) contribuye a la expresión de citoquinas proinflamatorias como TNF, IL-1 $\beta$  e IL6, entre otras (172,173).

En este trabajo, las concentraciones de IL-6 y TNF en saliva disminuyeron ante un mayor consumo de AGPI n-3 pero IL-1 $\beta$  no mostró esa asociación. Además, esa citoquina e IL-6 disminuyeron ante una mayor ingesta de AGS en personas de mediana edad en tanto que, en el resto, el consumo de esos AG se asoció a un aumento de citoquinas proinflamatorias. Si bien se conoce que los AGS inducen la inflamación y un incremento de las mencionadas citoquinas, la mayoría de los estudios se refieren a los AGS láurico, palmítico, esteárico y mirístico (126,172,173) en monocitos, macrófagos, células dendríticas, endoteliales, del músculo estriado, pancreáticas  $\beta$ , de la microglia, adipocitos y hepatocitos (173). En nuestro trabajo, las asociaciones positivas entre la ingesta de AGS y las citoquinas presentes en saliva ocurrieron con los AG palmítico, esteárico, araquídico y butírico, lo que indicaría una acción inflamatoria de esos AG. Lo contrario se observó con el consumo de AG behénico, aunque sólo con IL- $\beta$  e IL-6 y en personas de 40-59 años. No se hallaron reportes al respecto en la bibliografía consultada.

Todo lo expuesto explicaría la relación observada entre la ingesta de AGPI n-3 y n-6, así como de AGS, y la concentración de citoquinas en saliva -asociación que no ha sido reportada hasta el momento- y que sugeriría una influencia de la ingesta de AG dietarios, sobre todo del grupo n-3, sobre el estado inflamatorio de la mucosa bucal.

Estudios llevados a cabo en animales y seres humanos han demostrado que los AG n-3 AEP y ADH, incorporados al organismo a través del consumo de pescados grasos y suplementos de aceite de pescado, pueden intervenir en eventos inflamatorios como quimiotaxis leucocitaria, expresión de moléculas de adhesión celular, producción de eicosanoides y citoquinas inflamatorias, reactividad de células T, alteración de la composición de los fosfolípidos de la membrana celular, inhibición de la activación de NF- $\kappa$ B, entre otros (94,170,171). Con respecto a las citoquinas, algunos ensayos clínicos en humanos han demostrado menores concentraciones de esos marcadores inflamatorios en plasma a mayor ingesta de ADH y AEP (170). El consumo de este último AG se asoció con una menor concentración de IL-6, y el de ADH con esa citoquina y con TNF, pero la ingesta de ambos AG ha mostrado una relación con mayores niveles de citoquinas antiinflamatorias IL-10 y TGF- $\beta$  (94). Además, en personas sanas se ha observado que la

ingesta de AEP y ADH, como suplementos dietarios, disminuye la producción de TNF, IL-1 $\beta$  e IL-6 por parte de monocitos (94).

No se hallaron estudios sobre la relación entre la ingesta de AG n-3 y las citoquinas presentes en saliva, y son escasos los reportes acerca de su asociación con la inflamación de la mucosa bucal. Un estudio en ratas demostró que la aplicación local y la administración sistémica de AG n-3 promueve la cicatrización de úlceras bucales, con mejor formación de tejido de granulación y menor infiltrado de células inflamatorias que en los animales del grupo control (174). No se encontraron otros estudios al respecto pero, dado que la mucosa bucal es parte del sistema digestivo, es importante tener en cuenta la asociación entre la ingesta de AG n-3 y la inflamación de otras mucosas, como la del intestino. Se ha observado que el ADH disminuye la inflamación en un modelo de epitelio intestinal humano (175) y que los AG n-3, en general, ejercen acciones proinflamatorias y antiinflamatorias en modelos de colitis crónica (ratones C57BL/6) y de inflamación crónica de intestino delgado (ratones SAMP1/Yit) (176). Generoso y col. hallaron efectos positivos de los AG dietarios n-3 en el tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal en ratones BALB/c, ya que alivian los síntomas y promueven una mayor integridad de la mucosa (177). Del mismo modo, el AAL (precursor de AEP y ADH) se comporta como un agente antiinflamatorio en la colitis de ratas y la suplementación con ese AG es eficaz para inhibir la inflamación inducida por IL-1 $\beta$  en seres humanos (178). Además, se comprobó una mejora en la respuesta inflamatoria posoperatoria en pacientes con cáncer gástrico asociada a la ingesta de AG n-3, con una disminución en los niveles de IL-1 $\beta$  e IL-6 y un aumento en el de IL-10 (citoquina antiinflamatoria) en suero (179).

Las evidencias bibliográficas referidas a la mucosa intestinal y los resultados obtenidos en este trabajo sugieren que la ingesta de AG n-3 reduciría la inflamación de la mucosa bucal.

***Las citoquinas proinflamatorias presentes en saliva de personas sanas disminuyen con la ingesta de alimentos fuente de AG n-3 y aumentan con la de aquellos que aportan AG n-6 y AGS***

---

Diferentes patrones dietarios pueden retardar o promover la inflamación. Una alta ingesta de carnes rojas, postres azucarados, alimentos ricos en grasas, incluyendo grasas

parcialmente hidrogenadas y *trans*, granos refinados y bebidas carbonatadas, y por otro lado, un bajo consumo de frutas frescas y secas, verduras, cereales integrales, fibra insoluble y alimentos ricos en AG n-3, como pescado, linaza, huevos y nueces (104,107-110,180-182), puede generar una producción excesiva de citoquinas proinflamatorias y reducida de citoquinas antiinflamatorias, y conducir a la activación del sistema inmune innato (104,109,183).

En el presente trabajo se ha encontrado que un mayor consumo total de pescados y frutos de mar (fuente de AEP y DHA) disminuye los niveles de IL-6 y de TNF en saliva de personas mayores de 60 años, y de TNF en los más jóvenes, en quienes IL-6 y de TNF aumentan seguramente asociadas a una mayor ingesta de grasa animal (fuente de AG n-6 y AGS). Un mayor consumo de carne porcina y vacuna, así como de lácteos enteros (alimentos fuente de AG n-6 y AGS), aumenta los niveles de IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF en saliva de personas de mediana edad. Es importante señalar que el mayor consumo de alimentos fuente de AGPI n-3 y n-6 de origen animal y vegetal -así como de AGS- se observó en las personas mayores de 40 años con respecto al de las más jóvenes, razón por la cual se habrían hallado la mayoría de las asociaciones en esos grupos etarios.

Se ha comprobado la relación entre diferentes alimentos y la inflamación en estudios *in vitro*, *in vivo* y en ensayos clínicos. La ingesta de frutas como la granada (jugo, semillas y piel), mangostán, frutilla, cerezas, frutos rojos, naranjas y nueces son asociadas con efectos antiinflamatorios producidos por la inhibición de la activación de NF- $\kappa$ B y la reducción de mediadores inflamatorios como COX y citoquinas IL-6, TNF, IL-1 $\beta$ , entre otros (184-197). Lo mismo ocurre con el consumo de vegetales crucíferos, tomate (jugo), papa, legumbres y granos enteros (182,198-205). Las bebidas con fructosa, glucosa y sacarosa generan un efecto inflamatorio ya que activan la quinasa c-Jun N-terminal, causando inflamación hepática y aumento del sustrato 1 del receptor de insulina e induciendo la lipogénesis mediante la regulación positiva de la proteína de unión al elemento regulador del colesterol (SREBP-1c) y de la proteína de unión al elemento de respuesta a carbohidratos (CHREBP) (206,207). Por el contrario, el té verde y negro -ricos en catequinas, polifenoles y flavinas- modulan varias vías de señalización con efecto antiinflamatorio (208).

En cuanto a la ingesta de alimentos fuente de AG en particular, se reportó que el consumo de nueces (fuente de AGMI, n-6, n-3) (196,197) y aceite de pescado (n-3) reduce la producción de mediadores inflamatorios por parte de neutrófilos, monocitos y linfocitos, con el consiguiente efecto antiinflamatorio (91). Alimentos de origen animal como la leche

entera (AGS), huevos (n-6), carnes (AGS, n-6) y pescados (n-3), poseen un efecto antiinflamatorio por acción sobre quinasas de señalización proinflamatorias, citoquinas proinflamatorias y antiinflamatorias, señalización dependiente de integrina, generación de especies reactivas de oxígeno y sistema renina-angiotensina (204).

Este es el primer reporte, según nuestro conocimiento, sobre la asociación entre la ingesta de alimentos fuente de AG y la concentración de citoquinas proinflamatorias en saliva. Las asociaciones encontradas, en personas de mayor edad, entre la ingesta de alimentos fuente de AEP y DHA -importantes AGPI antiinflamatorios- y las citoquinas en estudio son importantes ya que estarían indicando una disminución de la inflamación. Sin embargo, su consumo diario fue relativamente bajo. Por ello, sería importante continuar investigando esa asociación en personas con un consumo más alto de esos alimentos fuente de AG con potenciales efectos antiinflamatorios.

*Los niveles de citoquinas proinflamatorias en saliva son mayores en personas con enfermedades liquenoides y cáncer bucal que en personas sanas.*

---

En el presente estudio se observó que los niveles de las citoquinas proinflamatorias IL-6 y TNF en saliva fueron mayores en personas con enfermedades liquenoides y cáncer bucal que en personas sanas del mismo rango etario (40-80 años). Otros autores también detectaron concentraciones más altas de citoquinas proinflamatorias en saliva y tejido patológico de personas con desórdenes potencialmente malignos y cáncer bucal comparado con personas sanas (27,47,209-211).

No se encontraron estudios que analicen la concentración de citoquinas proinflamatorias en saliva de personas con enfermedades liquenoides bucales en general. El análisis bibliográfico muestra que la saliva de pacientes con liquen plano bucal presentan mayores niveles de IL-6, IL-8, IL-17, interleuquina-1 $\alpha$  (IL-1- $\alpha$ ), interleuquina-18 (IL-18), IFN $\gamma$  y TNF que las personas sanas (209,212,213). Además, existirían niveles más altos de IL-4, IL-6 y TNF en tejido de lesiones erosivas que en el de lesiones reticulares, lo que reflejaría la producción local de esas citoquinas por parte de los queratinocitos, monocitos, linfocitos T, células endoteliales, macrófagos y fibroblastos involucrados en la lesión (213). También se reportaron altos niveles de IL-6 e IL-8 en

saliva de pacientes con reacciones liquenoides (214), pero no se encontraron trabajos en los que se comparen esas concentraciones con las de personas sanas.

Algunos autores también han observado que la concentración de citoquinas IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 y TNF en saliva de pacientes con cáncer bucal es mayor que en personas sanas (27,47). Los estudios han demostrado que existe activación de NF-k $\beta$ , STAT3 y expresión elevada de las citoquinas proinflamatorias antes mencionadas en el tejido tumoral y en el suero (27,47,215).

De acuerdo al análisis bibliográfico y a los resultados obtenidos en este trabajo de tesis, las enfermedades liquenoides bucales presentarían un estado inflamatorio crónico con un elevado aporte de citoquinas proinflamatorias al medio bucal, en particular IL-6 y TNF. Existen estudios inmunohistoquímicos que confirman el papel de esas citoquinas en el proceso de transformación maligna en la mucosa bucal. En particular, se reportó que IL-6 y TNF pueden promover la transformación maligna del liquen plano bucal (27).

La saliva es un fluido apto para la detección e identificación de biomarcadores debido a su interacción directa con las células del tumor (48), y algunos autores sugieren que las citoquinas podrían ser utilizadas como herramienta diagnóstica para la detección temprana del cáncer (52). Esas proteínas con propiedades proinflamatorias y proangiogénicas juegan un papel importante en el proceso de transformación maligna, pero aún existe incertidumbre y controversia acerca de su empleo como marcadores que permitan predecir, diagnosticar y evaluar el cáncer bucal (27,210,211). Babiuch y col. observaron concentraciones de IL-6, IL-8 y TNF más altas en saliva de personas con cáncer comparado con los que presentaron leucoplasia y liquen plano bucal sin displasia (27). En este trabajo de tesis no se encontraron diferencias en las concentraciones de IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF en saliva entre personas con enfermedades liquenoides y cáncer. Czerninski y col. tampoco hallaron diferencias entre las citoquinas IL-6, IL-8, IL-10, IL-1 $\beta$  en suero de personas con desórdenes potencialmente malignos, como la displasia y el liquen plano, en relación con el cáncer bucal (215).

Considerando los resultados obtenidos en este trabajo, y los escasos estudios realizados hasta el momento, se debe continuar investigando la utilidad de las citoquinas proinflamatorias presentes en saliva como herramientas complementarias para el diagnóstico de cáncer bucal.

***La ingesta de ácidos grasos saturados se asocia a un mayor estado inflamatorio de la mucosa bucal en pacientes con cáncer.***

---

La concentración de IL-1 $\beta$  en saliva de pacientes con cáncer bucal mostró una asociación positiva con la ingesta de AGS láurico, y la de IL-6 con el consumo del AG araquídico. No se encontraron asociaciones con AG del grupo n-6 y n-3.

Como se mencionó anteriormente, los AGS inducen la inflamación (112,120,125,126,173). Un aumento en su ingesta incrementa la cantidad de bacterias gram-negativas en el intestino, y los lipopolisacáridos de su membrana externa se unen al TLR-4 provocando la activación de NF-k $\beta$  y la liberación de citoquinas proinflamatorias. TLR-4 también puede ser estimulado directamente por los AGS provocando un aumento de las citoquinas inflamatorias TNF, IL-1 $\beta$ , IL6 e IFN $\gamma$ , y una disminución de las antiinflamatorias IL10, IL17 e IL22. Todo eso genera un aumento de la permeabilidad intestinal que promueve el paso de lipopolisacáridos, AG libres y citoquinas proinflamatorias a la circulación sanguínea. Como resultado, se genera una inflamación sistémica que constituye un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, diabetes tipo 2 y cáncer (216).

Muchos estudios *in vivo* han mostrado que una dieta rica en grasas saturadas promueve la tumorigénesis y se asocia a una mayor mortalidad por cáncer en general. Sin embargo, los informes de estudios experimentales y en seres humanos no son contundentes con respecto a sus propiedades protumorigénicas (216). Existen reportes sobre el efecto de los AGS en la inflamación intestinal y cáncer en general, pero no se encontraron estudios referidos a tumores de la mucosa bucal. Los resultados de esta tesis indicarían que la ingesta de AGS láurico y araquídico favorecen el estado inflamatorio de la mucosa en personas con cáncer bucal.

Por otro lado, es importante aclarar que no se han hallado estudios que comparen la ingesta de AG entre personas sanas y con lesión bucal. Según nuestros resultados, las personas sanas de 40-80 años han informado una mayor ingesta de AGMI, AGS y ADH (22:6 n-3) que aquellas de la misma edad que presentan enfermedad liquenoide y cáncer, en quienes no se encontraron mayores diferencias en el consumo de AG. Esto podría indicar que, si bien la ingesta de algunos AG es mayor en personas sanas, su relación con el estado inflamatorio de las mucosas podría deberse no sólo al tipo y cantidad de grasa ingerida, sino también a otros aspectos como la interacción y competencia metabólica entre los grupos de AG, el método de cocción de los alimentos, el polimorfismo genético, la

microbiota intestinal, entre otros factores externos que pueden favorecer el desarrollo de enfermedades de base inflamatoria. En este sentido, Bojková y col. sostienen que, además del contenido de AGS en los alimentos, se deben tener en cuenta otros factores que predisponen la asociación entre el consumo de carne roja y el riesgo de desarrollar cáncer colorrectal, tales como la formación de aminas heterocíclicas cancerígenas e hidrocarburos aromáticos policíclicos durante el proceso de cocción, la generación de productos de oxidación de lípidos y compuestos nitrosos catalizados durante la digestión, y el efecto de los xenobióticos transmitidos por el procesamiento de alimentos en la microbiota intestinal (216).

***La ingesta de alimentos fuente de AG n-3 y n-6 se asocia con una menor y mayor inflamación de la mucosa, respectivamente, en cáncer y enfermedad liquenoide bucal. En este último grupo, la ingesta de alimentos fuente de AGS también se relaciona con una mayor inflamación.***

---

La inflamación crónica se asocia al desarrollo de cáncer y, como se mencionó anteriormente, la ingesta de ciertos alimentos fuente de AG puede favorecer o disminuir la inflamación (104,107-110,180-182). Existe una amplia evidencia sobre la asociación entre cáncer y la ingesta de alimentos fuente de AGPI y AGS, pero es necesario continuar investigando los mecanismos moleculares involucrados, principalmente los vinculados a la inflamación (216,217).

En el presente trabajo se encontró que la ingesta de alimentos fuente de AG n-3 se relaciona con una menor inflamación en la mucosa de pacientes con enfermedad liquenoide y cáncer bucal, en tanto que lo contrario ocurre con los AG n-6 y AGS. La ingesta total de pescados y frutos de mar, y de atún al natural en particular -todos alimentos fuente de AEP y ADH- disminuye la concentración salival de TNF en enfermedad liquenoide bucal. En personas con cáncer, la ingesta de alimentos fuente de ALA, como las nueces, y de EPA y DHA, como el total de pescados y frutos de mar, se asocia a una menor concentración de IL-6 en saliva. Un mayor consumo de carnes rojas y embutidos (alimentos fuente de AG n-6) aumenta la concentración de esas dos citoquinas en personas con ambas patologías, y la de IL-1 $\beta$  en las que presentan enfermedad liquenoide. La

ingesta de lácteos enteros (ricos en AGS) en personas con enfermedad liquenoide aumenta la concentración de IL- $\beta$  e IL-6, y de TNF en cáncer bucal.

En cuanto a otros tipos de cáncer, se reportó una relación inversa entre el consumo de pescado (fuente de AG n-3) y el riesgo de desarrollar cáncer mamario, colorrectal y de endometrio (216). Algunos estudios han informado una menor tasa de incidencia de cáncer de próstata en poblaciones que mantienen una dieta habitual de mariscos (rica en AGPI n-3) y una correlación inversa entre la mortalidad por cáncer de colon y el consumo de pescado y aceite de pescado en algunos países europeos (217). El consumo de carne roja, fuente de AGS, puede aumentar el riesgo de cáncer de pulmón, páncreas y próstata. En cuanto a la ingesta de productos lácteos, su asociación con el riesgo de cáncer no está claramente establecida. Algunos estudios no mostraron relación entre ellos. En otros se halló una asociación positiva entre este grupo de alimentos en general y el riesgo de desarrollar carcinoma hepático, mientras que el consumo de yogur demostró un efecto protector en este tipo de cáncer (216).

El efecto protumorigénico y antitumorigénico de esos alimentos se debe en gran medida a su contenido de AG (216,217). Al respecto, se conoce que los AGPI n-3 poseen un efecto anticancerígeno en próstata, mama, pulmón, ovario, páncreas, piel, colon y estómago (217). Por otro lado, se demostró que una elevada ingesta de AGPI n-6 promueve el cáncer de mama, próstata y colon, y la de AGS un mayor riesgo de desarrollo de cáncer de mama, ovario y cáncer en general (216,217).

Las evidencias bibliográficas y los resultados obtenidos en este estudio sugieren que los alimentos fuente de AGPI n-3 y n-6 y AGS modulan el estado inflamatorio del cáncer bucal.

***Los ácidos grasos ALA, AL y AA presentes en saliva reflejan la ingesta de  
AG n-3 y n-6***

---

Los AG pueden ser detectados en saliva (218) y empleados como marcadores de la ingesta dietaria de esos nutrientes (219,220). Según los resultados de este estudio, el consumo total de AGPI en personas sanas se asocia con una mayor concentración de ALA (18:3 n-3) y AEP (20:5 n-3) en saliva de personas de 20-39 años, y con AL (18:2 n-6) en mayores de 40 años. La ingesta de ALA (18:3 n-3) se relaciona con una mayor

concentración de ese AG en saliva de personas menores de 60 años y la de AEP (20:5 n-3) y ADH (22:6 n-3) con menores niveles de AL en saliva de (18:2 n-6) participantes mayores de 60 años. Por otro lado, la ingesta de AL (18:2 n-6) y AA (20:4 n-6) se asocia con una mayor concentración de sus homónimos en la saliva de personas de los tres grupos etarios. Estos resultados indicarían que la concentración de ALA, AL y AA en saliva reflejan la ingesta de esos nutrientes y, en cierto modo, la competencia metabólica entre esos AG n-3 y n-6, principalmente en personas de mayor edad.

Se han reportado asociaciones entre ciertos AG dietarios y los presentes en saliva, tales como el mirístico (14:0) en personas con dieta mixta y el araquidónico (20:4 n-6) en personas ovo-lacto-vegetarianas (219). Además, se han encontrado asociaciones entre la concentración de ALA (18:3 n-3), AL (18:2 n-6) y AA (20:4 n-6) en saliva y la ingesta de sus alimentos fuente (nueces, aceites vegetales, carnes rojas y vísceras, respectivamente) (220).

En el presente trabajo de tesis no se observaron correlaciones estadísticamente significativas entre la ingesta de AG n-6 y n-3 y sus concentraciones en saliva de pacientes con patología bucal, aunque es importante considerar algunos hallazgos a modo de tendencias ( $p=0,05$ ). Es el caso de una asociación positiva entre la ingesta de ALA (18:3 n-3) y los niveles de ADH (22:6 n-3) en saliva de personas con enfermedad liquenoide bucal, y entre el consumo del total de AG poliinsaturados y la concentración de ADH (22:6 n-3) en saliva de personas con cáncer bucal. Los procesos inflamatorios involucrados en las enfermedades liquenoides y el cáncer son complejos. Tanto los AG dietarios como los presentes en saliva podrían desempeñar diferentes funciones y contribuir a la formación de metabolitos según los requerimientos del hospedador. Todo esto podría estar modificando la asociación entre la ingesta de AG y su concentración en la saliva. No se han hallado otros estudios que analicen la concentración de AG en saliva de personas con estas patologías.

*La concentración de eicosanoides presentes en saliva no varía según sexo y edad pero los niveles de 13-HODE, 5 y 12-HETE son mayores en personas con lesión bucal que en sanas.*

---

Los eicosanoides son derivados de ciertos AG esenciales que han sido reportados como marcadores de la inflamación, pero son escasos los estudios sobre esos metabolitos en saliva (221,222). Es importante conocer su concentración basal en personas sanas a fin de complementar el diagnóstico de patologías bucales. En este trabajo de tesis se analizó, por primera vez según nuestro conocimiento, la concentración de eicosanoides 12-HHT, 13-HODE, 5 y 12-HETE en saliva de personas sanas según sexo y edad, no habiéndose encontrado diferencias entre los grupos.

Metzger y col. analizaron la concentración de eicosanoides derivados de la actividad de la lipoxigenasa en saliva mixta de ocho personas sanas y observaron, principalmente, la presencia de 12-HETE y, en menor proporción, 5-, 8- 9- y 15-HETE (222), a diferencia de lo encontrado en nuestro trabajo: una mayor concentración de 5-HETE, seguido por 12-HETE. Sin embargo, es importante tener en cuenta que en el estudio de Metzger y col. no se ha considerado el sexo de los participantes, la realización del examen del sistema estomatognático ni la valoración del estado periodontal a fin de descartar patología infecciosa/inflamatoria. Además, cuatro de esos participantes fueron fumadores.

En el presente trabajo de tesis se halló una mayor concentración de 13-HODE, 5 y 12-HETE en saliva de personas con lesión bucal que en los participantes sanos de edades similares, pero no se observaron diferencias entre los portadores de enfermedad liquenoide y cáncer bucal. Según estos resultados, el estado inflamatorio de la mucosa en personas con estas patologías se podría medir a través de los mencionados metabolitos lipídicos.

No se encontraron referencias bibliográficas sobre la concentración de eicosanoides en saliva de personas con enfermedad liquenoide bucal. Metzger y col. también hallaron una mayor concentración de eicosanoides en saliva de personas con carcinoma de células escamosas en el tracto aerodigestivo superior (cavidad bucal y faringe) comparado con personas sanas. Los niveles de 9- y 13-HODE y de 12-HETE hallados en ese estudio fueron de 5-10 y 20 ng/mL, respectivamente (222), mientras que en este trabajo de tesis el 5-HETE fue el eicosanoide que mostró mayor concentración, con una media de  $19,96 \pm 11,80$  ng/mL, seguido por 12-HETE, 13-HODE y 12-HHT (16,34; 2,90 y 1,87 ng/mL, respectivamente). Las diferencias entre ambos estudios podrían deberse a los métodos de recolección, procesamiento y análisis de la saliva.

Se debería continuar investigando en un mayor número de participantes e incorporar, además, el análisis de tejido patológico y de otros eicosanoides.

***La producción de eicosanoides presentes en saliva se relaciona con la ingesta de AG n-3 y n-6 en personas jóvenes con mucosa bucal sana.***

---

Si bien se conoce el papel de los AG en la formación de eicosanoides, en este estudio se analizó por primera vez -según nuestro conocimiento- la relación entre la ingesta de AG y la concentración de esos metabolitos en saliva de personas sanas de diferentes edades. En los participantes de 20-39 años se observó que los niveles de 5-HETE aumentan con una mayor ingesta de AL, en tanto que los de 12-HETE disminuyen con un mayor consumo de AL y ALA. Por otra parte, la ingesta de AG no se relacionó con los eicosanoides en estudio en personas mayores de 40 años-

Los eicosanoides son derivados bioactivos de los AG (4). A partir del AA, las enzimas LOX -5, 12 y 15- generan ácidos 5, 12 y 15- HETE (100,101) y las monooxigenasas del citocromo P450 producen AG monohidroxi de tipo LOX (HETE, HEPE, HODE) (97,221). Otro eicosanoide derivado del AA es el ácido 12-HHT (102,103). A partir de AL y por medio de la enzima LOX-15 se produce el ácido 13-HODE. La LOX-15-1 convierte al AL y AA en sus metabolitos, 13-HODE y 15-HETE, respectivamente (100).

Algunos eicosanoides parecen ser importantes en la resolución de la inflamación (4), como la PGE<sub>2</sub> que, formada a partir del AA, inhibe la producción de TNF y está involucrada en la formación de lipoxina A<sub>4</sub> (LXA<sub>4</sub>), y el ácido 18-hidroxieicosapentaenoico (18-HEPE), derivado de AEP y ADH, que está involucrado en la generación de resolvinas, protectinas y maresinas (4,97). ADGL es convertido en prostaglandina E<sub>1</sub> (PGE<sub>1</sub>) y el ácido 15-hidroxieicosatetraenoico (15-HETrE) con propiedades predominantemente antiinflamatorias (224).

Los resultados de este estudio sugieren que la producción de eicosanoides presentes en la saliva de personas jóvenes con mucosa bucal sana, está relacionada con la ingesta de AG n-3 y n-6. Una mayor ingesta de AL se asoció con un aumento en la concentración de 5-HETE en saliva debido a que un incremento de ese AG genera mayor disponibilidad de AA para la producción de ese eicosanoide. Además, a partir de AL se forma AGL y todos esos AG, a su vez, producen numerosos eicosanoides con diferentes acciones, lo cual podría estar generando una menor disponibilidad enzimática para la formación de 12-HETE. Por otro lado, ALA es precursor de AEP y ADH, los cuales forman eicosanoides con acción antiinflamatoria. Ante un aumento en la ingesta de ALA se genera una disminución de la disponibilidad de enzimas para el metabolismo de AL y AA y, por lo

tanto, una disminución de sus derivados metabólicos con función inflamatoria (4). Esto explicaría, en parte, las menores concentraciones de 12-HETE en saliva observadas ante un mayor consumo de ALA.

Por otro lado, se correlacionó la ingesta de AG n-6 y n-3 y las concentraciones de eicosanoides en saliva de personas con lesión bucal. En los pacientes con enfermedad liquenoide se observaron mayores niveles de 12-HHT con una mayor ingesta de AL, lo que implica una mayor disponibilidad de AA para la producción de ese eicosanoide. También se observó una menor concentración de 5-HETE en saliva con un mayor consumo de AGL y AA debido, probablemente, a la disponibilidad de esos AG para la formación de eicosanoides antiinflamatorios como respuesta del hospedador ante la inflamación crónica de estas lesiones. AGL produce ADGL, el cual es convertido en metabolitos con propiedades predominantemente antiinflamatorias como PGE<sub>1</sub> y 15-HETrE (224), y el AA puede formar PGE<sub>2</sub>, la que inhibe la producción de citoquinas como TNF y genera la formación de LXA<sub>4</sub> (4).

En los pacientes con cáncer bucal se observó una menor concentración de 12-HHT y de 13-HODE ante una mayor ingesta de AGL y de AL, respectivamente. Es probable que el hospedador ponga en marcha mecanismos de defensa antiinflamatorios en el microambiente tumoral. Así, una mayor ingesta de AL y AGL favorecería la formación de ADGL sobre la de AA, aumentando la formación de metabolitos antiinflamatorios y disminuyendo la formación de eicosanoides inflamatorios como el 12-HHT y el 13-HODE.

Las concentraciones de los eicosanoides también fueron analizadas en relación con la de AG n-6 y n-3 presentes en saliva de personas sanas y con lesión bucal. Sólo se observaron asociaciones en el grupo de personas con enfermedades liquenoides. Los niveles de 12-HHT y de 5-HETE en saliva se asociaron negativamente con los de ADH, ALA y AA, respectivamente, pero de manera positiva con AL. No se han encontrado reportes sobre la asociación entre AG y eicosanoides en saliva. Tampoco se conoce el origen de los eicosanoides presentes en la saliva, por lo que sería muy importante determinar si se producen en el parénquima de las glándulas salivales, en células de la mucosa bucal, o si provienen de la circulación sistémica. Los resultados de este trabajo en personas sanas sugieren que la producción de eicosanoides posiblemente ocurra en la mucosa bucal ante estímulos y noxas locales, y no en el parénquima glandular, ya que no se observaron asociaciones entre esos metabolitos y los AG presentes en saliva.

# CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este trabajo de tesis doctoral permiten arribar a las siguientes conclusiones:

### **Conclusiones parciales**

- Las concentraciones de citoquinas proinflamatorias IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF en saliva de personas sanas disminuyen con el envejecimiento, lo cual podría deberse a cambios anatómicos e histológicos de la mucosa bucal y las glándulas salivales, pero no varían según sexo.
- Las concentraciones de citoquinas proinflamatorias en saliva, que reflejarían el estado inflamatorio de la mucosa bucal, disminuyen con la ingesta de ácidos grasos n-3 pero aumentan con el consumo de ácidos grasos n-6 y saturados, del mismo modo que con los alimentos fuente de esos ácidos grasos, lo que sugiere una acción antiinflamatoria y proinflamatoria, respectivamente, de esos nutrientes y alimentos en personas sanas.
- Los niveles de IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF en saliva son mayores en personas con enfermedades liquenoides y cáncer bucal que en personas sanas de edades similares.
- La ingesta de ácidos grasos saturados se asocia a un mayor estado inflamatorio de la mucosa bucal en pacientes con cáncer.
- La ingesta de alimentos fuente de ácidos grasos n-3 y n-6 se asocia con una menor y mayor inflamación de la mucosa, respectivamente, en cáncer y enfermedad liquenoide bucal. En este último grupo, la ingesta de alimentos fuente de ácidos grasos saturados también se relaciona con una mayor inflamación.
- Los ácidos grasos alfa-linolénico (18:3 n-3), linoleico (18:2 n-6) y araquidónico (20:4 n-6) en saliva reflejan, en personas sanas, la ingesta de ácidos grasos de las familias n-3 y n-6, así como la competencia metabólica entre los grupos, ya que los ácidos eicosapentaenoico (20:5 n-3) y docosahexaenoico (22:6 n-3) dietarios se asociaron con un menor nivel de ácido linoleico (18:2 n-6) en saliva.

- La concentración de eicosanoides en saliva no varía según sexo y edad en personas sanas, pero los niveles de 13-HODE, 5 y 12-HETE son mayores en pacientes con lesión bucal que en participantes sanos de edades similares.
- Los niveles de eicosanoides en saliva se relacionan con la ingesta de ácidos grasos n-3 y n-6 en personas jóvenes con mucosa bucal sana, así como también en personas con lesión bucal.

### **Conclusión final**

Los resultados de este estudio permiten corroborar la hipótesis planteada en este trabajo *-los ácidos grasos de la dieta y el envejecimiento influyen en la inflamación de la mucosa bucal-* ya que el envejecimiento y la ingesta de ácidos grasos poliinsaturados n-3 están asociados, en personas sanas, a una disminución de la concentración de citoquinas proinflamatorias en saliva, en tanto que lo contrario ocurre con el consumo de ácidos grasos poliinsaturados n-6 y saturados. Además, los ácidos grasos saturados de la dieta están asociados a un aumento de esos marcadores de inflamación presentes en saliva de pacientes con cáncer.

La disminución de las concentraciones de citoquinas proinflamatorias en saliva que se ha encontrado en personas de mayor edad indicaría una menor inflamación de la mucosa bucal, aunque ese hallazgo podría estar relacionado a las modificaciones histológicas y funcionales que se producen en las glándulas salivales, así como también a cambios relacionados con la edad que incluyen la disminución del grosor del epitelio mucoso con aumento del de queratina y una reducción de la microvasculatura, todo lo cual interferiría en la producción y pasaje de citoquinas al medio bucal.

Los cambios observados en las citoquinas proinflamatorias con relación a los ácidos grasos dietarios y al envejecimiento, así como los niveles más altos de esas citoquinas y eicosanoides en la saliva de portadores de enfermedades liquenoides y cáncer bucal que en la de personas sanas, requieren que se continúe investigando a fin de contribuir en el avance de técnicas complementarias de diagnóstico y en las recomendaciones alimentarias tendientes a prevenir el desarrollo de enfermedades inflamatorias y cáncer bucal.

### **Aportes del trabajo y su proyección**

Este trabajo de tesis mostró que el envejecimiento y la ingesta de nutrientes como los ácidos grasos tienen influencia sobre el estado inflamatorio de la mucosa bucal en personas sanas y con lesión bucal, lo que puede contribuir a la prevención de enfermedades inflamatorias y cáncer al avanzar en el desarrollo de recomendaciones alimentarias y técnicas complementarias de diagnóstico.

Además, este estudio aporta información sobre la relación entre los ácidos grasos dietarios y salivales, lo que permitirá continuar con el análisis de marcadores de ingesta dietaria en saliva, de gran utilidad como complemento de las encuestas nutricionales.

Los resultados de este trabajo de tesis dan lugar a interrogantes, al planteamiento de nuevas hipótesis y objetivos. Es recomendable continuar investigando sobre la influencia del envejecimiento y la ingesta de ácidos grasos sobre el estado inflamatorio de la mucosa bucal incorporando un mayor número de participantes al estudio y el análisis de nuevos marcadores inflamatorios, no solo en saliva sino también en tejido patológico. Además, es importante esclarecer el mecanismo de producción y el aporte de citoquinas proinflamatorias -por parte de la mucosa bucal y las glándulas salivales- a la saliva total no estimulada, así como también analizar la síntesis y tipo de producción de eicosanoides y ácidos grasos presentes en este fluido biológico.

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

## Referencias bibliográficas del texto principal

1. Elinav E, Nowarski R, Thaiss CA, Hu B, Jin C, Flavell RA. Inflammation-induced cancer: crosstalk between tumours, immune cells and microorganisms. *Nat Rev Cancer*. 2013; 13: 759-71.
2. Cildir G, Akıncılar SC, Tergaonkar V. Chronic adipose tissue inflammation: all immune cells on the stage. *Trends Mol Med*. 2013; 19:487-500.
3. Munn LL. Cancer and inflammation. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med*. 2017; 9: 10.1002-1370.
4. Innes JK, Calder PC. Omega-6 fatty acids and inflammation. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2018; 132: 41-48.
5. Fujiwara N, Kobayashi K. Macrophages in inflammation. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*. 2005; 4: 281-6.
6. Isobe Y, Kato T, Arita M. Emerging roles of eosinophils and eosinophil-derived lipid mediators in the resolution of inflammation. *Front Immunol*. 2012; 3:270.
7. Janssen WJ, Henson PM. Cellular regulation of the inflammatory response. *Toxicol Pathol*. 2012; 40: 166-73.
8. Nibbs RJ, Graham GJ. Immune regulation by atypical chemokine receptors. *Nat Rev Immunol*. 2013; 13: 815-29.
9. Serhan CN, Levy BD. Resolvins in inflammation: emergence of the pro-resolving superfamily of mediators. *J Clin Invest*. 2018; 128: 2657-2669.
10. Norling LV, Serhan CN. Profiling in resolving inflammatory exudates identifies novel anti-inflammatory and pro-resolving mediators and signals for termination. *J Intern Med*. 2010; 268: 15-24.
11. Oh SF, Vickery TW, Serhan CN. Chiral lipidomics of E-series resolvins: aspirin and the biosynthesis of novel mediators. *Biochim Biophys Acta*. 2011; 1811: 737-47.
12. Arita M. Mediator lipidomics in acute inflammation and resolution. *J Biochem*. 2012; 152: 313-9.
13. Alessandri AL, Sousa LP, Lucas CD, Rossi AG, Pinho V, Teixeira MM. Resolution of inflammation: mechanisms and opportunity for drug development. *Pharmacol Ther*. 2013; 139: 189-212.
14. Endo H. Resolving factors of inflammation - a bridge between innate immunity and adaptive immunity. *Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi*. 2013; 36: 156-61.
15. Lee HN, Na HK, Surh YJ. Resolution of inflammation as a novel chemopreventive strategy. *Semin Immunopathol*. 2013; 35: 151-61.
16. Sousa LP, Alessandri AL, Pinho V, Teixeira MM. Pharmacological strategies to resolve acute inflammation. *Curr Opin Pharmacol*. 2013; 13: 625-31.
17. Pahwa R, Goyal A, Bansal P, Jialal I. Chronic Inflammation. *Stat Pearls Publishing*. 2021; 29630225.
18. Hannoodee S, Nasuruddin DN. Acute inflammatory response. *Stat Pearls Publishing*. 2020; 32310543.
19. Galdiero MR, Marone G, Mantovani A. Cancer inflammation and cytokines. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2018; 10: 028662.

20. Qian S, Golubnitschaja O, Zhan X. Chronic inflammation: key player and biomarker-set to predict and prevent cancer development and progression based on individualized patient profiles. *EPMA J.* 2019; 10: 365-381.
21. Chakraborty C, Sharma AR, Sharma G, Lee SS. The interplay among miRNAs, major cytokines, and cancer-related inflammation. *Mol Ther Nucleic Acids.* 2020; 20: 606-620.
22. Mignogna MD, Fedele S, Lo Russo L, Lo Muzio L, Bucci E. Immune activation and chronic inflammation as the cause of malignancy in oral lichen planus: is there any evidence? *Oral Oncol.* 2004; 40: 120-30.
23. Lin WW, Karin M. A cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation, and cancer. *J Clin Invest.* 2007; 117: 1175-83.
24. Mantovani A. Molecular pathways linking inflammation and cancer. *Curr Mol Med.* 2010; 10: 369-73.
25. Landskron G, De la Fuente M, Thuwajit P, Thuwajit C, Hermoso MA. Chronic inflammation and cytokines in the tumor microenvironment. *J Immunol Res.* 2014; 2014: 149185.
26. Piazuolo MB, Riechelmann RP, Wilson KT, Algood HMS. Resolution of gastric cancer-promoting inflammation: a novel strategy for anti-cancer therapy. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2019; 421: 319-359.
27. Babiuch K, Kuśnierz-Cabala B, Kęsek B, Okoń K, Darczuk D, Chomyszyn-Gajewska M. Evaluation of proinflammatory, NF-kappaB dependent cytokines: IL-1 $\alpha$ , IL-6, IL-8, and TNF- $\alpha$  in tissue specimens and saliva of patients with oral squamous cell carcinoma and oral potentially malignant disorders. *J Clin Med.* 2020; 9: 867.
28. Zhang Q, Zhu B, Li Y. Resolution of cancer-promoting inflammation: a new approach for anticancer therapy. *Front Immunol.* 2017; 8: 71.
29. Colotta F, Allavena P, Sica A, Garlanda C, Mantovani A. Cancer-related inflammation, the seventh hallmark of cancer: links to genetic instability. *Carcinogenesis* 2009; 30: 1073-81.
30. Sugerman PB, Savage NW, Walsh LJ, Zhao ZZ, Zhou XJ, Khan A, Seymour GJ, Bigby M. The pathogenesis of oral lichen planus. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2002; 13: 350-65.
31. Feller L, Altini M, Khammissa RA, Chandran R, Bouckaert M, Lemmer J. Oral mucosal immunity. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2013; 116: 576-83.
32. Brogden KA, Johnson GK, Vincent SD, Abbasi T, Vali S. Oral inflammation, a role for antimicrobial peptide modulation of cytokine and chemokine responses. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2013; 11: 1097-113.
33. Ali FM, Patil A, Patil K, Prasant MC. Oral submucous fibrosis and its dermatological relation. *Indian Dermatol Online J.* 2014; 5: 260-5.
34. Groeger S and Meyle J. Oral mucosal epithelial cells. *Front Immunol.* 2019; 10: 208.
35. Papagerakis S, Pannone G, Zheng L, About I, Taqi N, Nguyen NP, Matossian M, McAlpin B, Santoro A, McHugh J, Prince ME, Papagerakis P. Oral epithelial stem cells - implications in normal development and cancer metastasis. *Exp Cell Res* 2014; 325: 111-29.

36. Wertz PW, de Szalay S. Innate antimicrobial defense of skin and oral mucosa. *Antibiotics* 2020; 9: 159.
37. Kwa MQ, Scholz GM, Reynolds EC: RIPK4 activates an IRF6-mediated pRiisroinflammatory cytokine response in keratinocytes. *Cytokine* 2016; 22; 83: 19-26.
38. Danielsson K, Ebrahimi M, Nylander E, Wahlin YB, Nylander K: Alterations in factors involved in differentiation and barrier function in the epithelium in oral and genital lichen planus. *Acta Derm Venereol* 2017; 97: 214-218.
39. Wilharm A, Tabib Y, Nassar M, Reinhardt A, Mizraji G, Sandrock I, Heyman O, Barros-Martins J, Aizenbud Y, Khalaileh A, Eli-Berchoer L, Elinav E, Wilensky A, Förster R, Bercovier H, Prinz I, Hovav AH. Mutual interplay between IL-17-producing  $\gamma\delta$ T cells and microbiota orchestrates oral mucosal homeostasis. *Proc Natl Acad Sci.* 2019; 116: 2652-2661.
40. Dutzan N, Konkell JE, Greenwell-Wild T, Moutsopoulos NM. Characterization of the human immune cell network at the gingival barrier. *Mucosal Immunol.* 2016; 9: 1163-1172.
41. Kaufman E, Lamster IB. The diagnostic applications of saliva a review. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2002; 13: 197-212.
42. Choo RE, Huestis MA. Oral fluid as a diagnostic tool. *Clin Chem Lab Med.* 2004; 42: 1273-87.
43. Zhang L, Xiao H, Wong DT. Salivary biomarkers for clinical applications. *Mol Diagn Ther.* 2009; 13: 245-59.
44. Liu J, Duan Y. Saliva: a potential media for disease diagnostics and monitoring. *Oral Oncol.* 2012; 48: 569-77.
45. Nagler RM. Saliva as a tool for oral cancer diagnosis and prognosis. *Oral Oncol.* 2009; 45: 1006-10.
46. Schafer CA, Schafer JJ, Yakob M, Lima P, Camargo P, Wong DT. Saliva diagnostics: utilizing oral fluids to determine health status. *Monogr Oral Sci.* 2014; 24: 88-98.
47. Lee LT, Wong YK, Hsiao HY, Wang YW, Chan MY, Chang KW. Evaluation of saliva and plasma cytokine biomarkers in patients with oral squamous cell carcinoma. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2018; 47: 699-707.
48. Khurshid Z, Zafar MS, Khan RS, Najeeb S, Slowey PD, Rehman IU. Role of salivary biomarkers in oral cancer detection. *Adv Clin Chem.* 2018; 86: 23-70.
49. Deepthi, G, Nandan SRK, Kulkarni PG. Salivary tumour necrosis factor- $\alpha$  as a biomarker in oral leukoplakia and oral squamous cell carcinoma. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2019; 20: 2087-2093.
50. Katakura A, Kamiyama I, Takano N, Shibahara T, Muramatsu T, Ishihara K, Takagi R, Shouno T. Comparison of salivary cytokine levels in oral cancer patients and healthy subjects. *Bull Tokyo Dent Coll.* 2007; 48: 199-203.
51. Bigler LR, Streckfus CF, Dubinsky WP. Salivary biomarkers for the detection of malignant tumors that are remote from the oral cavity. *Clin Lab Med.* 2009; 29: 71-85.
52. Hema Shree K, Ramani P, Sherlin H, Sukumaran G, Jeyaraj G, Don KR, Santhanam A, Ramasubramanian A, Sundar R. Saliva as a diagnostic tool in oral squamous cell carcinoma - a systematic review with meta-analysis. *Pathol Oncol Res.* 2019; 25: 447-453.

53. Warnakulasuriya S, Kujan O, Aguirre-Urizar JM, Bagan JV, González-Moles MÁ, Kerr AR, Lodi G, Mello FW, Monteiro L, Ogden GR, Sloan P, Johnson NW. Oral potentially malignant disorders: A consensus report from an international seminar on nomenclature and classification, convened by the WHO collaborating centre for oral cancer. *Oral Dis.* 2020.
54. Lee CH, Chang JS, Syu SH, Wong TS, Chan JY, Tang YC, Yang ZP, Yang WC, Chen CT, Lu SC, Tang PH, Yang TC, Chu PY, Hsiao JR, Liu KJ. IL-1 $\beta$  promotes malignant transformation and tumor aggressiveness in oral cancer. *J Cell Physiol.* 2015; 230: 875-84.
55. Warnakulasuriya S, Johnson NW, Van Der Waal I. Nomenclature and classification of potentially malignant disorders of the oral mucosa. *J Oral Pathol Med* 2007; 36: 575-80.
56. Warnakulasuriya S. Clinical features and presentation of oral potentially malignant disorders. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2018; 125: 582-590.
57. Shearston K, Fateh B, Tai S, Hove D, Farah CS. Oral lichenoid dysplasia and not oral lichen planus undergoes malignant transformation at high rates. *J Oral Pathol Med.* 2019; 48: 538-545.
58. Iocca O, Sollecito TP, Alawi F, Weinstein GS, Newman JG, De Virgilio SA, Di Maio P, Spriano G, Pardiñas López S, Shanti RM. Potentially malignant disorders of the oral cavity and oral dysplasia: A systematic review and meta-analysis of malignant transformation rate by subtype. *Head Neck* 2020; 42: 539-555.
59. Aguirre-Urizar JM, Alberdi-Navarro J, Lafuente-Ibáñez de Mendoza I, Marichalar-Mendia X, Martínez-Revilla B, Parra-Pérez C, Juan-Galíndez AD, Echebarria-Goicouria MÁ. Clinicopathological and prognostic characterization of oral lichenoid disease and its main subtypes: A series of 384 cases. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2020; 25: 554-562.
60. Cortés-Ramírez DA, Gainza-Cirauqui ML, Echebarria-Goikouria MA, Aguirre-Urizar JM. Oral lichenoid disease as a premalignant condition: the controversies and the unknown. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2009; 14: 118-22.
61. Cheng YS, Gould A, Kurago Z, Fantasia J, Muller S. Diagnosis of oral lichen planus: a position paper of the American Academy of Oral and Maxillofacial Pathology. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2016; 122: 332-54.
62. Liu Y, Messadi DV, Wu H, Hu S. Oral lichen planus is a unique disease model for studying chronic inflammation and oral cancer. *Med Hypotheses.* 2010; 75: 492-4.
63. Otero-Rey EM, Suarez-Alen F, Peñamaria-Mallon M, Lopez-Lopez J, Blanco-Carrion. A: Malignant transformation of oral lichen planus by a chronic inflammatory process. Use of topical corticosteroids to prevent this progression? *Acta Odontol Scand.* 2014; 72: 570-7.
64. Carrozzo M, Porter S, Mercadante V, Fedele S. Oral lichen planus: a disease or a spectrum of tissue reactions? Types, causes, diagnostic algorithms, prognosis, management strategies. *Periodontol 2000.* 2019; 80: 105-125.
65. Ramalingam S, Malathi N, Thamizhchelvan H, Sangeetha N, Rajan ST. Role of mast cells in oral lichen planus and oral lichenoid reactions. *Autoimmune Dis.* 2018; 2018: 7936564.

66. Vadivel JK, Govindarajan M, Somasundaram E, Muthukrishnan A. Mast cell expression in oral lichen planus: A systematic review. *J Investig Clin Dent*. 2019; 10: 12457-27.
67. Payeras MR, Cherubini K, Figueiredo MA, Salum FG. Oral lichen planus: focus on etiopathogenesis. *Arch Oral Biol*. 2013; 58: 1057-69.
68. Rodrigues LN, Sousa SF, Silva R, Abreu M, Pires FR, Mesquita RA, Bastos-Rodrigues L, De Marco L, Gomes CC, Gomez RS, Bernardes VF. Allelic loss in amalgam-associated oral lichenoid lesions compared to oral lichen planus and mucosa. *Oral Dis*. 2017; 23: 471-476.
69. Luengtrakoon K, Wannakasemsuk W, Vichitrananda V, Klanrit P, Hormdee D, Noisombut R, Chaiyarit P. Increased melatonin in oral mucosal tissue of oral lichen planus (OLP) patients: A possible link between melatonin and its role in oral mucosal inflammation. *Arch Oral Biol* 2017; 78: 13-19.
70. Ruokonen HMA, Juurikivi A, Kauppila T, Heikkinen AM, Seppänen-Kaijansinkko. High percentage of oral lichen planus and lichenoid lesion in oral squamous cell carcinomas. *Acta Odontol Scand*. 2017; 75: 442-445.
71. Müller S. Oral lichenoid lesions: distinguishing the benign from the deadly. *Mod Pathol*. 2017; 30: 54-67.
72. Gonzalez-Moles MA, Bravo M, Gonzalez-Ruiz L, Ramos P, Gil-Montoya JA. Outcomes of oral lichen planus and oral lichenoid lesions treated with topical corticosteroid. *Oral Dis*. 2018; 24: 573-579.
73. Van der Waal I. Oral lichen planus and oral lichenoid lesions; a critical appraisal with emphasis on the diagnostic aspects. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2009; 14: 310-4.
74. Van der Meij EH, Van der Waal I. Lack of clinicopathologic correlation in the diagnosis of oral lichen planus based on the presently available diagnostic criteria and suggestions for modifications. *J Oral Pathol Med*. 2003; 32: 507-12.
75. Patil S, Rao RS, Sanketh DS, Sarode SC, Sarode GS. A universal diagnostic criteria for oral lichen planus: An exigency. *Int J Contemp Dent Med Rev*. 2014; 2014: 041214, 2014.
76. Nagao T, Warnakulasuriya S. Screening for oral cancer: future prospects, research and policy development for Asia. *Oral Oncol*. 2020; 105: 104632.
77. Kato MG, Baek CH, Chaturvedi P, Gallagher R, Kowalski LP, Leemans CR, Warnakulasuriya S, Nguyen SA, Day TA. Update on oral and oropharyngeal cancer staging - International perspectives. *World J Otorhinolaryngol Head Neck Surg*. 2020; 6: 66-75.
78. Warnakulasuriya S: Global epidemiology of oral and oropharyngeal cancer. *Oral Oncol*. 2009; 45: 309-16.
79. Elashoff D, Zhou H, Reiss J, Wang J, Xiao H, Henson B, Hu S, Arellano M, Sinha U, Le A, Messadi D, Wang M, Nabili V, Lingen M, Morris D, Randolph T, Feng Z, Akin D, Kastratovic DA, Chia D, Abemayor E, Wong DT. Prevalidation of salivary biomarkers for oral cancer detection. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2012; 21: 664-72.

80. Gaje PN, Amalia Ceausu R, Jitariu A, Stratul SI, Rusu LC, Popovici RA, Raica M. Mast cells: key players in the shadow in oral inflammation and in squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Biomed Res Int.* 2016; 2016: 9235080.
81. Feller L, Khammissa RA, Lemmer J. Biomechanical cell regulatory networks as complex adaptive systems in relation to cancer. *Cancer Cell Int.* 2017; 17: 16.
82. Warnakulasuriya S, Greenspan J.S: Cancers of the mouth and oropharynx. In: *Textbook of oral cancer. Textbooks in contemporary dentistry.* Ed. Springer, Cham. 2020.
83. González-Moles MÁ, Warnakulasuriya S, González-Ruiz I, González-Ruiz L, Ayén Á, Lenouvel D, Ruiz-Ávila I, Ramos-García P. Clinicopathological and prognostic characteristics of oral squamous cell carcinomas arising in patients with oral lichen planus: a systematic review and a comprehensive meta-analysis. *Oral Oncol.* 2020; 106: 104688.
84. Kaur J, Jacobs R. Proinflammatory cytokine levels in oral lichen planus, oral leukoplakia, and oral submucous fibrosis. *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg.* 2015; 41: 171-5.
85. Feller L, Altini M, Lemmer J. Inflammation in the context of oral cancer. *Oral Oncol.* 2013; 49: 887-92.
86. Christopher AF, Gupta M, Bansal P. Micronome revealed miR-19a/b as key regulator of SOCS3 during cancer related inflammation of oral squamous cell carcinoma. *Gene* 2016; 594: 30-40.
87. Zamarron BF, Chen W. Dual roles of immune cells and their factors in cancer development and progression. *Int J Biol Sci.* 2011; 7: 651-8.
88. Wu Y, Antony S, Meitzler JL, Doroshow JH. Molecular mechanisms underlying chronic inflammation-associated cancers. *Cancer Lett.* 2014; 345: 164-73.
89. Blanco A, Blanco G: Lípidos. Membranas; Metabolismo de lípidos. En: *Química Biológica.* 10a ed. Editorial El Ateneo, Buenos Aires, Argentina, 2015; pág. 95-113; 197-226; 291-326.
90. Kathleen Mahán L, Escott-Stump S. *Nutrición Dietoterapia de Krause.* 12<sup>a</sup> ed. España: Elsevier Masson; 2009, pp. 51-55.
91. Radzikowska U, Rinaldi AO, Sözener ZC, Karaguzel D, Wojcik M, Cypryk K, Akdis M, Akdis CA, Sokolowska M. *Nutrients* 2019; 11: 2990.
92. Tavella M, Perego L, Peterson G, Espeche M, Marteau S. Ácidos grasos *trans*: conceptos e implicancias clínicas. [revista en internet] 2003 sep. [citado 9 de mayo de 2021]; 3. Disponible en: <http://www.nutrinfo.com/pagina/info/trans.pdf>.
93. Rodriguez Cruz M, Tovar AR, del Prado M, Torres N. 2005. Molecular mechanisms of action and health benefits of polyunsaturated fatty acids. *Rev Invest Clin.* 2005; 57: 457-72.
94. Calder PC, Bosco N, Bourdet-Sicard R, Capuron L, Delzenne N, Doré J, Franceschi C, Lehtinen MJ, Recker T, Salvioli S, Visioli F. Health relevance of the modification of low grade inflammation in ageing (inflammageing) and the role of nutrition. *Ageing Res Rev.* 2017; 40: 95-119.
95. Calder PC. Intravenous lipid emulsions to deliver bioactive omega-3 fatty acids for improved patient outcomes. *Mar Drugs.* 2019; 17: 274.

96. Christie WW, Harwood JL. Oxidation of polyunsaturated fatty acids to produce lipid mediators. *Essays Biochem.* 2020; 64: 401-421.
97. Nicolaou A, Mauro C, Urquhart P, Marelli-Berg F. Polyunsaturated fatty acid-derived lipid mediators and T cell function. *Front Immunol.* 2014; 5:75.
98. Kelley DS. Modulation of human immune and inflammatory responses by dietary fatty acids. *Nutrition.* 2001; 17: 669-73.
99. Weaver KL, Ivester P, Seeds M, Case LD, Arm JP, Chilton FH. Effect of dietary fatty acids on inflammatory gene expression in healthy humans. *J Biol Chem.* 2009; 284: 15400-7.
100. Cabral M, Martín-Venegas R, Moreno JJ. Differential cell growth/apoptosis behavior of 13-hydroxyoctadecadienoic acid enantiomers in a colorectal cancer cell line. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2014; 307: 664-71.
101. Yarla NS, Bishayee A, Sethi G, Reddanna P, Kalle AM, Dhananjaya BL, Dowluru KS, Chintala R, Duddukuri GR. Targeting arachidonic acid pathway by natural products for cancer prevention and therapy. *Semin Cancer Biol.* 2016; 40-41: 48-81.
102. Lee JW, Ryu HC, Ng YC, Kim C, Wei JD, Sabaratnam V, Kim JH. 12(S)-Hydroxyheptadeca-5Z, 8E, 10E-trienoic acid suppresses UV-induced IL-6 synthesis in keratinocytes, exerting an anti-inflammatory activity. *Exp Mol Med.* 2012; 44: 378-86.
103. Okuno T, Yokomizo T. Biological functions of 12 (*S*)-hydroxyheptadecatrienoic acid as a ligand of leukotriene B<sub>4</sub> receptor 2. *Inflamm Regen.* 2018; 38: 29.
104. Wu X, Schauss AG. Mitigation of inflammation with foods. *J Agric Food Chem.* 2012; 60: 6703-17.
105. Ghanim H, Sia CL, Upadhyay M, Korzeniewski K, Viswanathan P, Abuaysheh S, Mohanty P, Dandona P. Orange juice neutralizes the proinflammatory effect of a high-fat, high-carbohydrate meal and prevents endotoxin increase and Toll-like receptor expression. *Am J Clin Nutr.* 2011; 93: 674.
106. Andersson KE, Hellstrand P. Dietary oats and modulation of atherogenic pathways. *Mol Nutr Food Res* 2012; 56: 1003-13.
107. Liu RH. Health-promoting components of fruits and vegetables in the diet. *Adv Nutr.* 2013; 4: 384-92.
108. Thompson PA. Navigating the maize between red meat and oncomirs. *Cancer Prev Res.* 2014; 7: 777-80.
109. Casas R, Sacanella E, Estruch R. The immune protective effect of the mediterranean diet against chronic low-grade inflammatory diseases. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets.* 2014; 14: 245-54.
110. Yin K, Agrawal DK. Vitamin D and inflammatory diseases. *J Inflamm Res.* 2014; 7: 69-87.
111. Myles IA, Pincus NB, Fontecilla NM, Datta SK. Effects of parental omega-3 fatty acid intake on off spring microbiome and immunity. *PLoS One.* 2014; 9.
112. Calder PC. Long chain fatty acids and gene expression in inflammation and immunity. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2013; 16: 425-33.
113. Gianotti L, Braga M, Fortis C, Soldini L, Vignali A, Colombo S, Radaelli G, Di Carlo V. A prospective, randomized clinical trial on perioperative feeding with an

- arginine, omega-3 fatty acid, and RNA enriched enteral diet: effect on host response and nutritional status. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 1999; 23: 314-20.
114. Simopoulos AP. Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. *J Am Coll Nutr.* 2002; 21: 495-505.
  115. Boutros C, Somasundar P, Razzak A, Helton S, Espat NJ. Omega-3 fatty acids: investigations from cytokine regulation to pancreatic cancer gene suppression. *Arch Surg.* 2010; 145: 515-20.
  116. Derosa G, Cicero AF, Fogari E, D'Angelo A, Bonaventura A, Romano D, Maffioli P. Effects of n-3 PUFAs on postprandial variation of metalloproteinases, and inflammatory and insulin resistance parameters in dyslipidemic patients: evaluation with euglycemic clamp and oral fat load. *J Clin Lipidol.* 2012; 6: 553-64.
  117. Calviello G, Su HM, Weylandt KH, Fasano E, Serini S, Cittadini A. Experimental evidence of  $\omega$ -3 polyunsaturated fatty acid modulation of inflammatory cytokines and bioactive lipid mediators: their potential role in inflammatory, neurodegenerative, and neoplastic diseases. *Biomed Res Int.* 2013; 2013: 743171.
  118. Yan Y, Jiang W, Spinetti T, Tardivel A, Castillo R, Bourquin C, Guarda G, Tian Z, Tschopp J, Zhou R. Omega-3 fatty acids prevent inflammation and metabolic disorder through inhibition of NLRP3 inflammasome activation. *Immunity.* 2013; 38: 1154-63.
  119. Hofmanová J, Straková N, Vaculová AH, Tylichová Z, Safářiková B, Skender B, Kozubík A. Interaction of dietary fatty acids with tumour necrosis factor family cytokines during colon inflammation and cancer. *Mediators Inflamm.* 2014; 2014: 848632.
  120. Volpe CM, Nogueira-Machado JA. The dual role of free fatty acid signaling in inflammation and therapeutics. *Recent Pat Endocr Metab Immune Drug Discov.* 2013; 7: 189-97.
  121. Maskrey BH, Megson IL, Rossi AG, Whitfield PD. Emerging importance of omega-3 fatty acids in the innate immune response: molecular mechanisms and lipidomic strategies for their analysis. *Mol Nutr Food Res.* 2013; 57: 1390-400.
  122. Calder PC, Grimble RF. Polyunsaturated fatty acids, inflammation and immunity. *Eur J Clin Nutr.* 2002; 3: 14-9.
  123. Wuryanti S, Andrijono S, and Witjaksono F. The effect of high poly unsaturated fatty acid (PUFA) dietary supplementation on inflammatory status of patients with advanced cervical cancer on radiation treatment. *Acta Med Indones* 2015; 47: 45-49.
  124. Khankari NK, Bradshaw PT, Steck SE, He K, Olshan AF, Shen J, Ahn J, Chen Y, Ahsan H, Terry MB, Teitelbaum SL, Neugut AI, Santella RM, Gammon MD. Polyunsaturated fatty acid interactions and breast cancer incidence: a population-based case control study on Long Island, New York. *Ann Epidemiol.* 2015; 25: 929-935.
  125. Duffy CM, Yuan C, Wisdorf LE, Billington CJ, Kotz CM, Nixon JP, Butterick TA. Role of orexin a signaling in dietary palmitic acid-activated microglial cells. *Neurosci Lett.* 2015; 606: 140-4.
  126. Pillon NJ, Azizi PM, Li YE, Liu J, Wang C, Chan KL, Hopperton KE, Bazinet RP, Heit B, Bilan PJ, Lee WL, Klip A. Palmitate-induced inflammatory pathways in human adipose microvascular endothelial cells promote monocyte adhesion and impair insulin transcytosis. *M J Physiol Endocrinol Metab.* 2015; 309: 35-44.

127. Wu D. Modulation of immune and inflammatory responses by dietary lipids. *Curr Opin Lipidol.* 2004; 15: 43-7.
128. Muskiet FAJ. Pathophysiology and evolutionary aspects of dietary fats and long-chain polyunsaturated fatty acids across the life cycle. In: *Source fat detection: taste, texture, and post ingestive effects.* Ed. Taylor & Francis; 2010. Chapter 2. *Frontiers in Neuroscience.*
129. Alignani D, Maletto B, Liscovsky M, Rópolo A, Morón G, Pistoresi-Palencia MC. Orally administered OVA/CpG-ODN induces specific mucosal and systemic immune response in young and aged mice. *Journal of Leukocyte Biology* 2005; 77: 898-905.
130. Maletto BA, Morón G, Pistoresi-Palencia MC. Innate Immune System Modulation During Aging: contributions of macrophages and dendritic cells. *Current Immunology Reviews* 2010; 6: 329-338.
131. Liscovsky MV, Ranocchia RP, Alignani DO, Gorlino CV, Morón G, Maletto BA, Pistoresi-Palencia MC. CpG-ODN+IFN- $\gamma$  confer pro- and anti-inflammatory properties to peritoneal macrophages in aged mice. *Exp Gerontol.* 2011; 46: 462-7.
132. Cruz-Almeida Y, Aguirre M, Sorenson HL, Tighe P, Wallet SM, Riley JL. Age differences in cytokine expression under conditions of health using experimental pain models. *Exp Gerontol.* 2015; 72: 150-6.
133. Feldman N, Rotter-Maskowitz A, Okun E. DAMPs as mediators of sterile inflammation in aging-related pathologies. *Ageing Res Rev.* 2015; 24: 29-39.
134. Sendama W. The effect of ageing on the resolution of inflammation. *Ageing Res Rev.* 2020; 57: 101000.
135. Rea IM, Gibson DS, McGilligan V, McNerlan SE, Alexander HD, Ross OA. Age and age-related diseases: role of inflammation triggers and cytokines. *Front Immunol.* 2018; 9: 586.
136. Bäck M, Hlawaty H, Labat C, Michel JB, Brink C. The oral cavity and age: a site of chronic inflammation? *PLoS One.* 2007; 2: 1351.
137. Luz C, Dornelles F, Preissler T, Collaziol D, da Cruz IM, Bauer ME. Impact of psychological and endocrine factors on cytokine production of healthy elderly people. *Mech Ageing Dev.* 2003; 124: 887-95.
138. Shaw AC, Goldstein DR, Montgomery RR. Age-dependent dysregulation of innate immunity. *Nat Rev Immunol.* 2013; 13: 875-87.
139. Bigley AB, Spielmann G, LaVoy EC, Simpson RJ. Can exercise-related improvements in immunity influence cancer prevention and prognosis in the elderly? *Maturitas* 2013; 76: 51-6.
140. Ebersole JL, Kirakodu S, Novak MJ, Exposto CR, Stromberg AJ, Shen S, Orraca L, Gonzalez-Martinez J, Gonzalez OA. Effects of aging in the expression of NOD-like receptors and inflammasome-related genes in oral mucosa. *Mol Oral Microbiol.* 2016; 31: 18-32.
141. Caton JG, Armitage G, Berglundh T, Chapple ILC, Jepsen S, Kornman KS, Mealey BL, Papananou PN, Sanz M, Tonetti MS. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions. Introduction and key changes from the 1999 classification. *J Clin Periodontol.* 2018; 45: 1-8.

142. Chapple ILC, Mealey BL, Van Dyke TE, Bartold PM, Dommisch H, Eickholz P, Geisinger ML, Genco RJ, Glogauer M, Goldstein M, Griffin TJ, Holmstrup P, Johnson GK, Kapila Y, Lang NP, Meyle J, Murakami S, Plemons J, Romito GA, Shapira L, Tatakis DN, Teughels W, Trombelli L, Walter C, Wimmer G, Xenoudi P, Yoshie H. Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the classification of periodontal and peri-implant diseases and conditions. *J Periodontol*. 2018; 89: 74-84.
143. De Girolami, D & González Infantino, C. *Clínica y terapéutica en la nutrición del adulto*. 1ª ed. Ed. El Ateneo. Buenos Aires, Argentina. 2008.
144. Bray GA, Gray DS. Obesity. Part I-Pathogenesis. *West J Med*. 1988; 149: 429-41.
145. World Cancer Research Fund. American Institute for Cancer Research. Diet, nutrition, physical activity and cancer: a global perspective. Continuous update project expert report. 2018.
146. Amin M.B, Edge S, Greene F, Byrd D.R, Brookland R.K, Washington M.K, Gershenwald J.E, Compton C.C, Hess K.R, Sullivan D.C, Jessup J.M, Brierley J.D, Gaspar L.E, Schilsky R.L, Balch C.M, Winchester D.P, Asare E.A, Madera M, Gress D.M, Meyer L.R. *AJCC Cancer staging manual*. 8th ed. Ed. Springer. New York. 2017.
147. Perovic NR, Defagó MD, Aguinaldo A, Joeques S, Actis AB. Validación y reproducibilidad de un cuestionario de frecuencia de consumo alimentario para valorar la ingesta de nutrientes y fitoquímicos en relación a algunos tumores hormono-dependientes en Argentina. *Public Health Nutr* 2006; 9: 114.
148. Vásquez MB, Witriw AM. *Modelos visuales de alimentos y tablas de relación peso/volumen*. 1ª ed. Buenos Aires, Argentina. 1997. p. 1-42.
149. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 1976; 72: 248-54.
150. Defagó MD, Perovic NR, Aguinaldo CA, Actis AB. Desarrollo de un programa informático para estudios nutricionales. *Rev Panam Salud Pública*. 2009; 25: 362-6.
151. Folch J, Lees M, Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem*. 1957; 226: 497-508.
152. Cantellops D, Reid AP, Eitenmiller RR, Long AR. Determination of lipids in infant formula powder by direct extraction methylation of lipids and fatty acid methyl esters (FAME) analysis by gas chromatography. *J AOAC*. 1999; 82: 1128-39.
153. Garcia CP, Lamarque AL, Comba A, Berra MA, Silva RA, Labuckas DO, Das UN, Eynard AR, Pasqualini ME. Synergistic anti-tumor effects of melatonin and PUFAs from walnuts in a murine mammary adenocarcinoma model. *Nutrition* 2015; 31: 570-7.
154. Weiss GA, Troxler H, Klinke G, Rogler D, Braegger C, Hersberger M. High levels of anti-inflammatory and proresolving lipid mediators lipoxins and resolvins and declining docosahexaenoic acid levels in human milk during the first month of lactation. *Lipids Health Dis*. 2013; 12: 89.
155. Conover WJ. *Practical nonparametric statistics*. 3ª ed. United States of America. 1999.

156. Infostat v. p.1 2005. Grupo InfoStat, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
157. Riis JL, Out D, Dorn LD, Beal SJ, Denson LA, Pabst S, Jaedicke K, Granger DA. Salivary cytokines in healthy adolescent girls: intercorrelations, stability, and associations with serum cytokines, age, and pubertal stage. *Dev Psychobiol.* 2014; 56: 797-811.
158. Thomas MV, Branscum A, Miller CS, Ebersole J, Al-Sabbagh M, Schuster JL. Within-subject variability in repeated measures of salivary analytes in healthy adults. *J Periodontol.* 2009; 80: 1146-53.
159. Rathnayake N, Akerman S, Klinge B, Lundegren N, Jansson H, Tryselius Y, Sorsa T, Gustafsson A. Salivary biomarkers of oral health: a cross-sectional study. *J Clin Periodontol.* 2013; 40: 140-7.
160. Ghazali NB, Steele M, Koh D, Idris A. The diurnal pattern of salivary IL-1 $\beta$  in healthy young adults. *Int J Adolesc Med Health.* 2017; 31.
161. Nam Y, Kim YY, Chang JY, Kho HS. Salivary biomarkers of inflammation and oxidative stress in healthy adults. *Arch Oral Biol.* 2019; 97: 215-222.
162. Tóthová L, Kamodyová N, Červenka T, Celec P. Salivary markers of oxidative stress in oral diseases. *Front Cell Infect Microbiol.* 2015; 5: 73.
163. Hassona Y, Scully C. Salivary changes in oral mucosal diseases. *Periodontol* 2000. 2016; 70: 111-27.
164. Lim PW, Garssen J, Sandalova E. Potential use of salivary markers for longitudinal monitoring of inflammatory immune responses to vaccination. *Mediators Inflamm.* 2016; 2016: 6958293.
165. Nunes LA, Mussavira S, Bindhu OS. Clinical and diagnostic utility of saliva as a non-invasive diagnostic fluid: a systematic review. *Biochem Med.* 2015; 25: 177-92.
166. Castagnola M, Picciotti PM, Messana I, Fanali C, Fiorita A, Cabras T, Calò L, Pisano E, Passali GC, Iavarone F, Paludetti G, Scarano E. Potential applications of human saliva as diagnostic fluid. *Acta Otorhinolaryngol Ital.* 2011; 31: 347-57.
167. Lamster IB, Asadourian L, Del Carmen T, Friedman PK. The aging mouth: differentiating normal aging from disease. *Periodontol* 2000. 2016; 72: 96-107.
168. Xu F, Laguna L, Sarkar A. Aging-related changes in quantity and quality of saliva: Where do we stand in our understanding? *J Texture Stud.* 2019; 50: 27-35.
169. Childs CE, Calder PC, Miles EA. Diet and immune function. *Nutrients* 2019; 11: 1933.
170. Wu X, Schauss AG. Mitigation of inflammation with foods. *J Agric Food Chem.* 2012; 60: 6703-17.
171. Zárate R, El Jaber-Vazdekis N, Tejera N, Pérez JA, Rodríguez C. Significance of long chain polyunsaturated fatty acids in human health. *Clin Transl Med.* 2017; 6: 25.
172. Rogero MM, Calder PC. Obesity, inflammation, toll-like receptor 4 and fatty acids. *Nutrients* 2018; 10: 432.
173. Li B, Leung JCK, Chan LYY, Yiu WH, Tang SCW. A global perspective on the crosstalk between saturated fatty acids and toll-like receptor 4 in the etiology of inflammation and insulin resistance. *Prog Lipid Res.* 2020; 77: 101020.

174. Hashemipour MA, Ghasemi AR, Dogaheh MA, Torabi M. Effects of locally and systemically applied n-3 fatty acid on oral ulcer recovery process in rats. *Wounds* 2012; 24: 258-66.
175. Beguin P, Errachid A, Larondelle Y, Schneider YJ. Effect of polyunsaturated fatty acids on tight junctions in a model of the human intestinal epithelium under normal and inflammatory conditions. *Food Funct.* 2013; 4: 923-31.
176. Hokari R, Matsunaga H, Miura S. Effect of dietary fat on intestinal inflammatory diseases. *J Gastroenterol Hepatol.* 2013; 4: 33-6.
177. Generoso SV, Rodrigues NM, Trindade LM, Paiva NC, Cardoso VN, Carneiro CM, Ferreira AV, Faria AM, Maioli TU. Dietary supplementation with omega-3 fatty acid attenuates 5-fluorouracil induced mucositis in mice. *Lipids Health Dis.* 2015; 14: 54.
178. Reifen R, Karlinsky A, Stark AH, Berkovich Z, Nyska A:  $\alpha$ -linolenic acid is an anti-inflammatory agent in inflammatory bowel disease. *J Nutr Biochem.* 2015; 26: 1632-40.
179. Wang D, Zhang H, Zhang Y, Li W, Sun X, Xing Y, Suo J. Effects of omega-3 polyunsaturated fatty acids on postoperative inflammatory reaction and clinical efficacy. *Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi.* 2015; 18: 651-5.
180. Lim S, Won H, Kim Y, Jang M, Jyothi KR, Kim Y, Dandona P, Ha J, Kim SS. Antioxidant enzymes induced by repeated intake of excess energy in the form of high-fat, high-carbohydrate meals are not sufficient to block oxidative stress in healthy lean individuals. *Br J Nutr.* 2011; 106: 1544-51.
181. Ghanim H, Sia CL, Upadhyay M, Korzeniewski K, Viswanathan P, Abuaysheh S, Mohanty P, Dandona P. Orange juice neutralizes the proinflammatory effect of a high-fat, high-carbohydrate meal and prevents endotoxin increase and toll-like receptor expression. *Am J Clin Nutr.* 2010; 91: 940-9.
182. Andersson KE, Hellstrand P: Dietary oats and modulation of atherogenic pathways. *Mol Nutr Food Res.* 2012; 56: 1003-13.
183. Giugliano D, Ceriello A, Esposito K. The effects of diet on inflammation: emphasis on the metabolic syndrome. *J Am Coll Cardiol.* 2006; 48: 677-85.
184. Shema-Didi L, Sela S, Ore L, Shapiro G, Geron R, Moshe G, Kristal B. One year of pomegranate juice intake decreases oxidative stress, inflammation, and incidence of infections in hemodialysis patients: a randomized placebo-controlled trial. *Free Radic Biol Med.* 2012; 53: 297-304.
185. Faria A, Calhau C: The bioactivity of pomegranate: impact on health and disease. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2011; 51: 626-34.
186. Viladomiu M, Hontecillas R, Lu P, Bassaganya-Riera J. Preventive and prophylactic mechanisms of action of pomegranate bioactive constituents. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2013; 2013: 789764.
187. Winand J, Schneider YJ. The anti-inflammatory effect of a pomegranate husk extract on inflamed adipocytes and macrophages cultivated independently, but not on the inflammatory vicious cycle between adipocytes and macrophages. *Food Funct.* 2014; 5: 310-8.

188. Shan T, Ma Q, Guo K, Liu J, Li W, Wang F, Wu E. Xanthones from mangosteen extracts as natural chemopreventive agents: potential anticancer drugs. *Curr Mol Med.* 2011; 11: 666-77.
189. Subash S, Essa MM, Al-Adawi S, Memon MA, Manivasagam T, Akbar M. Neuroprotective effects of berry fruits on neurodegenerative diseases. *Neural Regen Res.* 2014; 9: 1557-66.
190. Ferretti G, Bacchetti T, Belleggia A, Neri D. Cherry antioxidants: from farm to table. *Molecules* 2010; 15: 6993-7005.
191. Kelley DS, Adkins Y, Reddy A, Woodhouse LR, Mackey BE, Erickson KL. Sweet bing cherries lower circulating concentrations of markers for chronic inflammatory diseases in healthy humans. *J Nutr.* 2013; 143: 340-4.
192. Miller MG, Shukitt-Hale B: Berry fruit enhances beneficial signaling in the brain. *J Agric Food Chem.* 2012; 60: 5709-15.
193. Coelho RC, Hermsdorff HH, Bressan J. Anti-inflammatory properties of orange juice: possible favorable molecular and metabolic effects. *Plant Foods Hum Nutr.* 2013; 68: 1-10.
194. Devaraj S, Jialal I, Rockwood J, Zak D. Effect of orange juice and beverage with phytosterols on cytokines and PAI-1 activity. *Clin Nutr.* 2011; 30: 668-71.
195. Buscemi S, Rosafio G, Arcoleo G, Mattina A, Canino B, Montana M, Verga S, Rini G. Effects of red orange juice intake on endothelial function and inflammatory markers in adult subjects with increased cardiovascular risk. *Am J Clin Nutr.* 2012; 95: 1089-95.
196. Casas-Agustench P, Bulló M, Salas-Salvadó J. Nuts, inflammation and insulin resistance. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2010; 19: 124-30.
197. Ros E. Health benefits of nut consumption. *Nutrients* 2010; 2: 652-82.
198. Shan Q, Zheng Y, Lu J, Zhang Z, Wu D, Fan S, Hu B, Cai X, Cai H, Liu P, Liu F. Purple sweet potato color ameliorates kidney damage via inhibiting oxidative stress mediated NLRP3 inflammasome activation in high fat diet mice. *Food Chem Toxicol.* 2014; 69: 339-46.
199. Jiang Y, Wu SH, Shu XO, Xiang YB, Ji BT, Milne GL, Cai Q, Zhang X, Gao YT, Zheng W, Yang G. Cruciferous vegetable intake is inversely correlated with circulating levels of proinflammatory markers in women. *J Acad Nutr Diet.* 2014; 114: 700-8.
200. Kaspar KL, Park JS, Brown CR, Mathison BD, Navarre DA. Pigmented potato consumption alters oxidative stress and inflammatory damage in men. *J Nutr.* 2011; 141: 108-11.
201. Tsitsimpikou C, Tsarouhas K, Kioukia-Fougia N, Skondra C, Fragkiadaki P, Papalexis P, Stamatopoulos P, Kaplanis I, Hayes AW, Tsatsakis A, Rentoukas E. Dietary supplementation with tomato-juice in patients with metabolic syndrome: a suggestion to alleviate detrimental clinical factors. *Food Chem Toxicol.* 2014; 74: 9-13.
202. Ghavipour M, Saedisomeolia A, Djalali M, Sotoudeh G, Eshraghyan MR, Moghadam AM, Wood LG. Tomato juice consumption reduces systemic inflammation in overweight and obese females. *Br J Nutr.* 2013; 109: 2031-5.

203. Esmailzadeh A, Azadbakht L. Legume consumption is inversely associated with serum concentrations of adhesion molecules and inflammatory biomarkers among Iranian women. *J Nutr.* 2012; 142: 334-9.
204. Chakrabarti S, Jahandideh F, Wu J. Food derived bioactive peptides on inflammation and oxidative stress. *Biomed Res Int.* 2014; 2014: 608979.
205. Price RK, Wallace JM, Hamill LL, Keaveney EM, Strain JJ, Parker MJ, Welch RW. Evaluation of the effect of wheat aleurone-rich foods on markers of antioxidant status, inflammation and endothelial function in apparently healthy men and women. *Br J Nutr.* 2012; 108: 1644-51.
206. Nseir W, Nassar F, Assy N. Soft drinks consumption and nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol.* 2010; 16: 2579-88.
207. Aeberli I, Gerber PA, Hochuli M, Kohler S, Haile SR, Gouni-Berthold I, Berthold HK, Spinass GA, Berneis K. Low to moderate sugar-sweetened beverage consumption impairs glucose and lipid metabolism and promotes inflammation in healthy young men: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 2011; 94: 479-85.
208. Darvesh AS, Bishayee A. Chemopreventive and therapeutic potential of tea polyphenols in hepatocellular cancer. *Nutr Cancer.* 2013; 65: 329-44.
209. Rhodus NL, Cheng B, Myers S, Miller L, Ho V, Ondrey F. The feasibility of monitoring NF-kappaB associated cytokines: TNF-alpha, IL-1alpha, IL-6, and IL-8 in whole saliva for the malignant transformation of oral lichen planus. *Mol Carcinog.* 2005; 44: 77-82.
210. Kamatani T, Shiogama S, Yoshihama Y, Kondo S, Shirota T, Shintani S. Interleukin-1 beta in unstimulated whole saliva is a potential biomarker for oral squamous cell carcinoma. *Cytokine.* 2013; 64: 497-502.
211. Dikova VR, Principe S, Bagan JV. Salivary inflammatory proteins in patients with oral potentially malignant disorders. *J Clin Exp Dent.* 2019; 11: 659-664.
212. Georgakopoulou EA, Achtari MD, Achtaris M, Foukas PG, Kotsinas A. Oral lichen planus as a preneoplastic inflammatory model. *J Biomed Biotechnol.* 2012; 2012: 759626.
213. Humberto JSM, Pavanin JV, Rocha MJAD, Motta ACF. Cytokines, cortisol, and nitric oxide as salivary biomarkers in oral lichen planus: a systematic review. *Braz Oral Res.* 2018; 32:82.
214. Pezelj-Ribarić S, Prpić J, Miletić I, Brumini G, Soskić MS, Anić I. Association between oral lichenoid reactions and amalgam restorations. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2008; 22: 1163-7.
215. Czerninski R, Basile JR, Kartin-Gabay T, Laviv A, Barak V. Cytokines and tumor markers in potentially malignant disorders and oral squamous cell carcinoma: a pilot study. *Oral Dis.* 2014; 20: 477-81.
216. Bojková B, Winklewski PJ, Wszedybyl-Winklewska M. Dietary fat and cancer- which is good, which is bad, and the body of evidence. *Int J Mol Sci.* 2020; 21: 4114.
217. Shahidi F, Ambigaipalan P. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and their health benefits. *Annu Rev Food Sci Technol.* 2018; 9: 345-381.

218. Neyraud E, Cabaret S, Brignot H, Chabanet C, Labouré H, Guichard E, Berdeaux O. The basal free fatty acid concentration in human saliva is related to salivary lipolytic activity. *Sci Rep.* 2017; 7: 5969.
219. Actis AB, Perovic NR, Defagó D, Beccacece C, Eynard AR. Fatty acid profile of human saliva: a possible indicator of dietary fat intake. *Arch Oral Biol.* 2005; 50: 1-6.
220. Defagó MD, Perovic NR, Valentich MA, Repossi G, Actis AB. Omega-3 and omega-6 salivary fatty acids as markers of dietary fat quality: a cross-sectional study in Argentina. *Acta Odontol Latinoam.* 2018; 31: 97-103.
221. Rigas B, Levine L. Human salivary eicosanoids: circadian variation. *Biochem Biophys Res Commun.* 1983; 115: 201-5.
222. Metzger K, Angres G, Maier H, Lehmann WD. Lipoxygenase products in human saliva: patients with oral cancer compared to controls. *Free Radic Biol Med.* 1995; 18: 185-94.
223. Huang Y, Zhu M, Li Z, Sa R, Chu Q, Zhang Q, Zhang H, Tang W, Zhang M, Yin H. Mass spectrometry-based metabolomic profiling identifies alterations in salivary redox status and fatty acid metabolism in response to inflammation and oxidative stress in periodontal disease. *Free Radic Biol Med.* 2014; 70: 223-32.
224. Sergeant S, Rahbar E, Chilton FH. Gamma-linolenic acid, dihomo-gamma linolenic, eicosanoids and inflammatory processes. *Eur J Pharmacol.* 2016; 785: 77-86.

### Referencias bibliográficas del Anexo

*Referencias bibliográficas correspondientes a la tabla “Mediadores de la inflamación” del Anexo 1:*

- 1- Innes JK, Calder PC. Omega-6 fatty acids and inflammation. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2018; 132: 41-48.
- 2- Sivamani RK. Eicosanoids and keratinocytes in wound healing. *Adv Wound Care.* 2014; 3: 476-481.
- 3- Hijioka M, Anan J, Ishibashi H, Kurauchi Y, Hisatsune A, Seki T, Koga T, Yokomizo T, Shimizu T, Katsuki H. Inhibition of leukotriene B4 action mitigates intracerebral hemorrhage-associated pathological events in mice. *J Pharmacol Exp Ther.* 2017; 360: 399-408.
- 4- Zhang Q, Zhu B, Li Y. Resolution of cancer-promoting inflammation: a new approach for anticancer therapy. *Front Immunol.* 2017; 8: 71.
- 5- Hema Shree K, Ramani P, Sherlin H, Sukumaran G, Jeyaraj G, Don KR, Santhanam A, Ramasubramanian A, Sundar R. Saliva as a diagnostic tool in oral squamous cell carcinoma - a systematic review with meta analysis. *Pathol Oncol Res.* 2019; 25: 447-453.
- 6- Feghali CA, Wright TM. Cytokines in acute and chronic inflammation. *Front Biosci.* 1997; 2: 12-26.
- 7- Pahwa R, Goyal A, Bansal P, Jialal I. *Chronic Inflammation.* Stat Pearls Publishing. 2021: 29630225.

- 8- Qian S, Golubnitschaja O, Zhan X. Chronic inflammation: key player and biomarker-set to predict and prevent cancer development and progression based on individualized patient profiles. *EPMA J.* 2019; 10: 365-381.
- 9- Ataie-Kachoei P, Pourgholami MH, Richardson DR, Morris DL. Gene of the month: Interleukin 6 (IL-6). *J Clin Pathol.* 2014; 67: 932-7.
- 10- Kalliolias GD, Ivashkiv LB. TNF biology, pathogenic mechanisms and emerging therapeutic strategies. *Nat Rev Rheumatol.* 2016; 12: 49-62.
- 11- Babiuch K, Kuśnierz-Cabala B, Kęsek B, Okoń K, Darczuk D, Chomyszyn-Gajewska M. Evaluation of proinflammatory, NF-kappaB dependent cytokines: IL-1 $\alpha$ , IL-6, IL-8, and TNF- $\alpha$  in tissue specimens and saliva of patients with oral squamous cell carcinoma and oral potentially malignant disorders. *J Clin Med.* 2020; 9: 867.
- 12- Berraondo P, Sanmamed MF, Ochoa MC, Etxeberria I, Aznar MA, Pérez-Gracia JL, Rodríguez-Ruiz ME, Ponz-Sarvisé M, Castañón E, Melero I. Cytokines in clinical cancer immunotherapy. *Br J Cancer.* 2019; 120: 6–15.
- 13- Hannoodee S, Nasuruddin DN. Acute inflammatory response. Stat Pearls Publishing. 2021: 32310543.
- 14- Landskron G, De la Fuente M, Thuwajit P, Thuwajit C, Hermoso MA. Chronic inflammation and cytokines in the tumor microenvironment. *J Immunol Res.* 2014; 2014: 149-185.
- 15- Kim JH. Interleukin-8 in the tumor immune niche: lessons from comparative oncology. *Adv Exp Med Biol.* 2020; 1240: 25-33.

*Referencias bibliográficas correspondientes al esquema “Componentes de la saliva” del Anexo 2:*

- 1- Tóthová L, Kamodyová N, Červenka T, Celec P. Salivary markers of oxidative stress in oral diseases. *Front Cell Infect Microbiol.* 2015; 5: 73.
- 2- Hassona Y, Scully C. Salivary changes in oral mucosal diseases. *Periodontol* 2000. 2016; 70: 111-27.
- 3- Lim PW, Garssen J, Sandalova E. Potential use of salivary markers for longitudinal monitoring of inflammatory immune responses to vaccination. *Mediators Inflamm.* 2016; 2016: 6958293.
- 4- Nunes LA, Mussavira S, Bindhu OS. Clinical and diagnostic utility of saliva as a non-invasive diagnostic fluid: a systematic review. *Biochem Med.* 2015; 25: 177-92.
- 5- Junqueira LC, Carneiro J. 2005. En *Histología básica. Texto y atlas.* 6<sup>a</sup> ed. Barcelona, España. Editorial Masson. p. 301-5.
- 6- Slomiany BL, Witas H, Murty VL, Slomiany A, Mandel ID. Association of lipids with proteins and glycoproteins in human saliva. *J Dent Res.* 1983; 62: 24-27.
- 7- Guyton AC, Hall JE. *Tratado de Fisiología Médica.* 11<sup>a</sup> ed. España: Elsevier; 2006. p.793-95/804/811.
- 8- Cordova A. *Fisiología dinámica.* 1<sup>a</sup> ed. España: Masson; 2003. p. 499-501
- 9- Lazzari ER. *Bioquímica dental.* 2<sup>a</sup> ed. México: Interamericana; 1978. P. 206.

- 10- Kalburgi V, Leburu S, Warad S. Saliva as a surrogate to explore the association between lipid profiles and chronic periodontitis: a case-control study. *Dent Res J*. 2014; 11: 619-623.
- 11- Kaufman E, Lamster IB. The diagnostic applications of saliva a review. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2002; 13: 197-212.
- 12- Castagnola M, Picciotti PM, Messana I, Fanali C, Fiorita A, Cabras T, Calò L, Pisano E, Passali GC, Iavarone F, Paludetti G, Scarano E. Potential applications of human saliva as diagnostic fluid. *Acta Otorhinolaryngol Ital*. 2011; 31: 347-57.
- 13- Ronchi A, Marinari GM, Sukkar SG, Scopinaro N, Adami GF. Behavioral characteristics of severely obese patients seeking bariatric surgery: cross-sectional study with alimentary interview. *Behav Med*. 2008; 33: 145-150.
- 14- Aps JK, Martens LC. The physiology of saliva and transfer of drugs into saliva. *Forensic Sci Int*. 2005; 10: 119-131.
- 15- Fujiwara N, Kobayashi K. Macrophages in inflammation. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*. 2005; 4: 281-6.
- 16- Khurshid Z, Zafar MS, Khan RS, Najeeb S, Slowey PD, Rehman IU. Role of salivary biomarkers in oral cancer detection. *Adv Clin Chem*. 2018; 86: 23-70.
- 17- Wardlaw GM, Hampl JS, DiSilvestro RA. Lipids. En: *Perspectives in Nutrition*. 6<sup>a</sup> ed. Editorial Mc Graw Hill, Nueva York, EE.UU, 2004; pág. 217-238.

*Referencias bibliográficas correspondientes a las tablas “Criterios diagnósticos de enfermedades liquenoides bucales” y “Criterios diagnósticos de enfermedad liquenoide bucal y sus subtipos, liquen plano bucal y lesión liquenoide bucal” del Anexo 3:*

- 1- WHO Collaborating centre for oral precancerous lesions. Definition of leukoplakia and related lesions an aid to studies on oral precancer. *Oral Surg Oral Med Pathol*. 1987; 46: 518-39.
- 2- Van der Meij EH, Van der Waal I. Lack of clinicopathologic correlation in the diagnosis of oral lichen planus based on the presently available diagnostic criteria and suggestions for modifications. *J Oral Pathol Med*. 2003; 32: 507-12.
- 3- Cheng YS, Gould A, Kurago Z, Fantasia J, Muller S. Diagnosis of oral lichen planus: a position paper of the American Academy of Oral and Maxillofacial Pathology. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2016; 122: 332-54.
- 4- Aguirre-Urizar JM, Alberdi-Navarro J, Lafuente-Ibáñez de Mendoza I, Marichalar-Mendia X, Martínez-Revilla B, Parra-Pérez C, Juan-Galíndez AD, Echebarria-Goicouria MÁ. Clinicopathological and prognostic characterization of oral lichenoid disease and its main subtypes: a series of 384 cases. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2020; 25: 554-562.
- 5- Warnakulasuriya S, Kujan O, Aguirre-Urizar JM, Bagan JV, González-Moles MÁ, Kerr AR, Lodi G, Mello FW, Monteiro L, Ogden GR, Sloan P, Johnson NW. Oral potentially malignant disorders: a consensus report from an international seminar on nomenclature and classification, convened by the WHO collaborating centre for oral cancer. *Oral Dis*. 2020.

*Referencias bibliográficas correspondientes a la tabla “Relación entre diferentes alimentos y la inflamación” del Anexo 4:*

1. Shema-Didi L, Sela S, Ore L, Shapiro G, Geron R, Moshe G, Kristal B. One year of pomegranate juice intake decreases oxidative stress, inflammation, and incidence of infections in hemodialysis patients: a randomized placebo-controlled trial. *Free Radic Biol Med.* 2012; 53: 297-304.
2. Faria A, Calhau C: The bioactivity of pomegranate: impact on health and disease. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2011; 51: 626-34.
3. Viladomiu M, Hontecillas R, Lu P, Bassaganya-Riera J. Preventive and prophylactic mechanisms of action of pomegranate bioactive constituents. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2013; 2013: 789764.
4. Winand J, Schneider YJ. The anti-inflammatory effect of a pomegranate husk extract on inflamed adipocytes and macrophages cultivated independently, but not on the inflammatory vicious cycle between adipocytes and macrophages. *Food Funct.* 2014; 5: 310-8.
5. Shan T, Ma Q, Guo K, Liu J, Li W, Wang F, Wu E. Xanthones from mangosteen extracts as natural chemopreventive agents: potential anticancer drugs. *Curr Mol Med.* 2011; 11: 666-77.
6. Subash S, Essa MM, Al-Adawi S, Memon MA, Manivasagam T, Akbar M. Neuroprotective effects of berry fruits on neurodegenerative diseases. *Neural Regen Res.* 2014; 9: 1557-66.
7. Ferretti G, Bacchetti T, Belleggia A, Neri D. Cherry antioxidants: from farm to table. *Molecules* 2010; 15: 6993-7005.
8. Kelley DS, Adkins Y, Reddy A, Woodhouse LR, Mackey BE, Erickson KL. Sweet bing cherries lower circulating concentrations of markers for chronic inflammatory diseases in healthy humans. *J Nutr.* 2013; 143: 340-4.
9. Miller MG, Shukitt-Hale B: Berry fruit enhances beneficial signaling in the brain. *J Agric Food Chem.* 2012; 60: 5709-15.
10. Coelho RC, Hermsdorff HH, Bressan J. Anti-inflammatory properties of orange juice: possible favorable molecular and metabolic effects. *Plant Foods Hum Nutr.* 2013; 68: 1-10.
11. Ghanim H, Sia CL, Upadhyay M, Korzeniewski K, Viswanathan P, Abuaysheh S, Mohanty P, Dandona P. Orange juice neutralizes the proinflammatory effect of a high-fat, high-carbohydrate meal and prevents endotoxin increase and toll-like receptor expression. *Am J Clin Nutr.* 2010; 91: 940-9.
12. Devaraj S, Jialal I, Rockwood J, Zak D: Effect of orange juice and beverage with phytosterols on cytokines and PAI-1 activity. *Clin Nutr.* 2011; 30: 668-71.
13. Buscemi S, Rosafio G, Arcoleo G, Mattina A, Canino B, Montana M, Verga S, Rini G. Effects of red orange juice intake on endothelial function and inflammatory markers in adult subjects with increased cardiovascular risk. *Am J Clin Nutr.* 2012; 95: 1089-95.
14. Casas-Agustench P, Bulló M, Salas-Salvadó J: Nuts, inflammation and insulin resistance. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2010; 19: 124-30.

15. Ros E. Health benefits of nut consumption. *Nutrients* 2010; 2: 652-82.
16. Shan Q, Zheng Y, Lu J, Zhang Z, Wu D, Fan S, Hu B, Cai X, Cai H, Liu P, Liu F. Purple sweet potato color ameliorates kidney damage via inhibiting oxidative stress mediated NLRP3 inflammasome activation in high fat diet mice. *Food Chem Toxicol.* 2014; 69: 339-46.
17. Jiang Y, Wu SH, Shu XO, Xiang YB, Ji BT, Milne GL, Cai Q, Zhang X, Gao YT, Zheng W, Yang G. Cruciferous vegetable intake is inversely correlated with circulating levels of proinflammatory markers in women. *J Acad Nutr Diet.* 2014; 114: 700-8.
18. Kaspar KL, Park JS, Brown CR, Mathison BD, Navarre DA. Pigmented potato consumption alters oxidative stress and inflammatory damage in men. *J Nutr.* 2011; 141: 108-11.
19. Tsitsimpikou C, Tsarouhas K, Kioukia-Fougia N, Skondra C, Fragkiadaki P, Papalexis P, Stamatopoulos P, Kaplanis I, Hayes AW, Tsatsakis A, Rentoukas E. Dietary supplementation with tomato-juice in patients with metabolic syndrome: a suggestion to alleviate detrimental clinical factors. *Food Chem Toxicol.* 2014; 74: 9-13.
20. Ghavipour M, Saedisomeolia A, Djalali M, Sotoudeh G, Eshraghyan MR, Moghadam AM, Wood LG. Tomato juice consumption reduces systemic inflammation in overweight and obese females. *Br J Nutr.* 2013; 109: 2031-5.
21. Esmailzadeh A, Azadbakht L. Legume consumption is inversely associated with serum concentrations of adhesion molecules and inflammatory biomarkers among Iranian women. *J Nutr.* 2012; 142: 334-9.
22. Chakrabarti S, Jahandideh F, Wu J. Food-derived bioactive peptides on inflammation and oxidative stress. *Biomed Res Int.* 2014; 2014: 608979.
23. Price RK, Wallace JM, Hamill LL, Keaveney EM, Strain JJ, Parker MJ, Welch RW. Evaluation of the effect of wheat aleurone-rich foods on markers of antioxidant status, inflammation and endothelial function in apparently healthy men and women. *Br J Nutr.* 2012; 108: 1644-51.
24. Andersson KE, Hellstrand P. Dietary oats and modulation of atherogenic pathways. *Mol Nutr Food Res.* 2012; 56: 1003-13.
25. Nseir W, Nassar F, Assy N. Soft drinks consumption and nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol.* 2010; 16: 2579-88.
26. Aeberli I, Gerber PA, Hochuli M, Kohler S, Haile SR, Gouni-Berthold I, Berthold HK, Spinass GA, Berneis K. Low to moderate sugar-sweetened beverage consumption impairs glucose and lipid metabolism and promotes inflammation in healthy young men: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 2011; 94: 479-85.
27. Darvesh AS, Bishayee A. Chemopreventive and therapeutic potential of tea polyphenols in hepatocellular cancer. *Nutr Cancer.* 2013; 65: 329-44.
28. Tang C, Hoo PC, Tan LT, Pusparajah P, Khan TM, Lee LH, Goh BH, Chan KG. Golden needle mushroom: a culinary medicine with evidenced-based biological activities and health promoting properties. *Front Pharmacol.* 2016; 7: 474.

# **ANEXOS**

## **ANEXO 1**

## Mediadores de la inflamación

MEDIADORES LIPÍDICOS	ACCIÓN EN INFLAMACIÓN AGUDA	ACCIÓN EN CÁNCER
<b>Prostaglandina E2 (PGE2)</b>	<u>Efectos proinflamatorios</u> : inducción de fiebre, aumento de la vasodilatación y la permeabilidad vascular, activación de la percepción del dolor, inducción de la producción de IL-6. <u>Efectos antiinflamatorios</u> : inhibición de la producción de TNF e inducción de la producción de lipoxinas A <sub>4</sub> (1).	No se encontraron reportes
<b>Leucotrienos (LTs)</b>	<u>LTA<sub>4</sub></u> : generación de LTB <sub>4</sub> , LTC <sub>4</sub> , LTD <sub>4</sub> y LTE <sub>4</sub> (2). <u>LTB<sub>4</sub></u> : quimioatracción de neutrófilos y otros leucocitos (3), mejora en la permeabilidad vascular y la producción de superóxido y citoquinas inflamatorias. <u>LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub> y LTE<sub>4</sub></u> : aumento de la broncoconstricción, permeabilidad vascular y secreción de moco (1).	No se encontraron reportes
<b>Lipoxinas</b>	Aumento de macrófagos M2 y de apoptosis de eosinófilos. Disminución de la señal dolorosa, de neutrófilos y angiogénesis (4).	Conversión de macrófagos asociados a tumor a fenotipo M1. Disminución de la proliferación, invasión y migración de células tumorales y de la angiogénesis (4).
<b>Resolvinas</b>	<u>Serie E</u> : disminución de la migración de CD, T, proliferación de fibroblastos y dolor. <u>Serie D</u> : disminución de producción y migración de CD, IL-12, fibrosis y dolor. Aumento de anticuerpos, polarización y eferocitosis de macrófagos M2, <i>clearance</i> de virus y bacterias, apoptosis de células T (4).	<u>Serie E</u> : disminución del crecimiento tumoral. <u>Serie D</u> : Disminución del crecimiento tumoral, aumento de la función y supervivencia de las células NK (4).
<b>Protectinas</b>	Disminución de la migración de células T, de la expresión de NF-κβ y COX <sub>2</sub> , de la replicación viral y el dolor (4).	Desconocida (4).
<b>Maresinas</b>	Aumento de la regeneración tisular, control del dolor, apoptosis de células T, cambio de fenotipo de M1 a M2 (4).	Desconocida (4).
MEDIADORES PEPTÍDICOS	ACCIÓN EN INFLAMACIÓN AGUDA	ACCIÓN EN CÁNCER
<b>Interleuquina-1β (IL-1β)</b>	Inducción de la producción de PG, citoquinas, anticuerpos, fibroblastos, colágeno y de la afluencia y activación de	Estimulación de vías de señalización NF-κB y STAT3 en las células malignas (4). Activación de VEGF y de células

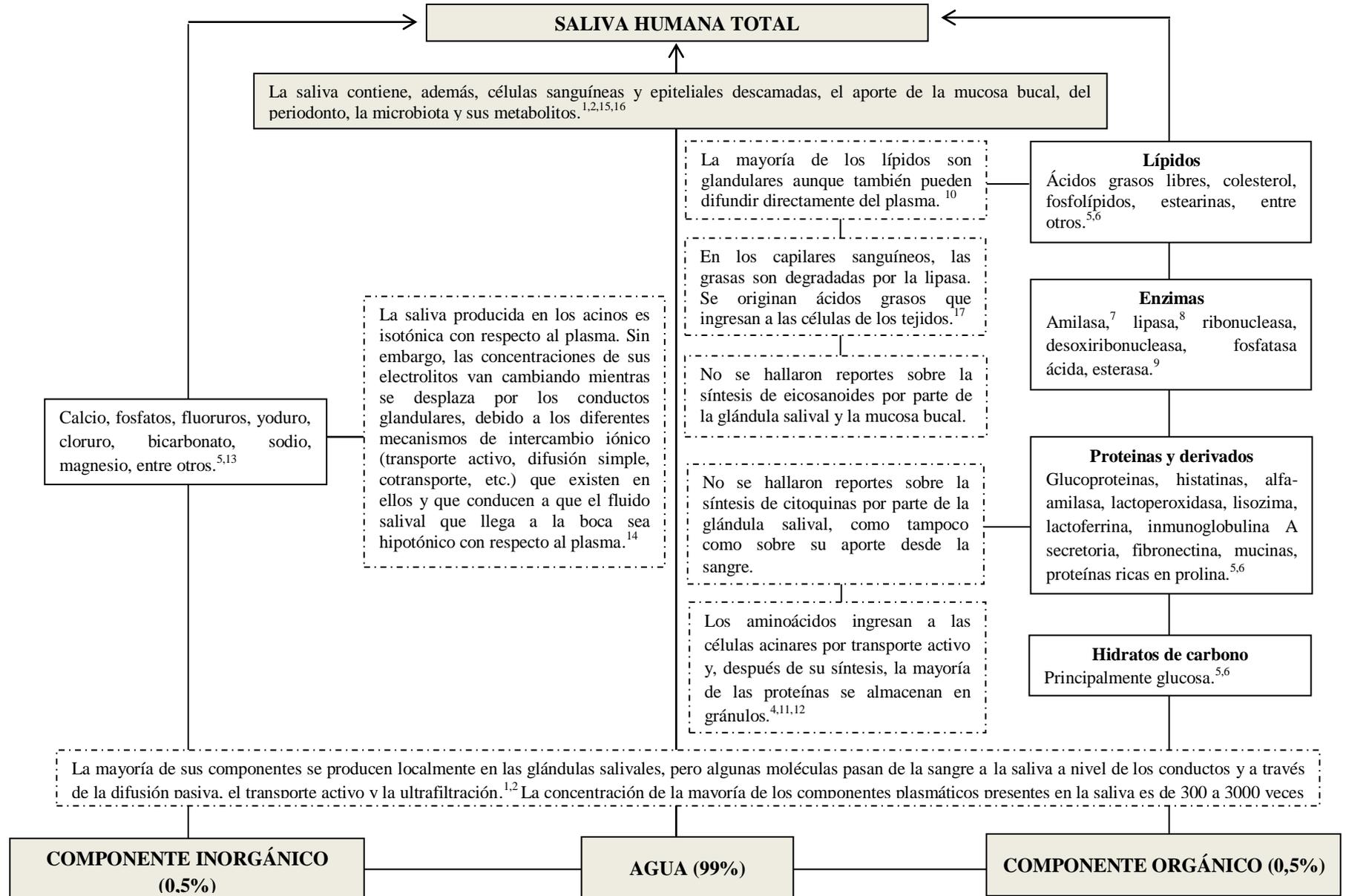
	neutrófilos, células T y B (5). Promoción de la liberación de histamina con vasodilatación y aumento de la permeabilidad vascular (6). Estimulación de las células endoteliales con liberación de selectinas e integrinas, quimiotaxis y diapédesis de los leucocitos (7).	endoteliales de la sangre con promoción de metástasis. Activación de la vía de señalización NF- $\kappa$ B y de las líneas celulares mieloides que pueden secretar IL-6 y TNF y promover el crecimiento tumoral (8).
<b>Interleuquina-6 (IL-6)</b>	Reclutamiento de neutrófilos y producción de citoquinas proinflamatorias, PG, ROS y proteasas (9). Inducción de la expresión del receptor de IL-2 (6) y de la producción de proteínas amiloide A y proteína C reactiva sérica (5). Activación y diferenciación de linfocitos T. Promoción de la maduración de los linfocitos B con síntesis y secreción de inmunoglobulinas M, G y A. Contribución en la diferenciación de macrófagos y megacariocitos. Inducción de la producción de VEGF neoangiogénesis (9).	Inducción de la tumorigénesis por activación de vías oncogénicas JAK/STAT-3, Ras/MAPK y PI3K/AKT que modifican la transcripción de genes y el comportamiento celular (8). Estimulación de vías de señalización NF- $\kappa$ B y STAT3 en las células malignas (4). Promoción del daño en el ADN con iniciación del tumor (5). Estimulación de la proliferación celular y reducción de la apoptosis, con crecimiento y metástasis del tumor (10, 11). Inhibición de la respuesta inmunogénica al tumor (9).
<b>Factor de necrosis tumoral (TNF)</b>	Activación de macrófagos y liberación de citoquinas proinflamatorias. Expresión de metaloproteinasas en los fibroblastos y síntesis de colágeno. Aumento de las moléculas de adhesión en las células endoteliales de los vasos sanguíneos. Inducción de la apoptosis de las células endoteliales (12). Estimulación de la síntesis de IL-6 y PGE <sub>2</sub> , y de la liberación de IL-1 $\beta$ , (6). Inducción de las células endoteliales con liberación de selectinas e integrinas, quimiotaxis y diapédesis de los leucocitos (7, 13). Inducción de la activación de varias vías de señalización (14).	Estimulación de vías de señalización en las células cancerosas, tales como NF- $\kappa$ B y STAT3 (4). Inducción de daño en el ADN causando la iniciación del tumor (10). Estimulación de proliferación celular y reducción de apoptosis, lo que favorece el crecimiento del tumor (11). Producción de angiogénesis y metástasis (10, 11). Promoción de la iniciación de tumores por generación de ROS y RNS. Acción proinflamatoria y antiinflamatoria en el microambiente tumoral, que depende de la concentración local y sitio de expresión en el tumor (14).
<b>Interleuquina-10 (IL-10)</b>	Efectos antiinflamatorios (14).	Contribución a la evasión inmune. Inhibición de las funciones citotóxicas y de liberación de citoquinas por los linfocitos T y células NK (12). Inhibición de la señalización de NF- $\kappa$ B y regulación negativa de la expresión de citoquinas proinflamatorias con efecto antitumoral. Activación de STAT3 con efecto protumorigénico y de la resistencia a la apoptosis (14).

<b>Interleuquina-IL-8 (IL-8)</b>	Efectos inflamatorios y proangiogénicos (15)	Contribución a la invasión tumoral, angiogénesis y metástasis (Babiuch et al 2020). Inducción de la fosforilación de PI3K y de AKT, con crecimiento de vasos sanguíneos, supervivencia y migración de células malignas (8).
<b>Factor de crecimiento transformante beta (TGF-β)</b>	Efectos inmunosupresores y antiinflamatorios (14).	Supresión tumoral por inhibición de la progresión del ciclo celular y promoción de la apoptosis (8). Contribución a la invasión tumoral, metástasis y evasión inmune (12, 14)

**PGE<sub>2</sub>**: prostaglandina E<sub>2</sub>; **IL-6**: Interleuquina-6; **TNF**: factor de necrosis tumoral (*tumoral necrosis factor*); **LTA<sub>4</sub>**: leucotrieno A<sub>4</sub>; **LTB<sub>4</sub>**: leucotrieno B<sub>4</sub>; **LTC<sub>4</sub>**: leucotrieno C<sub>4</sub>; **LTD<sub>4</sub>**: leucotrieno D<sub>4</sub>; **LTE<sub>4</sub>**: leucotrieno E<sub>4</sub>; **CD**: célula dendrítica; **IL-12**: interleuquina-12; **NK**: Célula *natural killer*; **NF-κβ**: factor nuclear kappa beta (*nuclear factor kappa-beta*); **COX<sub>2</sub>**: ciclooxigenasa 2; **IL-1β**: interleuquina-1β; **STAT3**: transductor de señal y activador de la transcripción 3 (*signal transducer and activator of transcription 3*); **VEGF**: factor de crecimiento vascular endotelial (*vascular endothelial growth factor*); **IL-2**: Interleuquina-2; **JAK/STAT-3**: *Janus kinases (JAK) and signal transducers and activator of transcription 3*; **Ras/MAPK**: *Mitogen-activated protein kinase*; **PI3K/AKT**: *phosphatidylinosi- tol 3-kinase*; **ROS**: especies reactivas de oxígeno (*reactive oxygen species*); **RNS**: especies reactivas de nitrógeno (*reactive nitrogen species*); **IL-10**: interleuquina-10; **IL-8**: interleuquina-IL-8; **PI3K**: fosfoinositol 3-quinasa (*phosphatidylinosi- tol 3-kinase*); **AKT** proteína quinasa B; **TGF-β**: factor de crecimiento transformante beta (*transforming growth factor beta*). Referencias bibliográficas citadas en *Referencias bibliográficas del Anexo*.

## **ANEXO 2**

## Componentes de la saliva



Referencias bibliográficas citadas en *Referencias bibliográficas del Anexo*.

### **ANEXO 3**

## Crterios diagnsticos de enfermedades liquenoides bucales

AUTOR	CRITERIOS CLNICOS	CRITERIOS HISTOPATOLGICOS	DIAGNOSTICO
OMS (1978) (1)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pápulas blancas, reticulares, anulares, lesiones tipo placa, líneas gris/blancas que irradian de las pápulas.</li> <li>• Red de líneas gris-blancas ligeramente elevadas (patrón reticular).</li> <li>• Lesiones atróficas con o sin erosión, o de tipo ampollar.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Capa ortoqueratinizada engrosada en sitios con queratinización normal, y si el sitio no queratiniza normalmente esta capa puede ser muy delgada.</li> <li>• Cuerpos de <i>Civatte</i> en la capa basal, epitelio y parte superficial del tejido conectivo.</li> <li>• Zona de infiltrado celular bien definida en forma de banda, confinada a la parte superficial del tejido conectivo, principalmente linfocitos.</li> <li>• Degeneración hidrópica en la capa basal.</li> </ul>	<p><b>LPB</b></p>
<p><b>Crterios modificados de la OMS (2003) (2)</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lesiones bilaterales, más o menos simétricas.</li> <li>• Red de líneas gris/blancas ligeramente elevadas (patrón reticular).</li> <li>• Las lesiones erosivas, atróficas, ampollas y de tipo placa se aceptan solo como subtipo en presencia de lesiones reticulares en otras partes de la mucosa bucal.</li> </ul> <p><b>En todas las demás lesiones que se parecen al LPB, pero que no cumplen con los criterios mencionados anteriormente, se debe usar el término <u>clnicamente compatible con.</u></b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Zona de infiltrado celular bien definida en forma de banda, confinada a la parte superficial del tejido conectivo, principalmente linfocitos.</li> <li>• Signos de degeneración hidrópica en la capa basal.</li> <li>• Ausencia de displasia epitelial.</li> </ul> <p><b>Cuando las características histopatológicas sean menos obvias, se debe usar el término <u>compatible histopatológicamente con.</u></b></p>	<p><b>LPB:</b> requiere el cumplimiento de ambos criterios, clnicos e histopatológicos.</p> <p><b>LLB:</b> ese término se utilizará en las siguientes condiciones:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Clnicamente típico de LPB pero histopatológicamente compatible con LPB.</li> <li>2. Histopatológicamente típico de LPB pero clnicamente compatible con la LPB.</li> <li>3. Clnicamente compatible con LPB e histopatológicamente compatible con LPB.</li> </ol>
Cheng 2016 (3)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Líneas blancas bien definidas sobre un</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Presencia de una zona de infiltrado celular</li> </ul>	<p><b>LPB</b></p>

	<p>fondo de eritema mínimo o sustancial.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● Distribución más o menos simétrica.</li> <li>● Patrones de expresión clínica: reticular/papular, atrófico (eritematoso), erosivo (ulcerativo), en placa y ampollar (bulloso).</li> </ul> <p>Se excluyen lesiones localizadas exclusivamente en los sitios de colocación del tabaco, adyacentes y/o en contacto con restauraciones dentales, aquellas cuyo inicio se correlaciona con el inicio del uso de un medicamento o de productos que contienen canela.</p>	<p>bien definida en forma de banda, confinada a la parte superficial del tejido conectivo, principalmente linfocitos.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● Signos de degeneración hidrópica en la capa basal.</li> <li>● Exocitosis linfocítica.</li> <li>● Ausencia de displasia epitelial.</li> <li>● Ausencia de cambio arquitectónico epitelial verrugoso.</li> </ul>	
<b>Aguirre-Urizar y col, 2020 (4)</b>	Véase tabla siguiente		
<b>Warnakulasuriya y col, 2020 (5)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Lesiones blancas bilaterales, más o menos simétricas, que afecten a mucosa yugal y/o lengua, y/o labio y/o encía.</li> <li>● Líneas blancas (patrón reticular, anular o lineal) con o sin erosiones y ulceraciones. A veces se presenta como gingivitis descamativa.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Zona de infiltrado celular bien definida en forma de banda, confinada a la parte superficial del tejido conectivo, principalmente linfocitos.</li> <li>● Signos de degeneración vacuolar de las capas de células basales y/o suprabasales con apoptosis de queratinocitos.</li> <li>● En el tipo atrófico hay adelgazamiento epitelial y, a veces, ulceración causada por el fracaso de la regeneración epitelial como resultado de la destrucción de las células basales.</li> <li>● Posible presencia de un infiltrado inflamatorio mixto.</li> </ul>	

**OMS:** Organización Mundial de la Salud; **LPB:** liquen plano bucal; **LLB:** lesión liquenoide bucal. Referencias bibliográficas citadas en *Referencias bibliográficas del Anexo*.

**Criterios diagnósticos de enfermedad liquenoide bucal y sus subtipos, liquen plano bucal y lesión liquenoide bucal**

<b>CRITERIOS DE DIAGNÓSTICO CLÍNICO</b>		
<b>Tipo</b>	<b>Descripción</b>	<b>Diagnóstico</b>
Criterio esencial	Pápulas blancas (reticulares) en la mucosa oral.	LPB/LLB
Otros criterios	Otros tipos de lesiones en la mucosa bucal: atrófica, en placa, erosiva-ulcerosa, ampollar.	LPB/LLB
	Lesiones múltiples, bilaterales y ocasionalmente simétricas.	LPB
	Lesiones únicas, unilaterales y / o asimétricas.	LLB
	Lesiones únicas o múltiples, bilaterales o no, simétricas o no, pero con un factor etiopatogénico reconocido.	LLB
*Todos los casos de ELB necesitan exclusión clínica de otros posibles diagnósticos		
<b>CRITERIOS DE DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO</b>		
<b>Tipo</b>	<b>Descripción</b>	<b>Diagnóstico</b>
Criterios compatibles/ sugestivos	Infiltrado inflamatorio crónico, principalmente linfocitos, en la lámina propia (en forma de banda).	LPB/LLB
	Degeneración hidrópica de las células basales del epitelio mucoso, asociado al infiltrado inflamatorio crónico coriónico.	LPB/LLB
*No existen criterios histopatológicos de diagnóstico patognomónicos de ELB, LPB o LLB.		
*La presencia de displasia epitelial no excluye el diagnóstico de ELB (LPB /LLB).		
*Todos los casos de ELB necesitan exclusión histopatológica de otros posibles diagnósticos y la evaluación de la displasia epitelial.		

**LPB:** liquen plano bucal; **LLB:** lesión liquenoide bucal; **ELB:** enfermedad liquenoide bucal.  
 Datos tomados de Aguirre-Urizar y col, 2020 (4). Referencias bibliográficas citadas en *Referencias bibliográficas del Anexo*.

## **ANEXO 4**

## Relación entre diferentes alimentos y la inflamación

Alimento	Nutriente	Efecto sobre la inflamación	Mecanismo	Tipo de estudio	Referencia
<b>Frutas</b>					
Granada (jugo)	Jugo de granada comercial (polifenoles)	Antiinflamatorio	Reduce los niveles de biomarcadores inflamatorios.	Ensayo aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo	1
Granada (semillas, cáscara y jugo)	Ácido elágico, elagitaninos, ácido punícico y otros ácidos grasos, flavonoides, antocianidinas, antocianinas, flavonoles estrogénicos y flavonas	Antiinflamatorio	Inhibe la activación de vías inflamatorias, incluida la vía NFκ-β.	Revisión	2
			Inhibe el crecimiento de ciertas especies patógenas de Clostridia, Staphylococcus aureus y Pseudomonas aeruginosa.		3
Granada (extracto de cáscara)	Componentes fenólicos, punicalagina y ácido elágico	Antiinflamatorio	Reduce la secreción de moléculas proinflamatorias	<i>In vitro.</i>	4
Mangostán	Xantonas	Antiinflamatorio	Inhibe la liberación de mediadores inflamatorios	Revisión. <i>In vitro.</i>	5
Frutilla	Ácido cafeico, ácido elágico y ciertos flavonoides, incluidos antocianinas, taninos, catequina, quercetina, kaempferol, derivados del ácido gálico, vitaminas C, E y carotenoides.	Antiinflamatorio	Inhibe a las ciclooxigenasas.	Revisión	6
Cereza	Polifenoles	Antiinflamatorio	Reduce biomarcadores asociados a enfermedades inflamatorias	Revisión	7
				Estudio clínico (personas sanas)	8
Frutos rojos	Antocianinas	Antiinflamatorio	Media las vías de señalización implicadas en la inflamación y la supervivencia celular.	Revisión	9
Naranja (jugo)	Flavonoide (hesperidina, naringenina)	Antiinflamatorio	Modula marcadores inflamatorios	Revisión	10
			Previene el estrés oxidativo e inflamatorio inducido por las comidas, incluido el aumento de endotoxinas.	Estudio clínico (personas sanas)	11
	Fortificado con esteroles vegetales		Reduce los niveles séricos de IL-6	Estudio clínico (personas sanas)	12
Naranja roja (jugo)	Antocianinas	Antiinflamatorio	Disminuye IL-6 y TNF	Estudio clínico (personas con elevado riesgo cardiovascular)	13
Nueces	Fibra, ácido alfa-linolénico, l-arginina, ácidos grasos insaturados y monoinsaturados, proteína vegetal, minerales,	Antiinflamatorio	Reduce la concentración de biomarcadores inflamatorios	Revisión	14
					15

	tocoferoles, fitoesteroles y compuestos fenólicos.				
<b>Vegetales</b>					
Papa morada	Antocianinas	Antiinflamatorio	Reduce el infiltrado delular inflamatorio, disminuye IL-1 $\beta$ , inhibe la activación de IKK $\beta$ y la translocación nuclear de NF- $\kappa$ B.	<i>In vivo</i> (ratones)	16
Vegetales crucíferos	Isotiocianato	Antiinflamatorio	Disminuye las concentraciones circulantes de TNF, IL-1 $\beta$ e IL-6.	Transversal	17
Papa pigmentada	Ácidos fenólicos, antocianinas y carotenoides	Antiinflamatorio	Reduce los niveles plasmáticos de IL-6	Epidemiológico. De caso-control	18
Tomate (jugo)	Licopeno	Antiinflamatorio	Disminuye IL-6 y TNF	Epidemiológico. De caso-control	19
			Reduce los niveles séricos de IL-6		20
<b>Legumbres</b>					
Legumbres (lentejas, guisantes, garbanzos, frijoles, incluidas las habas y la arveja)	Fibra dietética, proteínas vegetales, oligosacáridos y compuestos fenólicos y otros compuestos bioactivos.	Antiinflamatorio	Disminuye las concentraciones séricas de CRP, TNF e IL-6.	Transversal	21
Soja	Péptidos e hidrolizados de proteínas derivados	Antiinflamatorio	Tienen efectos sobre las quinasas de señalización proinflamatorias, las citoquinas proinflamatorias y antiinflamatorias, la señalización dependiente de integrina, la generación de especies reactivas de oxígeno y el sistema renina-angiotensina	Revisión (cultivo celular y modelo animal de enfermedades inflamatorias humanas)	22
Granos enteros	Aleurona, micronutrientes y fitoquímicos.	Antiinflamatorio	Disminuir las concentraciones plasmáticas de CRP	Estudio clínico(personas sanas)	23
Avena			Inhibe la señalización de NF- $\kappa$ B en los queratinocitos, reduciendo así la expresión de proteínas proinflamatorias.	Revisión. <i>Estudios in vitro, in vivo</i> y en humanos	24
<b>Productos de origen animal</b>					
Leche Huevos Carnes Pescado	Peptidos y derivados de proteínas hidrolizadas	Antiinflamatorio	Tienen efectos sobre las quinasas de señalización proinflamatorias, las citoquinas proinflamatorias y antiinflamatorias, la señalización dependiente de integrina, la generación de especies reactivas de oxígeno y el sistema renina-angiotensina	Revisión (cultivo celular y modelo animal de enfermedades inflamatorias humanas)	22
Aceite de pescado	Ácidos grasos n-3	Antiinflamatorio	Reduce varios aspectos de las funciones de los neutrófilos, monocitos y linfocitos, incluida la producción de mediadores inflamatorios.	Revisión	8
<b>Bebidas</b>					
Bebidas sin alcohol	Jarabe de maíz de fructosa (azúcar, fructuosa 55% y glucosa 45%)	Inflamatorio	Activa la quinasa 1 amino terminal c-Jun, que causa inflamación hepática y aumento del sustrato 1 del receptor de insulina. Induce la lipogénesis a través de la regulación positiva de SREBP-1c y CHREBP.	Revisión	25

Bebida endulzada con azúcar	Fructosa, glucose y sacarosa	Inflamatorio	Incrementa la glucosa y hs-CRP <sup>g</sup>	Ensayo cruzado prospectivo, aleatorizado y controlado.	26
Té verde	Catequinas y polifenoles	Antiinflamatorio	Modula varias vías de señalización	Revisión	27
Té negro	Flavinas y polifenoles	Antiinflamatorio	Modula varias vías de señalización	Revisión	27
Flammulina velutipes (enoki, vástago de terciopelo, seta de aguja dorada o seta de invierno)	Proteínas, vitaminas, minerales, ácidos grasos insaturados y fibra	Antiinflamatorio	Inhibe la producción de óxido nítrico y TNF	Revisión	28

**NF-κβ:** factor nuclear kappa beta (*nuclear factor kappa-beta*); **IL-6:** Interleuquina-6; **TNF:** factor de necrosis tumoral (*tumoral necrosis factor*); **IL-1β:** interleuquina-1β; **IKKβ:** Inhibidor Kappa B quinasa β (*inhibitor kappa B kinase β*); **CRP:** proteína C reactiva (*C-reactive protein*); **hs-CRP:** proteína C reactiva de alta sensibilidad (*high-sensitivity C-reactive protein*); **IFN-γ:** interferon gamma. Referencias bibliográficas citadas en *Referencias bibliográficas del Anexo*.

## **ANEXO 5**

## CONSENTIMIENTO INFORMADO

### **Participantes sanos**

Estimado voluntario/a

Se lo/la invita a participar en un trabajo de investigación titulado “*Inflamación de la mucosa bucal: su relación con ácidos grasos dietarios y envejecimiento*” que será llevado a cabo por profesionales en ciencias de la salud pertenecientes a la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Córdoba.

Al respecto, usted debe tener en cuenta que:

- El propósito de este estudio, que respeta a las personas en todos sus aspectos, es investigar si hay relación entre la edad y los componentes de las grasas de la dieta (ácidos grasos) y la inflamación de la mucosa bucal (recubrimiento interior de la boca), medida en la saliva por medio de sustancias que muestran si hay inflamación (citoquinas proinflamatorias).
- Su participación es voluntaria, puede participar si lo desea. Si acepta, no correrá ningún riesgo y va a contribuir al cuidado de la salud de otras personas.
- Participará en un único momento del estudio, el que consiste en dos o tres encuentros con los profesionales (odontólogos, nutricionistas). El trabajo de investigación durará alrededor de cuatro años en total.
- Su odontólogo/a lo/la va a informar sobre el estudio. Él/ella debe contestar todas sus preguntas y aclarar todas sus dudas.
- Todo los procedimientos del estudio se van a realizar sin dar a conocer su nombre, sin costo adicional (no deberá pagar nada por participar en este estudio) y no le significarán ningún daño físico ni psicológico.
- Por eso, como parte de este estudio, se le va a pedir que:
  - a) Conteste unas preguntas que le hará el/la odontólogo/a, las que están en una ficha, y permita que revise su boca.
  - b) Permita que el/la odontólogo/a complete su ficha periodontal. Para ello, el profesional introducirá entre la encía y cada diente un pequeño instrumento manual llamado sonda periodontal con el que tomará medidas que le servirán para saber si existe o no enfermedad. Usted debe saber que durante ese procedimiento puede producirse –aunque generalmente no es así– una ligera molestia y un muy leve sangrado de las encías si están inflamadas.
  - c) Conteste preguntas sobre lo que usted come y bebe. Estas preguntas las harán uno o dos nutricionistas, quienes anotarán las respuestas en una planilla.
  - d) Recolecte su saliva de acuerdo a las instrucciones que le serán entregadas. Esa saliva tiene que ser congelada para que, después de algún tiempo, se analicen las sustancias que muestran si hay inflamación (citoquinas proinflamatorias). Usted va a donar esas muestras de saliva. Si quedara una parte sin usar en este estudio, esa saliva podrá ser empleada para futuros trabajos de investigación (sin dar a conocer su nombre).

- La información que usted nos dé será anotada en una ficha y guardada, analizada y publicada en revistas científicas en forma anónima (no se usará su nombre sino un número que lo identifique). Los profesionales integrantes del equipo de investigación agradecen su valiosa colaboración.

**Después de haber leído y comprendido la hoja de información y de haber sido debidamente informado/a por el profesional abajo firmante acerca del estudio, declaro mi conformidad con las condiciones antes mencionadas y con lo que me han explicado, y acepto voluntariamente participar en el estudio.**

---

Lugar y fecha	Nº de documento	Firma del/la voluntario/a	Aclaración
---------------	-----------------	---------------------------	------------

---

Lugar y fecha	Nº de documento	Firma del/la testigo/a	Aclaración
---------------	-----------------	------------------------	------------

---

Lugar y fecha Aclaración	Firma y sello del profesional
-----------------------------	-------------------------------

**Investigador responsable**

Od. Evangelina Costantino

MP.9534

Cátedra B de Anatomía, Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Córdoba.

Haya de la Torre s/n. Ciudad Universitaria. 5000 Córdoba, Argentina.

Teléfono: (0351) 152301072

## CONSENTIMIENTO INFORMADO

### **Participantes con lesión en la mucosa bucal**

Estimado voluntario/a

Se lo/la invita a participar en un trabajo de investigación titulado “*Inflamación de la mucosa bucal: su relación con ácidos grasos dietarios y envejecimiento*” que será llevado a cabo por profesionales en ciencias de la salud pertenecientes a la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Córdoba.

Al respecto, usted debe tener en cuenta que:

- El propósito de este estudio, que respeta a las personas en todos sus aspectos, es investigar si hay relación entre la edad y los componentes de las grasas de la dieta (ácidos grasos) y la inflamación de la mucosa bucal (recubrimiento interior de la boca), medida en la saliva por medio de sustancias que muestran si hay inflamación (citoquinas proinflamatorias).
- Su participación es voluntaria, puede participar si lo desea. Si decide no hacerlo, no se afectará el tratamiento de su enfermedad. Si acepta, no correrá ningún riesgo.
- Participará en un único momento del estudio, el que consiste en dos o tres encuentros con los profesionales (odontólogos, nutricionistas) antes de que lo/la traten por su enfermedad. El trabajo de investigación durará alrededor de cuatro años en total.
- Su odontólogo lo/la va a informar sobre el estudio. Él/ella debe contestar todas sus preguntas y aclarar todas sus dudas.
- Antes del tratamiento de su enfermedad, usted recolectará su saliva en un frasco que le entregarán y se le pedirán datos personales, información sobre lo que come y bebe, costumbres, etc., sin dar a conocer su nombre. Todo esto no le causará ningún daño físico ni psicológico ni costo adicional (no deberá pagar nada por participar en este estudio).
- Por eso, como parte de este estudio, se le va a pedir que:
  - e) Conteste unas preguntas que le hará el/la odontólogo/a, las que están en una ficha; permita que revise su boca y le tome fotografías (sólo de la boca).
  - f) Conteste preguntas sobre lo que usted come y bebe. Estas preguntas las harán uno o dos nutricionistas, quienes anotarán las respuestas en una planilla.
  - g) Recolecte su saliva de acuerdo a las instrucciones que le serán entregadas. Esa saliva tiene que ser congelada para que, después de algún tiempo, se analicen las sustancias que muestran si hay inflamación (citoquinas proinflamatorias). Usted va a donar esas muestras de saliva. Si quedara una parte sin usar en este estudio, esa saliva podrá ser empleada para futuros trabajos de investigación (sin dar a conocer su nombre).
  - h) Permita que el/la odontólogo/a complete su ficha periodontal. Para ello, el profesional introducirá entre la encía y cada diente un pequeño instrumento manual llamado sonda periodontal con el que tomará medidas que le servirán para saber si existe o no enfermedad. Usted debe saber que durante ese procedimiento puede producirse -aunque generalmente no es así- una ligera molestia y un muy leve sangrado de las encías si están inflamadas.

- La información que usted nos dé será anotada en una ficha y -junto a las fotografías de la boca que tomaremos- será guardada, analizada y publicada en revistas científicas en forma anónima (no se usará su nombre sino un número que lo identifique).
- Es importante aclarar que, para hacer el diagnóstico y tratamiento de su lesión en la Cátedra A de Estomatología de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Córdoba, se siguen los siguientes pasos:
  - 1) Los docentes de esa cátedra le harán una biopsia (que consiste en tomar, bajo anestesia local, una pequeña parte de la lesión de la boca por la que usted consulta). Este es un procedimiento que se realiza para diagnosticar su enfermedad; no se hace específicamente para este estudio. Esa parte de la lesión se pondrá en parafina y se harán cortes que serán analizados a través de un microscopio a fin de hacer el diagnóstico. Uno de esos cortes (láminas) será guardado para futuros estudios sobre la inflamación de la boca.
  - 2) Después del resultado de la biopsia el profesional tratante (de la Cátedra A de Estomatología) le indicará el tratamiento de su enfermedad, el que no forma parte de este estudio.

Los profesionales integrantes del equipo de investigación agradecen su valiosa colaboración.

**Después de haber leído y comprendido la hoja de información y de haber sido debidamente informado/a por el profesional abajo firmante acerca del estudio, declaro mi conformidad con las condiciones antes mencionadas y con lo que me han explicado, y acepto voluntariamente participar en el estudio.**

---

Lugar y fecha Aclaración	Nº de Documento	Firma del/la voluntario/a
-----------------------------	-----------------	---------------------------

---

Lugar y fecha Aclaración	Nº de Documento	Firma del/la testigo/a
-----------------------------	-----------------	------------------------

---

Lugar y fecha Aclaración	Firma y sello del profesional
-----------------------------	-------------------------------

**Investigador responsable**

Od. Evangelina Costantino

MP.9534

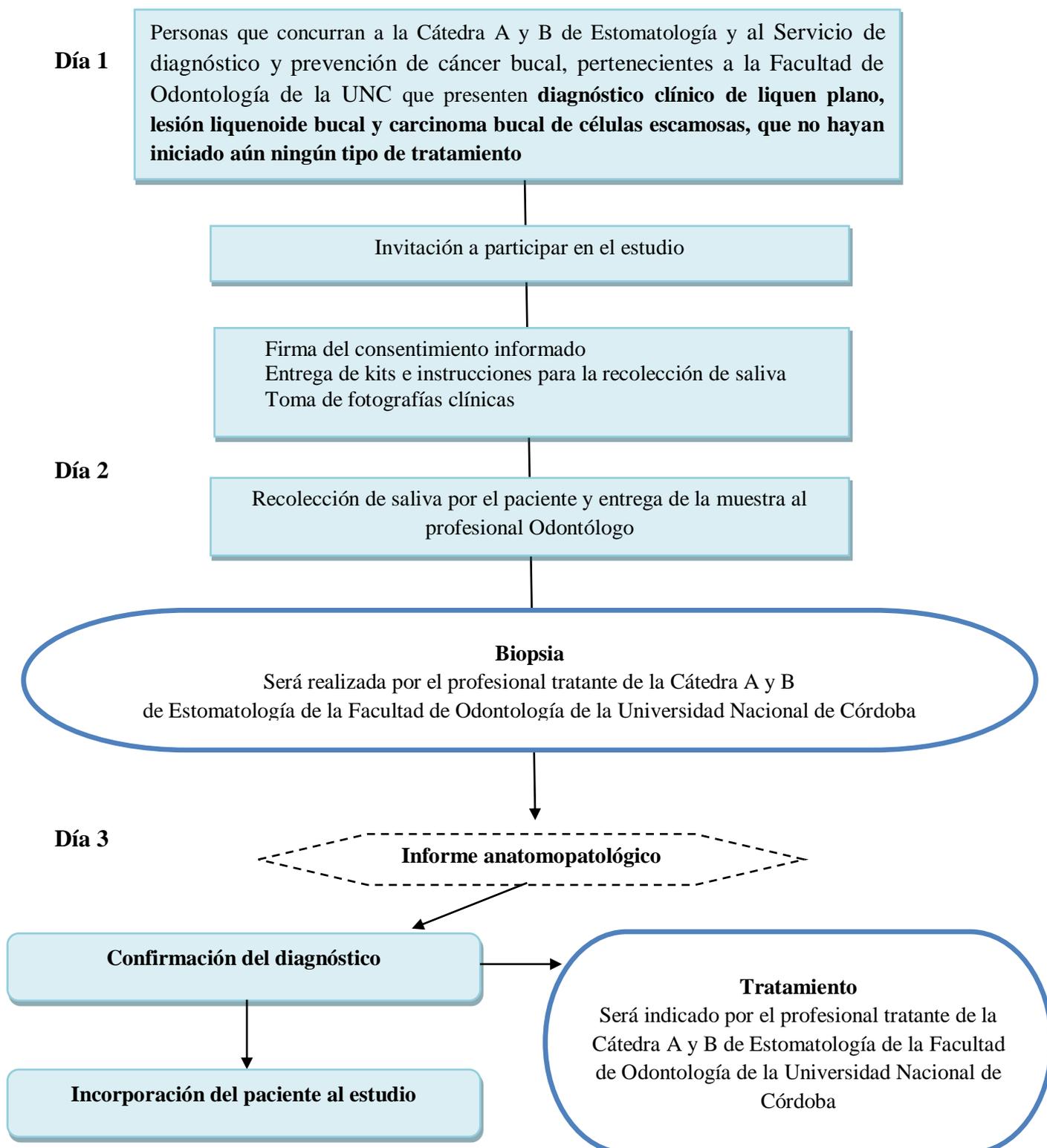
Cátedra B de Anatomía, Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Córdoba.

Haya de la Torre s/n. Ciudad Universitaria. 5000 Córdoba, Argentina.

Teléfono: 0351-152301072

## ANEXO 5-A

### Protocolo de incorporación de pacientes enfermos al estudio



## **ANEXO 6**

# HISTORIA CLÍNICA

FECHA:...../...../.....

## I.- DATOS GENERALES

Participante N°:..... Sexo: F / M Edad:.....años  
Peso:..... Kg Talla:..... m IMC:..... Kg/m<sup>2</sup>  
Fecha de nacimiento:..... Lugar de nacimiento:.....  
Estado civil:..... Teléfono:.....  
Ocupación:.....

## II.- ANTECEDENTES MÉDICOS GENERALES

- |  |    |    |
|--|----|----|
| 1. ¿Padece algún trastorno o enfermedad?                                   | SI | NO |
| 2. ¿Ha notado alguna alteración de su salud general durante el último año? | SI | NO |
| 3. ¿Está bajo tratamiento médico actualmente?                              | SI | NO |
| a) En caso afirmativo, ¿qué enfermedad padece?_____                        |    |    |
| 4. ¿Padece alguno de los siguientes trastornos?:                           |    |    |
| a) Enfermedad cardiovascular   | SI | NO |
| b) Diabetes  | SI | NO |
| 1. ¿Tiene necesidad de orinar más de seis veces al día?                    | SI | NO |
| 2. ¿Tiene sensación de sed con mucha frecuencia?                           | SI | NO |
| 3. ¿Nota a menudo sensación de sequedad en la boca?                        | SI | NO |
| c) Hepatitis o enfermedad hepática   | SI | NO |
| d) Úlceras gástricas   | SI | NO |
| e) Trastornos renales  | SI | NO |
| f) Tuberculosis  | SI | NO |
| g) Hipotiroidismo / Hipertiroidismo  | SI | NO |
| h) Otras enfermedades que recuerde. ....                                   |    |    |
| 5. ¿Tuvo cirugía o radioterapia por un tumor en la cavidad bucal?          | SI | NO |
| 6. ¿Toma algún medicamento? ¿Cuál?.....                                    | SI | NO |
| 7. ¿Está embarazada?   | SI | NO |
| 8. ¿Tiene el hábito de fumar?  | SI | NO |

9 ¿Realiza algún régimen alimentario especial?

SI

NO

### III.- EXÁMEN CLÍNICO ODONTOESTOMATOLÓGICO

#### TEJIDOS BLANDOS:

- a. Labios: Normal  Anormal
- b. Comisuras: Normal  Anormal
- d. Mucosa yugal: Normal  Anormal
- e. Paladar: Normal  Anormal
- f. Piso de boca: Normal  Anormal
- g. Lengua: Normal  Anormal
- h. Gl. salivales: Normal  Anormal

Observaciones:.....  
.....

#### TEJIDOS DUROS:

- a. Higiene Bucal: Muy Buena  Buena  Regular  Pobre
- b. Cálculo dental: SI / NO
- c. Caries macropenetrantes: SI / NO
- d. Gingivitis: SI / NO Grado:.....
- e. Enfermedad periodontal: SI / NO
- f. Pericoronaritis: SI /NO

#### IV.- FICHA PERIODONTAL

Características de la encía<sup>1</sup>:

---



---

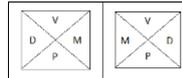
Fenotipo periodontal y raza<sup>2</sup>:

---



---

Maxilar

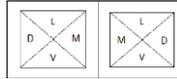


Diente	18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28	
IPB <sup>3</sup>	[Grid with diagonal lines]																
IG <sup>4</sup>	[Grid with diagonal lines]																
RH	[Grid with diagonal lines]																
S <sup>1</sup>	[Empty grid]																
CS <sup>1</sup> / CI	[Grid with diagonal lines]																
PS	M	[Grid with diagonal lines]															
	v	[Grid with diagonal lines]															
	V	[Grid with diagonal lines]															
	DV	[Grid with diagonal lines]															
	M	[Grid with diagonal lines]															
	n	[Grid with diagonal lines]															
NIC	P	[Grid with diagonal lines]															
	DP	[Grid with diagonal lines]															
Furca	[Grid with Y-shaped symbols]																
Movilidad <sup>1</sup>	[Empty grid]																

Diagnóstico

Gingivitis	[Empty grid]															
PL	[Empty grid]															
PG	[Empty grid]															
PC	[Empty grid]															

# Mandíbula



Diente	48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38
IPB <sup>3</sup>																
IG <sup>4</sup>																
RH																
S <sup>1</sup>																
CS <sup>1</sup> / CI																
PS	MV															
	V															
	DV															
	ML															
	L															
	DL															
NIC																
Furca																
Movilidad <sup>1</sup>																

## Diagnóstico:

Gingivitis																
PL																
PG																
PC																

**IPB:** Índice de placa bacteriana; **IG:** registro para índice gingival; **RH:** registro de hemorragia (+/-); **S:** supuración (+/-); **CS:** cálculo supragingival (+/-); **CI:** cálculo infragingival (+/-); **PS:** profundidad de sondaje (mm); **NIC:** nivel de inserción clínica (mm); **MV:** mesio-vestibular; **V:** vestibular; **DV:** disto-vestibular; **ML:** mesio-lingual; **L:** lingual; **DL:** disto-lingual; **PL:** periodontitis leve; **PG:** periodontitis grave; **PC:** periodontitis complicada. **LF:** Lesión de furca.

**Observaciones:**

---

---

---

**Higiene bucal:**

Cepillado dental: SI NO

- Frecuencia de cepillado por día:
- Uso de pasta dental: SI NO
- Tipo de cepillo:

Hilo dental: SI NO

- Frecuencia de uso por día:
- Tipo de hilo dental:

Colutorios o enjuagues: SI NO

- Frecuencia de uso por día:
- Tipo:

**Índice de placa <sup>(3)</sup>:**

**Índice gingival <sup>(4)</sup>:**

**Índice periodontal comunitario (CPI) <sup>(5)</sup>:**


**Estudios clínicos complementarios:**

---

---

---

**Diagnóstico:**

---

---

---

## Referencias bibliográficas

1. Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA. Carranza. Periodontología clínica. 10ª Edición. Ed. Mc Graw Hill Interamericana. México, 2010.
2. Müller HP, Heinecke A, Schaller N, Eger T. Masticatory mucosa in subjects with different periodontal phenotypes J Clin Periodontol 2000; 27: 621–626.
3. Silness J, Loe H. Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. Acta Odontol Scand 1964; 22:121–135.
4. Loe H. The gingival index, the plaque index and the retention index systems. J Periodontol 1967; 38: 610–616.
5. World Health Organization. Oral health surveys: basic methods. 4ª edición. Ginebra. WHO, 1997.

## **ANEXO 7**



Universidad Nacional de Córdoba

Facultad de Ciencias Médicas - Escuela de Nutrición

**ENCUESTA DE FRECUENCIA DE CONSUMO ALIMENTARIA**

Encuesta Nro.

**Datos Generales**

Encuestador:		Fecha: __/__/__
Apellido y Nombre:		
Dirección:		T.E.:

<b>1. Sexo:</b>	1. Masculino <input type="checkbox"/>	2. Femenino <input type="checkbox"/>
-----------------	---------------------------------------	--------------------------------------

<b>2. Edad:</b>	<input type="text"/> años	<b>3. Peso:</b> <input type="text"/>	<b>4. Talla:</b> <input type="text"/>
			<b>5. IMC:</b> <input type="text"/>

<b>6. Dieta habitual</b>	1. Omnívora <input type="checkbox"/>	4. Vegetariana <input type="checkbox"/>
	2. Lacto-ovo-vegetariana <input type="checkbox"/>	5. Macrobiótica <input type="checkbox"/>
	3. Lacto-vegetariana <input type="checkbox"/>	

**Cuestionario de frecuencia alimentaria**

Tipos de Alimentos	Consumo				Tamaño Porción		
	Nunca	Veces al mes	Veces a la semana	Veces al día	Pequeña	Mediana	Grande
Lácteos enteros y derivados							
Leche fluida							
Leche en polvo							
Leche chocolatada							
Yogur							
Yogur con cereales							

Yogur con frutas							
Postres							
Flanes							
Lácteos descremados y derivados	Nunca	Veces al mes	Veces a la semana	Veces al día	Pequeña	Mediana	Grande
Leche fluida							
Leche en polvo							
Leche chocolatada							
Yogur							
Yogur con cereales							
Yogur con frutas							
Postres							
Flanes							
Quesos	Nunca	Veces al mes	Veces a la semana	Veces al día	Pequeña	Mediana	Grande
Blanco entero							
Blanco descremado							
Tipo senda							
Port salut							
Cre moso							
Cre moso descremado							
Fundido (Adler, Tholem)							
Gruyere							
Parmesano, sardo, reggianito							
Ricota							
Huevos	Nunca	Veces al mes	Veces a la semana	Veces al día	Pequeña	Mediana	Grande
Entero							

Clara							
Yema							
Carne de vaca	Nunca	Veces al mes	Veces a la semana	Veces al día	Pequeña	Mediana	Grande
<u>Magra:</u>							
Bola de lomo - paleta							
Cuadril							
Jamón cuadrado							
Lomo, peceto							
Nalga							
<u>Grasa:</u>							
Asado de tira							
Costeleta							
Costilla							
Matambre							
Molida común							
Puchero							
Carne de ave	Nunca	Veces al mes	Veces a la semana	Veces al día	Pequeña	Mediana	Grande
Pollo con piel							
Pollo sin piel							
Menudos							
Carne de cerdo	Nunca	Veces al mes	Veces a la semana	Veces al día	Pequeña	Mediana	Grande
Costilla, costeleta							
Lomo, solomillo							
Paleta, pierna							
Pescado	Nunca	Veces al mes	Veces a la	Veces al día	Pequeña	Mediana	Grande

			seman a				
Dorado							
Merluza							
Pejerrey							
Otros: abadejo, congrio, palometa, surubí							
Pescado enlatado	Nunca	Veces al mes	Veces a la semana	Veces al día	Pequeña	Mediana	Grande
Atún al natural							
Atún al aceite							
Sardina al natural							
Sardina al aceite							
Caballa al natural							
Caballa al aceite							
Moluscos	Nunca	Veces al mes	Veces a la semana	Veces al día	Pequeña	Mediana	Grande
Almejas							
Berberechos							
Calamar							
Pulpos							
Crustáceos	Nunca	Veces al mes	Veces a la semana	Veces al día	Pequeña	Mediana	Grande
Camarón, cangrejo, langosta							
Vísceras	Nunca	Veces al mes	Veces a la semana	Veces al día	Pequeña	Mediana	Grande
Hígado							
Riñón							

Mollejas							
Chinchulines							
Lengua							
Mondongo							
Embutidos	Nunca	Veces al mes	Veces a la semana	Veces al día	Pequeña	Mediana	Grande
Salchichas							
Chorizo							
Morcilla							
Fiambres	Nunca	Veces al mes	Veces a la semana	Veces al día	Pequeña	Mediana	Grande
Jamón cocido							
Jamón crudo							
Paleta							
Bondiola							
Mortadela							
Salame							
Salchichón							
Panceta							
Queso de cerdo							
Picadillo de carne							
Paté de foie							
Vegetales	Nunca	Veces al mes	Veces a la semana	Veces al día	Pequeña	Mediana	Grande
Acelga							
Achicoria							
Apio							
Alcaucil							

Arvejas							
Batata							
Berenjena							
Berro							
Calabaza							
Chaucha							
Champiñones							
Choclo							
Espárrago							
Espinacas							
Hinojo							
Lechuga							
Nabo							
Papa							
Pepino							
Pimiento							
Radicheta							
Rabanito							
Remolacha							
Zanahoria							
Zapallito							
Zapallo							
Ajo							
Cebolla							
Cebolla de verdeo							
Puerro							
Brócoli							
Coliflor							
Repollo blanco							
Repollo rojo							
Repollito de Bruselas							

Tomate entero con cáscara							
Tomate entero pelado							
Derivados del tomate	Nunca	Veces al mes	Veces a la semana	Veces al día	Pequeña	Mediana	Grande
Ketchup							
Extracto de tomate							
Jugo de tomate							
Puré de tomate							
Salsa de tomate							
Sopa de tomate							
Tomates envasados al natural							
Tomates secos							
Hierbas aromáticas	Nunca	Veces al mes	Veces a la semana	Veces al día	Pequeña	Mediana	Grande
Varias							
Frutas	Nunca	Veces al mes	Veces a la semana	Veces al día	Pequeña	Mediana	Grande
Ananá							
Banana							
Cerezas							
Ciruelas							
Damasco							
Durazno							
Frutillas							
Higo							
Kiwi							
Mango							
Manzanas							

Melón							
Moras							
Peras							
Quinotos							
Sandía							
Uva							
Limón							
Naranja							
Mandarina							
Pomelo							
Palta							
Aceitunas							
Frutas enlatadas							
Frutas desecadas: orejones, pelones, pasas							
Jugos de frutas sin cáscara							
Jugos de frutas con cáscara							
Frutas secas	Nunca	Veces al mes	Veces a la semana	Veces al día	Pequeña	Mediana	Grande
Almendra							
Avellana, castaña							
Nuez							
Maní							
Legumbres	Nunca	Veces al mes	Veces a la semana	Veces al día	Pequeña	Mediana	Grande
Arvejas partidas							
Garbanzos							
Harinas							
Lentejas							

Porotos							
Soja							
Cereales	Nunca	Veces al mes	Veces a la semana	Veces al día	Pequeña	Mediana	Grande
Granos							
Copos cornflakes							
Pastas simples							
Pastas rellenas							
Pizza-Tartas							
Productos de panadería	Nunca	Veces al mes	Veces a la semana	Veces al día	Pequeña	Mediana	Grande
Pan blanco							
Pan integral							
Galletas de agua, grisines, tostadas de gluten							
Galletas de salvado comunes							
Galletas de salvado dietéticas							
Galletas dulces							
Criollitos, tortas fritas							
Facturas							
Bizcochuelo, tortas, tartas							
Pan casero							
Grasa animal	Nunca	Veces al mes	Veces a la semana	Veces al día	Pequeña	Mediana	Grande
Crema de leche							
Manteca							
Manteca dietética							
Grasa de cerdo							

Grasa de vaca							
Grasa vegetal	Nunca	Veces al mes	Veces a la semana	Veces al día	Pequeña	Mediana	Grande
Margarina							
Margarina dietética							
Aceite girasol							
Aceite maíz							
Aceite oliva							
Aceite de soja							
Aceite uva							
Aceite mezcla							
Aderezos	Nunca	Veces al mes	Veces a la semana	Veces al día	Pequeña	Mediana	Grande
Mayonesa							
Mayonesa dietética							
Salsa golf							
Salsa golf dietética							
Mostaza							
Azúcar-Edulcorantes	Nunca	Veces al mes	Veces a la semana	Veces al día	Pequeña	Mediana	Grande
Azúcar blanca							
Azúcar negra							
Edulcorantes naturales							
Edulcorantes sintéticos							
Dulces	Nunca	Veces al mes	Veces a la semana	Veces al día	Pequeña	Mediana	Grande
Jalea, mermelada, miel							
Dulce de leche							

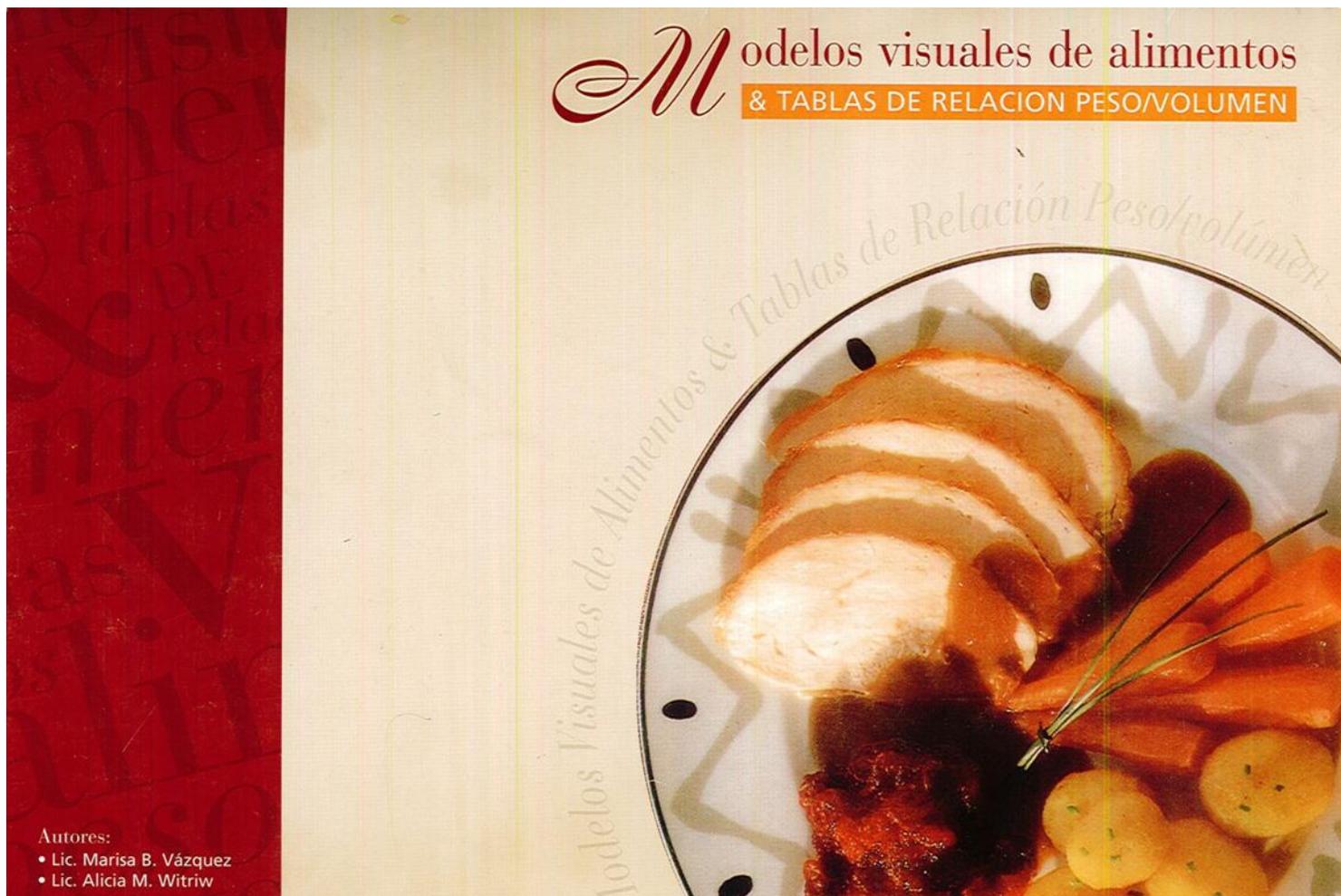
Dulce de leche dietético							
Batata, membrillo							
Bebidas	Nunca	Veces al mes	Veces a la semana	Veces al día	Pequeña	Mediana	Grande
Agua							
Gaseosas común							
Gaseosas light							
Jugos artificiales							
Vino blanco							
Vino tinto							
Bebidas blancas (ron, vodka, tequila, ginebra, grapa, caña, coñac, whisky)							
Espumantes (champagne, sidra, ananá fizz)							
Cerveza							
Fernet							
Café							
Malta							
Mate							
Té							
Té de hierbas							
Productos de copetín	Nunca	Veces al mes	Veces a la semana	Veces al día	Pequeña	Mediana	Grande
Papitas, conitos salados, etc.							
Palitos salados							
Chizitos							
Maní tostado							
Maíz inflado (salado-dulce)							
Golosinas	Nunca	Veces al mes	Veces a la	Veces al día	Pequeña	Mediana	Grande

			seman a				
Caramelos, chupetines							
Mantecol							
Alfajor							
Chocolate-Chocolatín							
Helados	Nunca	Veces al mes	Veces a la seman a	Veces al día	Pequeña	Mediana	Grande
De agua							
De crema							
Productos de soja	Nunca	Veces al mes	Veces a la seman a	Veces al día	Pequeña	Mediana	Grande
Jugo de soja							
Dulce de leche de soja							
Tofú							
Harina de soja							
Milanesa de soja							
Mayonesa de soja							
Salsa de soja							
Praliné de soja							
Pasta para relleno (lasagnas o canelones)							
Pan de soja							
Galleta de soja							
Otros productos elaborados de soja							
Suplementos con fitoestrógenos							
Lecitina de soja							
Productos que contengan proteína de soja (por ejemplo Ensure plus)							

Observaciones: indicar otros alimentos que no se encuentren en el listado.

Tipos de Alimentos	Consumo				Tamaño Porción		
	Nunca	Veces al mes	Veces a la semana	Veces al día	Pequeña	Mediana	Grande

## **ANEXO 8**



Vásquez MB, Witriw AM. Modelos visuales de alimentos y tablas de relación peso/volumen. 1ª ed. Buenos Aires: I.S.B.N; 1997. p. 1-42.

# Modelos visuales de alimentos

## PROLOGO E INDICE

El espíritu de este trabajo fue diseñar herramientas/instrumentos que faciliten la tarea profesional cotidiana: **Modelos Visuales de Alimentos**, en diferentes porciones habitualmente consumidos y **Tablas de relación peso/volumen**.

Los **Modelos Visuales de Alimentos** fueron realizados por método fotográfico y en película color. Las **Tablas de relación peso/volumen** fueron obtenidas por la pesada de los diferentes alimentos en una balanza marca OHB, Nº 2808. Al inicio y al término de las pesadas la balanza fue estandarizada con pesas de diferentes gramajes.

Nos sirvieron de soporte bibliográfico:

- "Vikttabeler för livsmedel och maträtter, Stantens Livsmedelsverk", 1988.
- "Food Code and Nutrient Data Base for CSDII", 1994. Agricultural Research Service, U.S. Department of Agriculture

	Cereales	
	Hortalizas	
	Frutas	
	Carnes	
	Tablas de relación peso/volumen	



*María Vázquez*

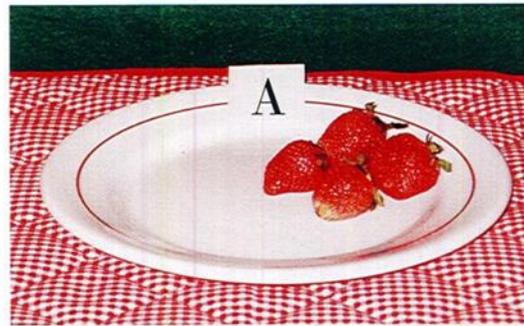
María Vázquez  
Licenciada en Nutrición  
Encargada de Enseñanza  
Esc. Nutricionistas (U.B.A.)



*Alicia M. Witriw*

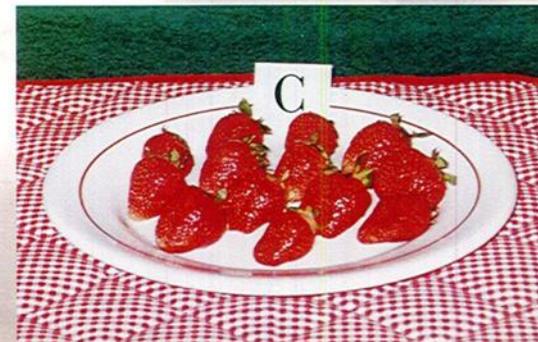
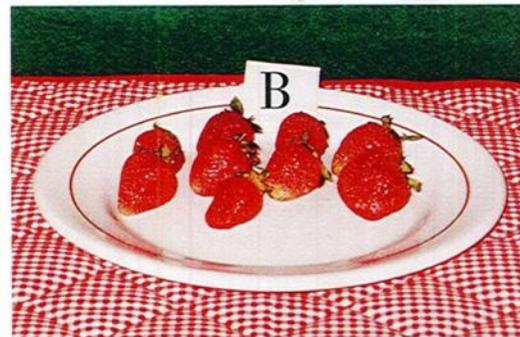
Alicia M. Witriw  
Licenciada en Nutrición  
Ayudante docente  
Esc. Nutricionistas (U.B.A.)

Agradecemos a la Escuela de Nutricionistas (U.B.A.), y a su directora, Prof. Lic. Hilda L. de Schenna, por haber confiado y comprendido el espíritu de este trabajo, permitiéndonos realizarlo en esa institución; a la Fundación Facultad de Medicina (U.B.A.) por los fondos aportados que ayudaron parcialmente en la realización de este trabajo; y en forma especial a Fernando, Mariano y Cecilia Ibarra; y a Magdalena, Eugenio y Diego Witriw.



A: porción 50 g.  
B: porción 100 g.  
C: porción 150 g.

PLATO DE 23 cm. DE DIAMETRO



## **ANEXO 9**

## **INSTRUCTIVO PARA LA RECOLECCIÓN DE SALIVA**

Usted está recibiendo un conjunto de elementos que le permitirán recolectar una muestra de saliva para la investigación a la cual ha sido invitado.

### **¿Qué elementos recibirá?**

- 1 recipiente con tapa (para recolectar la saliva)
- 1 gel refrigerante (que debe permanecer en congelador o *freezer* hasta su uso)
- 1 banda elástica (para sujetar el gel al recipiente)
- Hilo dental (para realizar la higiene del día previo a la recolección)
- 1 bolsa plástica
- Instrucciones

### **¿Cómo realizar la recolección de saliva?**

La muestra de saliva debe ser recogida entre las 8:00 y 10:00 horas, después de un mínimo de 6 horas de ayuno, sin actividad física, ni higiene bucal previa:

- *Al levantarse, **NO** debe cepillarse los dientes, ni enjuagarse la boca con agua u otro producto.*
- ***Sí** debe cepillarse muy bien los dientes la noche previa, y utilizar también el hilo dental entregado. **NO** debe utilizar pasta dental.*

Para iniciar la recolección de saliva usted deberá estar cómodamente sentado, relajado, con su cabeza inclinada hacia adelante, dejando fluir la saliva en el recipiente hasta alcanzar la marca del recipiente.

Inmediatamente después de finalizada la recolección, debe tapar el frasco y colocarlo en la bolsa plástica en contacto con el refrigerante congelado (unidos mediante una banda elástica) para entregarla rápidamente al investigador (lugar y hora previamente acordados).