

DETERMINACIÓN DE SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS EN LESIONES DE PACIENTES CON ESTOMATITIS AFTOSA RECURRENTE.

Recibido para publicación: 15/04/2007

Aceptado para publicación: 08/05/2007

- **Gutierrez R.** Maestría de Medicina Estomatológica, Facultad de Odontología, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.
- **Correnti M.** Jefe del Laboratorio de Genética, Instituto de Oncología y Hematología, Ministerio de Salud y Desarrollo Social, Caracas, Venezuela. Profesor Agregado, Jefe del Centro de Biotecnología aplicado a la Odontología, Instituto de Investigaciones Odontológicas Raul Vincentelli, Facultad de Odontología, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.
- **Perrone M.** Profesor Titular, Jefe del Laboratorio de Microbiología, Instituto de Investigaciones Odontológicas Raul Vincentelli, Facultad de Odontología, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.
- **De Guglielmo Z.** Laboratorio de Genética, Instituto de Oncología y Hematología, Ministerio de Salud y Desarrollo Social, Caracas, Venezuela.

RESUMEN

La Estomatitis Aftosa Recurrente (EAR) es una de las enfermedades más comunes a nivel de la cavidad bucal. Esta puede presentarse bajo tres formas clínicas diferentes, menor que es la más prevalente, mayor y herpetiforme. Sin embargo, hasta el presente no ha sido bien establecida su etiología, aunque algunas evidencias indican que los pacientes afectados con esta condición, tienen una respuesta inmune celular defectuosa. El objetivo de la presente investigación fue evaluar las subpoblaciones de linfocitos T ayudadores-inductores CD4+ y linfocitos T citotóxicos CD8+ en pacientes con distintos tipos de Estomatitis Aftosa Recurrente. Se evaluaron 19 pacientes, 15 con EAR Menor y 4 tenían EAR Mayor. El grupo control incluyó muestras de encía de diez pacientes sin historia de EAR. A cada uno de los pacientes le fue realizada una biopsia de la lesión y todas fueron procesadas con técnicas de inmunohistoquímica, empleando el método Avidina-Biotina Inmunoperoxidasa. Se observó un marcado aumento en las subpoblaciones de linfocitos en los pacientes con EAR, en comparación con el grupo control. Los resultados sugieren la implicación de los linfocitos T, y por tanto, de una respuesta inmune mediada por células activadas en la patogénesis de la EAR

PALABRAS CLAVES: Estomatitis Aftosa Recurrente, Inmunidad celular.

Abstract

Recurrent aphthous stomatitis (RAS) is one of the most common oral mucosal diseases known. It presents as three types: minor (most prevalent), major and herpetiform. However, not true well established its etiology although, many evidences indicated that the patients affected with this condition have a defectuous celular immune response. The objective of this study was the determination of the lymphocytes subpopulations T CD4+ and T CD8+ in patients with RAS. We evaluated 19 patients, 15 with minor RAS and 4 with major RAS. As a control group we included 10 patients without RAS. We obtained a biopsy of each patient, that was procesed by immunohistochemistry. We observed a very high amount of lymphocytes subpopulations in the patients with RAS in comparison with the control group. The results suggested the association of the T lymphocytes and the the celular immune response in the pathogenesis of the RAS

I. INTRODUCCIÓN

La Estomatitis Aftosa Recurrente (EAR) es una enfermedad común en humanos. Dentro de la cavidad bucal, es la afección ulcerativa más frecuente de los tejidos blandos de las mucosas.

Estas ulceraciones están caracterizadas por ser dolorosas, superficiales, solitarias o múltiples limitadas a la mucosa no queratinizada. Pueden dificultar actividades tales como hablar, comer y deglutir, afectando negativamente la calidad de vida del paciente. Sus síntomas son exacerbados y a menudo debilitantes en individuos inmunosuprimidos. (1, 2, 3)

A pesar de la prevalencia de la EAR, la etiología de la enfermedad no está clara y resulta un enigma para los investigadores, ya que lesiones clínicas asociadas con gran número de procesos locales y sistémicos muy dispares, muestran los mismos rasgos histopatológicos (4).

La etiología es muy controversial. Se considera multifactorial, aunque todavía no está aclarado su mecanismo etiopatogénico. La mayoría de las investigaciones considera los factores inmunológicos como responsables directos o indirectos favorecedores de la aparición de las lesiones.

En este sentido varios autores (5, 6) señalan la probable existencia de un fenómeno de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos, que en personas genéticamente predispuestas y en presencia de una serie de factores asociados, desencadenarían las aftas.

La mayoría de los pacientes con EAR están por lo demás sanos, y aunque esta enfermedad es una entidad aislada, en algunos pacientes, se asocia con procesos sistémicos, siendo los más comúnmente relacionados, el síndrome de Behçet y los trastornos de mala absorción gastrointestinal crónica, especialmente la enfermedad de Crohn y la enteropatía sensible al gluten (enfermedad celiaca) (7).

A menudo, los síndromes de malabsorción son leves o incluso, asintomáticos, pero aun así, parecen capaces de producir deficiencias nutricionales de ácido fólico, vitamina B12 y hierro, todas han sido relacionadas con úlceras aftosas recidivantes crónicas (8).

Otras condiciones se han planteado tales como alteraciones hormonales, estrés, traumatismo, hipersensibilidad a productos alimenticios, deficiencias de vitamina B12, ácido fólico y hierro; aunque ninguna se considera como factor primario importante para el desarrollo de las aftas, cualquiera puede tener un papel modificador o desencadenante (9). También existen reportes que involucran factores genéticos y microbiológicos. Algunos investigadores han observado una asociación entre EAR y la reactivación del virus varicela-zoster y citomegalovirus (10).

La evidencia inmunológica más importante indica que los individuos afectados por esta enfermedad, podrían sufrir un defecto de la respuesta inmunitaria mediada por células. Existen estudios que indican que en las etapas muy tempranas de la afección, pueden observarse linfocitos T CD4, a los que se les adjudica una función de mediadora de la inflamación. Se ha detectado que las células basales del área afectada expresan de una manera temprana antígenos leucocitarios humanos HLA-DR, lo que sugiere también un papel para estas células. Puesto que se requieren antígenos HLA-DR para presentar un antígeno a las células inmunocompetentes, podría especularse que estas células son autoantígenos que se presentan a los linfocitos T infiltrantes, lo cual conduciría a la destrucción de las células basales. (11, 12)

El principal apoyo para una base inmunitaria se relaciona con alteraciones del número de los subtipos de células T en la sangre periférica en comparación con los controles. Los individuos con EAR muestran una relación alterada de células CD4 y CD8, habiéndose demostrado un aumento de linfocitos T (CD8) en pacientes con EAR (13, 14, 15).

Existe evidencia sustancial que indica que la EAR es resultado de una respuesta inmune predominantemente mediada por células y en base a los reportes anteriores, en la actualidad se piensa que la EAR depende de una disfunción inmunológica local, en la cual los linfocitos T desempeñan una función significativa. Sin embargo, la naturaleza del estímulo que inicia el proceso aún es un enigma. El agente causante puede ser un antígeno endógeno (autoinmunitario) o exógeno (hiperinmunitario) o podría ser un factor inespecífico como el traumatismo, en el cual pueden estar implicados mediadores químicos propios de la respuesta inmunitaria.

Considerando que en la actualidad numerosas investigaciones acerca de la etiología de la EAR se centran en anomalías inmunitarias, el objetivo del presente estudio fue evaluar las subpoblaciones de linfocitos T ayudadores-inductores CD4+ y linfocitos T citotóxicos CD8+ en pacientes con distintos tipos de Estomatitis Aftosa Recurrente.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Grupo de estudio

Se incluyeron 19 pacientes tratados en el Servicio de Clínica Estomatológica de la Facultad de Odontología de la Universidad Central de Venezuela, de los cuales 15 presentaban EAR Menor y 4 tenían EAR Mayor. El tipo de ulceración aftosa fue determinada de acuerdo al criterio de Lehner (1968). (16)

Todas las lesiones estaban en la etapa ulcerativa (6-8 días de evolución). Ninguno de los pacientes tuvo tratamiento previo para sus aftas.

El consentimiento informado por escrito fue obtenido de todos los pacientes y de los representantes de los menores de edad, previo a la toma de las muestras del grupo con EAR, de acuerdo al lineamiento sobre investigación implicando a sujetos humanos. (17)

El grupo control seleccionado al azar, incluyó muestras de encía de 10 pacientes sin historia de EAR, los cuales tenían

indicadas cirugías periodontales por razones protésicas o estéticas, referidos del Servicio de Periodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad Central de Venezuela.

Los criterios de exclusión para todos los pacientes fueron los siguientes:

1. Embarazo
2. Historia de alguna enfermedad sistémica en la cual la ulceración bucal pueda ser una característica, tales como: síndrome de Behçet, enfermedad celíaca, de Crohn y colitis ulcerativa.
3. Pacientes con tratamientos de corticosteroides, drogas inmunomoduladoras o citotóxicas.
4. Pacientes con VIH o SIDA.

A cada uno de los pacientes le fue removida la lesión empleando una técnica para biopsia excisional, las cuales fueron fijadas en la mezcla O.C.T. (Tissue-Tek, Lab-Tek Products, Miles Inc. USA) e inmediatamente fueron congeladas a una temperatura de -70° C hasta su procesamiento. Se realizaron cortes de 4 mm de espesor de cada una de las muestras, que fueron colocados en láminas porta-objetos, previamente desengrasadas, recubiertas con una sustancia adhesiva (Poli-L-Lisina/PLL). Los cortes fueron procesados por Inmunohistoquímica, usando el método Avidina-Biotina Inmunoperoxidasa (18, 19). Para la detección de los linfocitos T CD4+ y CD8+ se usaron como anticuerpos primarios, anticuerpos monoclonales comerciales (Dako), diluidos 1:50. Como anticuerpo secundario se usó la IgG biotinilada (BHAM biotinylated horse anti-mouse, Marca VECTOR) por su afinidad con el complejo ABC (Avidina-Biotina-Inmunoperoxidasa). La dilución del anticuerpo secundario fue de 1:30. Para el revelado de las láminas se utilizó la mezcla cromógeno-sustrato constituida por buffer acetato 0,1 M pH 5,3, AEC (solución de 3-amino-9-etil-carbazole) diluido en dimetilformamida y peróxido de hidrógeno al 3%, por 7-10 min. Se lavaron las láminas una por una con agua corriente. Se colorearon los cortes con Hematoxilina de Mayer por 1 min. Solo las muestras del grupo con EAR fueron teñidas con Hematoxilina-Eosina para el estudio histopatológico de rutina.

Para la cuantificación de los linfocitos T CD4+ y CD8+ se usó un microscopio de luz y un monitor, el cual está calibrado para determinar el número de células por mm^2 a una magnificación de 40x. Se consideraron como positivas solo las células que presentaban núcleo coloreado de rojo parduzco (18).

Análisis estadístico

Los datos fueron procesados utilizando los programas Excel Microsoft Office XP y SPSS 11.0, Para las variables cuantitativas: Media aritmética y la desviación estándar y para las variables cualitativas: la Mediana y el porcentaje.

Para la comparación entre los datos obtenidos y con el fin de estudiar la existencia de las diferencias estadísticamente significativas se usaron las siguientes medidas: la prueba t de Student, con el fin de comparar los promedios; Kruskal-Wallis para comparar las medianas y la prueba Chi^2 para comparar los porcentajes. Se consideró como nivel de significancia estadística ($p < 0.05$).

RESULTADOS

Se evaluaron 29 individuos, que fueron seleccionados del Servicio de Clínica Estomatológica y Periodoncia de la Facultad de Odontología, de los cuales 19 pacientes presentaban Estomatitis Aftosa Recurrente, éstos formaron el grupo con lesión y 10 individuos sanos, los cuales conformaron el grupo control, respectivamente. En el presente estudio se observó que el promedio de edad del grupo con lesión fue de 39.58 ± 9.33 años ($X \pm \text{EMS}$). Este grupo abarcó un rango de edades desde 9 hasta 82 años. El grupo control presentó un promedio de 34.40 ± 11.47 años ($X \pm \text{EMS}$). No se observaron diferencias estadísticamente significativas en los promedios de edad de los dos grupos.

Con respecto al género el grupo con lesión incluyó 19 pacientes, 13 del género femenino (68.42%) y 6 del masculino (31.58%). En el grupo control 8 fueron del género femenino (80%) y 2 del masculino (20%). Para los dos grupos evaluados predominaron los pacientes del género femenino.

La distribución del grupo de pacientes con lesión según el tipo de Estomatitis Aftosa Recurrente indica que se presentaron dos de los tres tipos de Estomatitis Aftosa Recurrente: el tipo Mayor (EAR Mayor) y la Menor (EAR Menor) (Fotos N° 1a, 1b y 2). No se presentó ningún caso del tipo Herpetiforme.



Foto N° 1a
Estomatitis Aftosa Menor



Foto N° 1b
Estomatitis Aftosa Menor



Foto N° 2
Estomatitis Aftosa Mayor

En cuanto a la distribución de los tipos de EAR: el 78.95% de casos fueron del tipo Menor (15/19) y el 21.05% de los casos del Mayor (4/19).

Referente a la distribución del grupo de pacientes con lesión por género y tipo de Estomatitis Aftosa Recurrente se detectó que de los pacientes con el tipo de EAR Menor, el 52.6% de fueron del género femenino (10/15), mientras que el 26.3% conformaron el género masculino (5/15).

De los pacientes con el tipo de EAR Mayor: el 15.8% de ellos correspondieron al género femenino (3/4) y solo el 5.3% de los pacientes fueron del género masculino (1/4) (Gráfico N° 1). Con respecto a la distribución del grupo de pacientes con lesión según la localización de la EAR. los mismos están representados en la Tabla N°1.

Gráfico N°1



Tabla N° 1
Frecuencia de pacientes con Estomatitis Aftosa Recurrente según la localización de la lesión.

LOCALIZACION	FRECUENCIA	PORCENTAJE
Cara interna de carrillo y Cara interna de labio	5	26.3%
Cara interna de labio y lengua	5	26.3%
Cara interna de carrillo	3	15.8%
Cara interna de carrillo y lengua	2	10.5%
Cara interna de carrillo y Fondo del vestibulo	1	5.3%
Cara interna de labio	1	5.3%
Cara interna de labio y Fondo del vestibulo	1	5.3%
Cara interna de carrillo, Cara interna de labio y Cara ventral de lengua	1	5.3%
TOTAL	19	100%

Considerando los hábitos del grupo de pacientes con lesión, un paciente refirió el consumo frecuente de gomas de mascar con sabor a menta y canela, representando el 20.0% (2/19), y otro 1/19) señaló que ingería dos cervezas diariamente. No se detectaron pacientes que consumieran tabaco

El estudio histopatológico determinó úlcera crónica inespecífica. El diagnóstico microscópico de todas las lesiones fue similar y se describe: ausencia total o parcial del epitelio, infiltrado inflamatorio subepitelial y en la lámina propia predominantemente linfocitos y plasmocitos, con algunos eosinófilos. También se observó presencia de material fibrinoide, necrosis y la base de la úlcera con abundantes leucocitos polimorfonucleares neutrófilos (Fotos N° 3, 4, 5, 6).

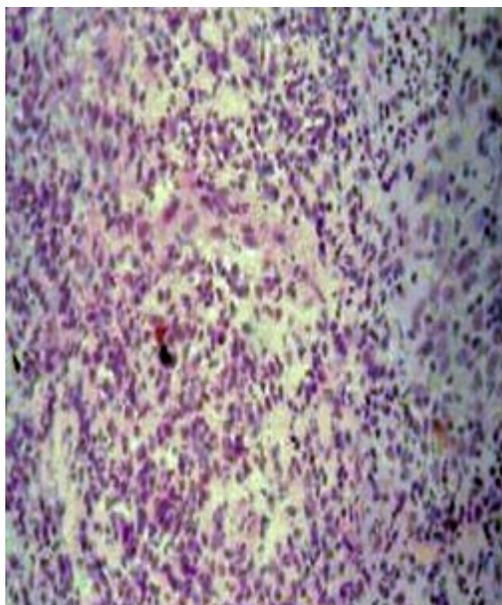


Foto N° 3- Infiltrado crónico

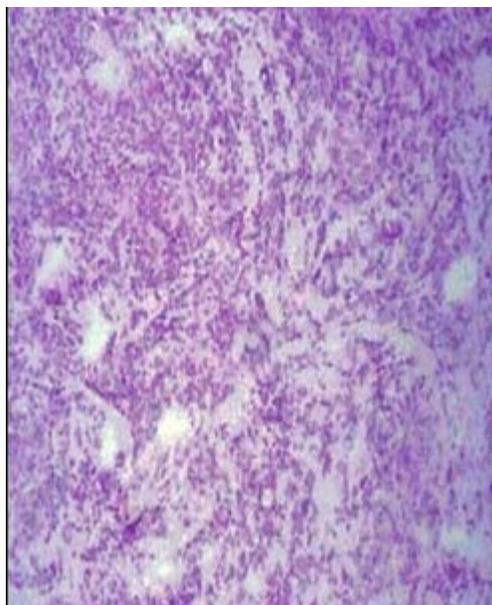


Foto N° 4 - Infiltrado Mixto

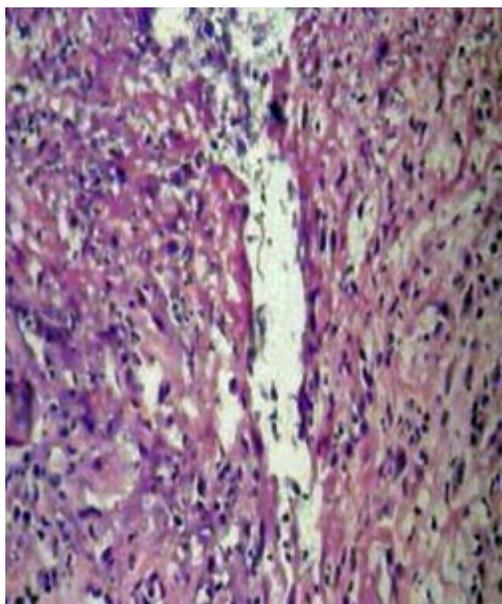


Foto N° 5 Necrosis, Fibrina e Infiltrado

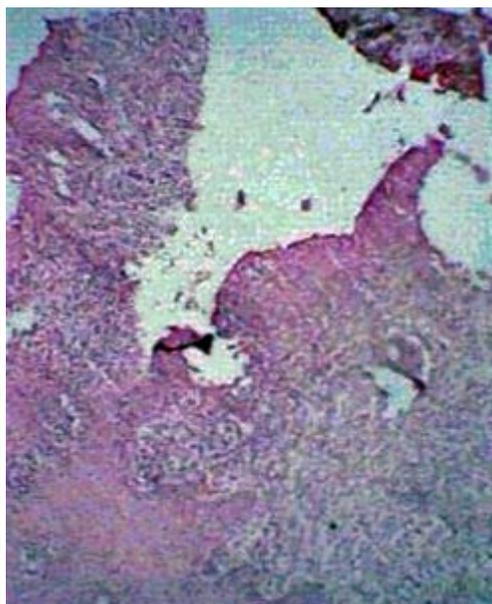


Foto N° 6 Base Úlcera e Infiltrado

Para los linfocitos T ayudadores-inductores CD4+ y linfocitos T citotóxicos CD8+, en tejidos de pacientes con Estomatitis Aftosa Recurrente y en el grupo control sano los valores fueron expresados como los promedios de las células por $\text{mm}^2 \pm$ el error estándar de la media ($x \pm \text{ESM}$).

Densidad de linfocito T citotóxico CD8+: Se destacó la presencia de un gran número de linfocitos T CD8+, en el corion de los tejidos de los pacientes con Estomatitis Aftosa Recurrente (Fotos N° 7 y 8). Igualmente se observaron muchos linfocitos T CD8+ en el epitelio. La densidad promedio de los linfocitos T CD8+ fue de $1089.9 \pm 143.7 \text{ cel/mm}^2$ ($x \pm \text{ESM}$)

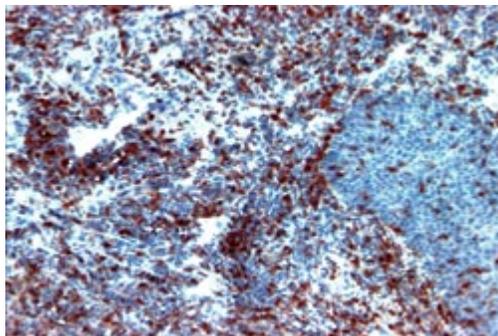


Foto N° 7
Linfocitos T citotóxicos CD8+ en tejido de Estomatitis Aftosa Recurrente 10X

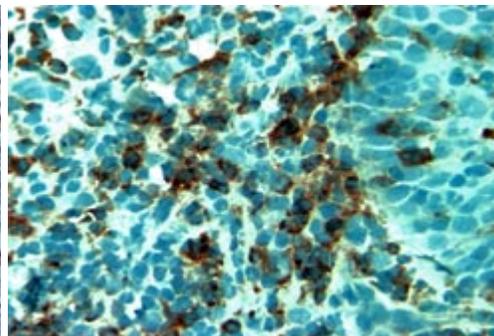


Foto N° 8
Linfocitos T citotóxicos CD8+ en tejido de Estomatitis Aftosa Recurrente 40X

En relación al grupo control se observaron escasas células en el corion y se encontró que la densidad promedio fue de $85.9 \pm 13.1 \text{ cel/mm}^2$ ($x \pm \text{ESM}$). Esto permite decir que, el grupo con lesión presentó un valor de densidad promedio de linfocitos T CD8+, mayor al del grupo control y la diferencia entre ambos valores es estadísticamente significativa ($p < 0.05$).

Densidad de linfocito T cooperador-inductor CD4+: En los tejidos de los pacientes con Estomatitis Aftosa Recurrente, se presentó gran cantidad de linfocitos T CD4+ localizados en el corion, pero escasas células en el epitelio (Fotos N° 9 y 10). La densidad promedio de los linfocitos T CD4+ fue de $986.8 \pm 121.7 \text{ cel/mm}^2$ ($x \pm \text{ESM}$). (Gráfico N° 2)

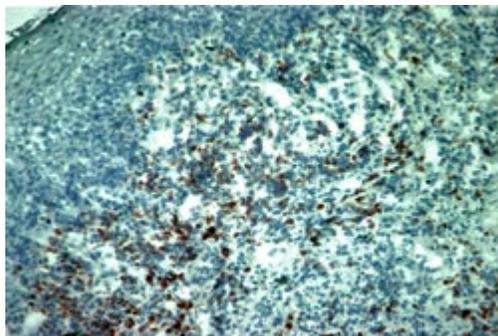


Foto N° 9
Linfocitos T ayudadores-inductores CD4+ en tejido de Estomatitis Aftosa Recurrente 10X

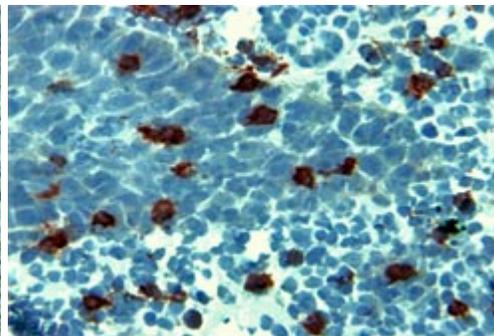
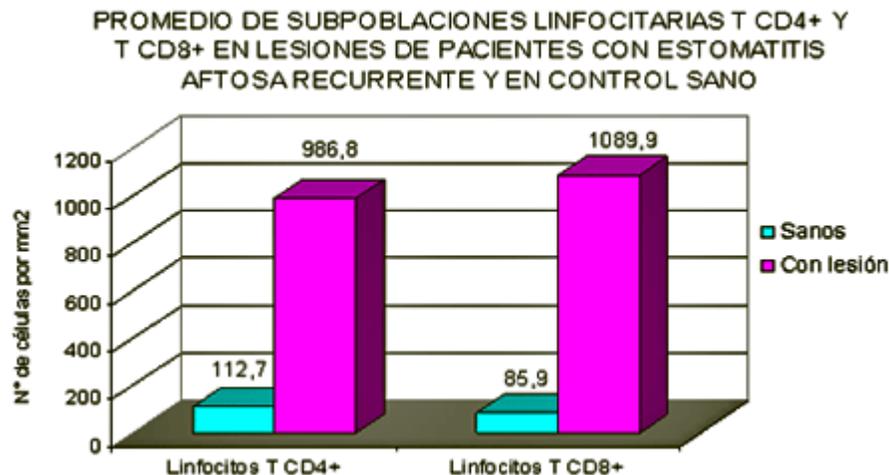


Foto N° 10
Linfocitos T ayudadores-inductores CD4+ en tejido de Estomatitis Aftosa Recurrente 40X

Gráfico N°2

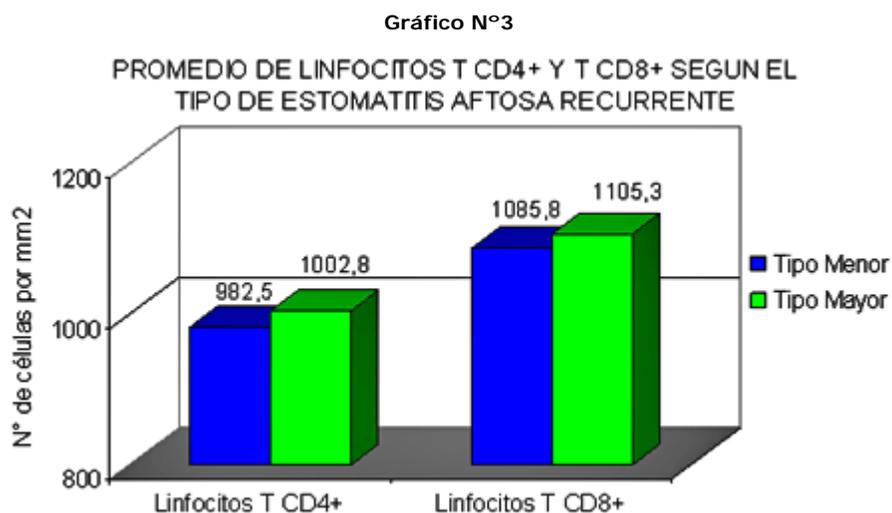


Respecto al grupo control, se observaron escasos linfocitos T CD4+ en el corion cercano al epitelio. Se encontró que la densidad promedio fue de 112.7 ± 16.1 cel/mm² ($x \pm$ ESM). Esto permite decir que, el grupo con lesión presentó un valor de densidad promedio de linfocitos T CD4+, mayor al del grupo control y la diferencia entre ambos valores es estadísticamente significativa ($p < 0.05$) (Gráfico N° 2).

Relación entre las subpoblaciones linfocitarias CD4+/ CD8+: Cuando analizamos la proporción de los linfocitos T CD4+/CD8+ el valor del grupo con lesión fue 0.91, éste es menor y con diferencia estadísticamente significativa al valor de la proporción de los pacientes del grupo control, la cual fue de 1.31 ($p < 0.05$).

Densidad de las subpoblaciones linfocitarias T CD4+ y T CD8+ según el tipo de Estomatitis Aftosa Recurrente: cuando determinamos los linfocitos T CD4+ y T CD8+ encontramos que en cuanto a los linfocitos T CD4+, la densidad promedio para la EAR Menor fue de 982.5 ± 137.3 cel/mm² ($x \pm$ ESM) y para el tipo Mayor de 1002.8 ± 21.5 cel/mm² ($x \pm$ ESM). En lo referente a los linfocitos T CD8+, la densidad promedio para la EAR Menor fue de 1085.8 ± 159.4 cel/mm² ($x \pm$ ESM) y para el tipo Mayor de 1105.3 ± 70.6 cel/mm² ($x \pm$ ESM).

Aún cuando en ambos casos la densidad promedio fue mayor en la EAR Mayor, no se encontró entre ambos tipos diferencias estadísticamente significativas (Gráfico N° 3).



V. DISCUSIÓN

La Estomatitis Aftosa Recurrente es una enfermedad muy común que afecta la mucosa bucal no queratinizada. Está caracterizada por úlceras dolorosas periódicas, simples o múltiples que sanan espontáneamente. Varios factores predisponentes han sido implicados, pero a pesar de las extensivas investigaciones, el agente etiológico no ha sido identificado.

Al respecto algunos autores han señalado el rol de la inmunidad celular específicamente un incremento de la citotoxicidad celular en las etapas iniciales de esta enfermedad. (20, 21,22)

En este estudio fueron evaluados 19 pacientes con Estomatitis Aftosa Recurrente de los cuales el 68.4% pertenecían al género femenino y el 31.6% al masculino, con una proporción de 2.2: 1. Otros estudios han demostrado el predominio de estas lesiones en el género femenino (23, 24, 25).

Aunque, otros reportes de prevalencia exponen que los hombres y las mujeres están igualmente afectados. (26, 27)

En el presente estudio el rango de edad de los pacientes con EAR comprendió edades desde los 9 años hasta 82 años, siendo el promedio de 39.58 ± 9.33 años. Es importante notar que la enfermedad se presentó en un rango amplio, entre ellos un niño, un adolescente, tres adultos jóvenes hasta un paciente de edad avanzada, coincidiendo estos resultados reportados por otros autores 27, donde la EAR tenía una prevalencia más alta en adultos jóvenes, disminuyendo tanto en incidencia como en severidad con la edad.

De acuerdo a los tipos de Estomatitis Aftosa Recurrente en el grupo estudiado, el 78.95% de los casos fueron del tipo Menor y solamente se presentaron 4 casos del tipo Mayor (21.05%). Los resultados obtenidos son similares a otros reportes (27, 28, 29, 30, 31, 32) en los cuales la EAR Menor era el subtipo más común.

Cuando se relacionó el tipo de Estomatitis Aftosa Recurrente con el género, se reportó una mayor incidencia en el género femenino tanto para la EAR del tipo Menor (10/15) como para el tipo Mayor (3/4). En cuanto al género masculino, 5/15 pacientes presentaron el tipo Menor y solo un paciente presentó la EAR tipo Mayor. En base a estos resultados podemos sugerir que estas lesiones se presentan con mayor frecuencia en el género femenino, pero también se pudiera inferir que las mujeres acuden con mayor frecuencia a los servicios odontológicos y además muestran más preocupación por su salud bucal.

En cuanto a los sitios de localización de las lesiones según el tipo de EAR, los estudios realizados por diversos investigadores, (5, 8, 32) reportan que las lesiones ocurren casi exclusivamente en las superficies no queratinizadas móviles, tales como la mucosa labial y bucal, superficie ventral o lateral de la lengua y piso de la boca en la EAR de tipo Menor. La EAR de tipo Mayor tiende a presentarse en la mucosa labial, paladar blando, fauces y úvula, pero puede afectar cualquier sitio. La EAR de tipo Herpetiforme no tiene predilección en cuanto a la localización y pueden presentarse en cualquier parte de la mucosa. Las regiones de la mucosa bucal queratinizada, tales como el paladar duro, la encía y la superficie dorsal de la lengua, son sitios raros de presentación.

Estos datos están en concordancia con nuestros resultados, en los que se puede apreciar que la Estomatitis Aftosa Recurrente, se presentó con mayor frecuencia en las áreas de mucosa no queratinizada como la cara interna de carrillo, cara interna de labio y cara ventral/bordes de la lengua. Relacionando la localización con los tipos de EAR, tanto para el tipo Menor como para el tipo Mayor, las lesiones se localizaron en las mismas regiones antes mencionadas sin predilección en cuanto a la localización con los tipos presentados.

El diagnóstico de la EAR fue realizado principalmente por la historia, presentación clínica y la exclusión de otros trastornos ulcerativos que pueden asemejarse a las aftas. Por lo que se realizó una completa anamnesis donde se registró toda la sintomatología referida por los pacientes. La totalidad de ellos manifestaron dolor, recurrencia, molestia para hablar y a veces para comer. Además su presencia es fuente de mucha preocupación y ansiedad.

Al analizar los hábitos psicosociales en nuestra población, una minoría de pacientes manifestaron hábitos, entre ellos solo un paciente del género masculino manifestó ingerir aproximadamente dos cervezas diariamente y otro paciente del mismo género refirió el uso frecuente de gomas de mascar (chicle) con sabor a menta y canela. El papel del consumo de bebidas alcohólicas en la etiología de la Estomatitis Aftosa Recurrente es difícil de establecer y en este caso los resultados no permiten dar conclusiones a este respecto.

Referente al hábito de masticar chicle y otros alimentos ingeridos, algunos investigadores han postulado que ciertos aditivos pueden actuar como alérgenos y precipitar la aparición de la EAR. (33,34). Sin embargo, otros estudios han fallado para documentar cualquier asociación entre la EAR y esos alimentos. (35)

Los linfocitos son el tipo de célula predominante en las lesiones de la EAR. Cuando se ha evaluado la función del linfocito, se ha reportado que ni la hipersensibilidad mediada por células para los estreptococos o antígenos virales, ni la reactividad cruzada entre la mucosa bucal y los antígenos de los estreptococos, sean probablemente los que jueguen un papel en la

patogénesis de la EAR. (36)

Estos datos apoyan la hipótesis de un desequilibrio o defecto en la inmunidad de las sub-poblaciones celulares. Muchos estudios han mostrado un desequilibrio en la fracción de las células T en sangre periférica así como también en los subtipos de los linfocitos T. Se han evidenciado porcentajes reducidos de las células T CD4 y CD8 en sangre periférica (37, 38), pero los resultados son todavía controversiales.

Al analizar en la presente investigación los subtipos linfocitarios: linfocitos T CD4+ y CD8+, en muestras de tejido con EAR en etapa ulcerativa (15 del tipo Menor y 4 del tipo Mayor) y en el grupo control sano, los resultados demuestran un aumento estadísticamente significativo de los linfocitos T ayudadores-inductores CD4+ y de los linfocitos T citotóxicos CD8+, en las lesiones de Estomatitis Aftosa Recurrente, en relación con los controles saludables.

Los resultados presentados en este trabajo están en concordancia con los reportados por otros autores. (38, 39).

Los reportes previos sustentan que las células predominantes en el infiltrado celular de las lesiones de EAR en la etapa ulcerativa son los linfocitos T CD8+ y que éstos superan en número a los linfocitos T CD4+. Estas alteraciones en los subtipos de linfocitos también han sido mostradas en la sangre periférica de los pacientes con EAR en etapa ulcerativa. (12, 38, 39, 40, 41). No obstante, existen investigaciones que muestran una proporción mayor de linfocitos T CD4+ que CD8+. (42)

La inmunidad de la mucosa involucra muchos otros tipos de células que las investigadas en el presente estudio, como los linfocitos B, mastocitos, eosinófilos, neutrófilos, células de Langerhans, etc. Sin embargo, los estudios tanto en mucosa bucal como en sangre periférica, indican rasgos de inmunosupresión en los pacientes con EAR y parece que los cambios de los subtipos de los linfocitos T en la mucosa bucal, de alguna manera reflejan a los cambios periféricos. (38)

Muchos estudios realizados en sangre periférica de pacientes con EAR (38, 39, 43, 44) han reportado los porcentajes de los linfocitos T CD4+ periféricos consistentemente reducidos en los pacientes con EAR activa. Pareciera que esta disminución de las cifras de la CD4+ periférica también está reflejada en la mucosa no afectada de los pacientes con EAR.

En referencia a los niveles de los linfocitos T CD8+ periféricos, algunos autores (39, 43), han reportado como aumentados los porcentajes de la CD8+ en los pacientes con EAR, con una tendencia a un mayor incremento durante la EAR en la etapa ulcerativa inicial, por lo que parece que los cambios cuantitativos de la sub-población CD8+ periférica en los pacientes con EAR están mostrados no solamente en las áreas de ulceración sino en la mucosa bucal en general.

En contraste ha sido reportado (44) que los porcentajes de los linfocitos T CD8 en los pacientes con EAR activa, se mostraron sin cambios en comparación con la etapa de remisión de la enfermedad, así como con el control saludable.

En cuanto a la proporción de los linfocitos T CD4+/CD8+ en sangre periférica, ha sido reportada por los mismos autores estar reducida en los pacientes con EAR comparada con los grupos controles, lo cual coincide con los hallazgos del presente estudio. Al evaluar el grupo con lesión, la relación CD4+/CD8+ fue de 0.9, la cual fue menor y con diferencia estadísticamente significativa al valor de la proporción de los pacientes del grupo control, la cual fue de 1.3. De esta manera, los cambios de la proporción de los linfocitos T CD4+/CD8+ periféricos posiblemente también están presentes en la mucosa bucal.

Al analizar la distribución de las subpoblaciones linfocitarias de acuerdo al tipo de EAR, la del tipo Mayor presentó los mayores valores de densidad promedio de linfocitos T CD4+ y linfocitos T CD8+ por mm², aun cuando en ambos casos el promedio fue mayor en la EAR Mayor, no se encontró entre ambos tipos diferencias estadísticamente significativas., aunque no existen reportes previos para conocer la asociación entre los tipos de EAR (Mayor y Menor) y las subclases de linfocitos en muestras de tejido.

Algunos autores han reportado que los linfocitos T CD8+ en los pacientes con EAR, representa el subtipo citotóxico y que éste actúa como célula efectora en el daño de la mucosa bucal, y que depende de la severidad de las lesiones. (45)

En conclusión en el presente trabajo se observó un marcado aumento en el número de linfocitos T CD4+ y CD8+ en los pacientes con Estomatitis Aftosa Recurrente, en comparación con el grupo control, implicando a los linfocitos T y por lo tanto una respuesta inmune mediada por células activadas en la patogénesis de la EAR.

BIBLIOGRAFIA

1. Birek C, Grandhi R, McNeill K. Detection of *Helicobacter pylori* in oral *aphthous ulcers*. J Oral Pathol Med (1999); 28: 197-203.
2. Goncalves WC, Chi AC, Neville BW. Common oral lesions: Part I. Superficial mucosal lesions. Am

- Fam Physician. (2007); 75 (4): 501-7.
3. Greenberg MS; Pinto A. Etiology and management of recurrent aphthous stomatitis. *Curr Infect Dis Rep* (2003); 5(3): 194-198.
 4. Ship JA, Chavez EM, Doerr PA, Henson BS, Sarmadi M. Recurrent aphthous stomatitis. *Quint Int* (2000); 31: 95-112.
 5. Porter SR, Scully C, Pedersen A. Recurrent aphthous stomatitis. *Crit Rev Oral Biol Med* (1998); 9: 306-321.
 6. López Jornet P, Bermejo Fenoll A. Lesiones que cursan con úlceras, vesículas y ampollas en la mucosa bucal. En Bacosnes coord. *Manual de Odontología*. Trigo Ediciones, S.L. Smithkline Beecham, S.A. Madrid, (1998); 3005-3024.
 7. Sedghizadeh P, Shuler CF, Allen CM, Beck FM, Kalmar JR. Celiac disease and recurrent aphthous stomatitis: A report and review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* (2002); 94: 474-478.
 8. Neville BW, Damm DD, Allen CM, Bouquet JE. *Oral and maxillofacial pathology*. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders; (2002). p. 285-290.
 9. Woo SB, Sonis ST. Recurrent aphthous ulcers: a review of diagnosis and treatment. *J Am Dent Assoc* (1996); 127: 1202-1213.
 10. Pedersen A, Hornsleth A. Recurrent aphthous ulceration: A possible clinical manifestation of reactivation of varicella zoster or cytomegalovirus infection. *J Oral Pathol Med* (1993); 22: 64-68.
 11. Lindemann RA, Riviere GR, Sapp JP. Serum antibody responses to indigenous oral mucosal antigens and selected laboratory-maintained bacteria in recurrent aphthous ulceration. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* (1985); 59: 585-589.
 12. Savage NW, Mahanonda R, Seymour GJ, Bryson GJ, Collins RJ. The proportion of suppressor-inducer T-lymphocytes is reduced in recurrent aphthous stomatitis. *J Oral Pathol* (1988); 17: 293-297.
 13. Pedersen A, Klausen B, Hougen HP, Ryder LP. Peripheral lymphocyte subpopulations in recurrent aphthous ulceration. *Acta Odontol Scand* (1991); 49: 203-206.
 14. Savage NW, Seymour GJ. Specific lymphocytotoxic destruction of autologous epithelial cell targets in recurrent aphthous stomatitis. *Aust Dent J* (1994); 39: 98-104.
 15. Ratis G, Poccardi G, Scalabrini DR, Pomatto E, Vercellino V. Il linfocitogramma nelle stomatiti aftose ricorrenti. *Minerva Stomatol* (1991); 40: 45-49.
 16. Lehner T. Autoimmunity in oral diseases, with special reference to recurrent oral ulceration. *Proc R Soc Med* (1968); 61: 515-24
 17. Widdop FT. On informed consent in dentistry. *Aust Dent Assoc News Bull* (1991); Feb: 3.
 18. Tapia FJ, Caceres-Dittmar G, Sanchez MA, Fernandez CT, Rondón AJ, Convit J. Adhesion molecules in lesions of American cutaneous leishmaniasis. *Exp Dermatol* (1994); 3: 17-22.
 19. Hsu SM, Raine L, Fanger H. Use of Avidin-Biotin-Peroxidase Complex (ABC) in Immunoperoxidase techniques. *J Histochemistry Cytochemistry* (1981); 29 (4): 577-80.
 20. Mills MP, Mackler BF, Nelms DC, Peavy DL. Quantitative distribution of inflammatory cells in

- recurrent aphthous stomatitis. *J Dent Res* (1980); 59: 562-566.
21. Greenspan JS, Gadol N, Olson JA, Talal N. Antibody-dependent cellular cytotoxicity in recurrent aphthous ulceration. *Clin Exp Immunol* (1981); 44:603-610.
 22. Degalis P, Bagg J, Walker DM. Spontaneous migration and chemotactic activity of neutrophil polymorphonuclear leukocytes in recurrent aphthous ulceration. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* (1987); 64: 298-301.
 23. Axéll T. A prevalence study of oral mucosal lesions in an adult Swedish population. *Odont Rev* (1976); 27(36): 1-103.
 24. Pongissawaranun W, Laohapand PP. Epidemiologic study on recurrent aphthous stomatitis in a Thai dental patient population. *Community Dent Oral Epidemiol* (1991);19: 52-53.
 25. Field EA, Brookes V, Tyldesley WR. Recurrent aphthous ulceration in children -A review. *Int J Paed Dent* (1992); 2: 1-10.
 26. Bagán JV, Sanchis JM, Milian MA, Penarrocha M, Silvestre FJ. Recurrent aphthous stomatitis. A study of the clinical characteristics of lesions in 93 cases. *J Oral Pathol Med* (1991); 20: 395-397.
 27. Reichart PA. Oral mucosal lesions in a representative cross-sectional study of aging Germans. *Community Dent Oral Epidemiol* (2000); 28: 390-398.
 28. Rogers RS. Recurrent aphthous stomatitis: Clinical characteristics and associated associated systemic disorders. *Semin Cutan Med Surg* (1997); 16: 278-283.
 29. Porter SR, Hegarty A, Kaliakatsou F, Hodgson T, Scully C. Recurrent aphthous stomatitis. *Clin Dermatol* (2000); 18 (5) 569-578.
 30. CE Jr. Aphthous ulcers revisited. *J Am Dent Assoc* (2001);132: 72.
 31. Kim Y, Greenberg MS. Management of patients with severe oral mucosal disease. *Alpha Omegan* (2001); 94:18-23.
 32. Barrons R. Treatment strategies for recurrent oral aphthous ulcers. *Am J Health Syst Pharm* (2001); 58(1): 41-53.
 33. Nolan A, Mcintosh WB, Allam BF, Lamey PJ. Recurrent aphthous ulceration: Vitamin B1, B2, and B6 status and response to replacement therapy. *J Oral Pathol Med* (1991); 20: 389-391.
 34. Ogura M, Yamamoto T, Morita M, Wanatabe T. A case-control study on food intake of patients with recurrent aphthous stomatitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* (2001); 91:45-49.
 35. Eversole LR, Shopper TP, Chambers DW. Effects of suspected foodstuff challenging agents in the etiology of recurrent aphthous stomatitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* (1982); 54: 33-38.
 36. Greenspan JS, Gadol N, Olson JA, Hoover CI, Jacobsen PL, Shillitoe EJ, et al. Lymphocyte function in recurrent aphthous ulceration. *J Oral Pathol* (198); 14: 492-502.
 37. Qi J, Sun Z, Wei S. T-cell subsets and lymphocyte proliferation in recurrent oral ulcers. *Chin J Stomatol* (1995); 30: 292-294.
 38. Pedersen A, Hougen HP, Kenrad B. T-lymphocyte subsets in oral mucosa of patients with recurrent aphthous ulceration. *J Oral Pathol Med* (1992); 21: 176-180.

39. Kayavis I, Danilidis M, Albanidou-Farmaki E, Vergoulas G, Polymenidis Z, Papanayotou P. T-lymphocyte subsets in recurrent oral ulceration. A preliminary study. *J Oral Med* (1987); 42: 198-200.
40. Sun A, Chang JG, Chu CT, Liu BY, Yuan JH, Chiang CP. Preliminary evidence for an association of Epstein-Barr virus with pre-ulcerative oral lesions in patients with recurrent aphthous ulcers or Behçet's disease. *J Oral Pathol Med* (1998); 27: 168-175.
41. Pedersen A, Klausen B, Hougen HP, Stenvang JP. T-lymphocyte subsets in recurrent aphthous ulceration. *J Oral Pathol Med* (1989); 18: 59-60.
42. Häyrynen-Immonen R, Sorsa T, Pettila J, Könttinen Y, Teronen O, Malmström M. Effect of tetracyclines on collagenase activity in patients with recurrent aphthous ulcers. *J Oral Pathol Med* (1994); 23: 269-272.
43. Landesberg R, Fallon M, Insel R. Alterations of T helper/inducer and T suppressor/inducer cells in patients with recurrent aphthous ulcers. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* (1990); 69: 205-208.
44. Sistig S, Cekic-Arambasin A, Rabatic S, Vucicevic-Boras V, Kleinheinz J, Piffko J. Natural immunity in recurrent aphthous ulceration. *J Oral Pathol Med* (2001); 30: 275-280.
45. Bachtiar EW, Cornain S, Sioregar B, Raharjo TW. Decreased CD4+/CD8+ ratio in major type of recurrent aphthous ulcers: comparing major to minor types of ulcers. *Asian Pac J Allergy Immunol* (1998); 16(2-3): 75-79