

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
MAESTRÍA EN MEDICINA ESTOMATOLÓGICA

**DETECCIÓN DEL VIRUS EPSTEIN-BARR Y VIRUS
PAPILOMA HUMANO EN LESIONES DE LIQUEN PLANO BUCAL**

Trabajo especial presentado ante la
ilustre Universidad Central de
Venezuela por el Odontólogo Alven
Jesús A. Arreaza Indriago para optar
al título de Magíster Scientarium en
Medicina Estomatológica.

Caracas, 12 de Abril del 2005

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
MAESTRÍA EN MEDICINA ESTOMATOLÓGICA

**DETECCIÓN DEL VIRUS EPSTEIN-BARR Y VIRUS
PAPILOMA HUMANO EN LESIONES DE LIQUEN PLANO BUCAL**

Autor: Alven Jesús Antonio Arreaza Indirago.

Tutor: María Correnti.

Caracas, 12 de Abril del 2005

Aprobado en nombre de la
Universidad Central de Venezuela
por el siguiente jurado examinador:

(Coordinador)
NOMBRE Y APELLIDO
C.I.:

FIRMA

NOMBRE Y APELLIDO
C.I.:

FIRMA

NOMBRE Y APELLIDO
C.I.:

FIRMA

Observaciones:-----

Caracas, 12 de Abril del 2005

*PARA MI VIEJO;
QUIEN SEMBRÓ EN MI,
DESDE MUY JOVEN, LA SEMILLA
DE LA PASIÓN POR
LA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA*

AGRADECIMIENTOS

- A la Dra. Tina Correnti. ¿Cómo retribuirle todo el apoyo emocional, material e intelectual que ud. me ha dado durante estos cuatro años? Imposible; no hay nada material que pueda compararse con su cariño. Es un ejemplo de vida para mí. Que el Señor sea su recompensa.

- A la Lic. Maira Ávila. Gracias por tu paciencia al enseñarme. Eres una gran profesional.

- A mis “Madris” Janet Lazarde y Maria Victoria Lugo. Me llevo de la Maestría un tesoro: el haber compartido con uds. y el haberme enriquecido con su amistad. Gracias mil.

- A la Cátedra de Clínica Estomatológica de la Facultad de Odontología de la UCV, en la persona de su jefa la Dra. Yolanda Osorio. La Maestría sería imposible sin su apoyo y dedicación.

- A mis compañeras de Post-grado: Iriana, Alejandra y Gina. Por todos los recuerdos; las peleas, el cariño y el crecimiento. Son excelentes profesionales y contarán siempre con mi amistad.

- Al Instituto de Hematología y Oncología del Ministerio de Sanidad y Desarrollo Social.

- A todo el personal del Instituto de Biomedicina del Hospital José María Vargas. Son el complemento indispensable en nuestra formación como estomatólogos. Mil, mil, mil gracias.

- Al Instituto Anatomopatológico “José A. O’Daly” en la Facultad de Medicina de la Universidad Central de Venezuela.

- Al post-grado de Cirugía Bucal de la Facultad de Odontología de la UCV.

- Al Quirófano de Periodoncia de la Facultad de Odontología de la UCV.

- Al personal de las Bibliotecas: Foción Febres Cordero de la Facultad de Odontología de la UCV, la Biblioteca del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas y la Biblioteca de la Escuela de Psicología de la Facultad de Humanidades de la UCV.

- A mis Padres: Alven, Nilda y Hermelinda principales responsables de este logro que hoy alcanzo. Todo mi amor es para uds.

- A la Dra. Mariam Ulrich.

- A la Dra. Mariana Villarroel Dorrego. No solo eres una gran docente sino que también abriste con tus investigaciones un camino que esta tesis añora seguir. Me siento orgulloso de haber sido tu alumno

- A la Lic. Verónica Battista. Gracias por todo tu amor y tu apoyo durante esta tesis. Gracias a ella te conocí. Te amo.

- A la Lic. Benilda Feuillebois por sus correcciones y consejos en la aplicación del STAI.

- A la Familia Avilan-Basalo por el calor de hogar cuando el mío esta tan lejos.

- A mi nueva casa: la Cátedra de Farmacología y Terapéutica Odontológica. Elba, Alejandra y Eva; ¡Gracias! por el apoyo en los últimos pasos de la realización de ésta tesis.

- A mi Dios amado.

LISTA DE CONTENIDOS

	<u>Página</u>
INTRODUCCIÓN.....	1
REVISIÓN DE LA LITERATURA.....	6
Liquen Plano Bucal.....	6
Etiología.....	8
Epidemiología.....	15
Histopatología.....	16
Potencial Oncogénico.....	18
Tratamiento.....	21
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	26
Etiología viral.....	26
Aspectos Psicosomáticos.....	35
OBJETIVOS.....	54
Objetivos Generales.....	54
Objetivos Específicos.....	54
MATERIALES Y MÉTODOS.....	56
Cuestionario Psicométrico.....	58
Manejo Tisular.....	60
Extracción del ADN.....	61
Reacción en Cadena de la Polimerasa para VPH.....	63
Tipificación por digestión mediante enzimas de restricción.....	67

Reacción en Cadena de la Polimerasa para VEB.....	68
Análisis Estadístico.....	71
RESULTADOS.....	72
Distribución de los pacientes con liquen Plano Bucal y grupo control según la edad.....	72
Distribución de los pacientes con Liquen Plano Bucal y grupo control según el género.....	73
Distribución de los pacientes según los tipos de Liquen Plano Bucal.....	74
Distribución de los pacientes con Liquen Plano Bucal y grupo control según la sintomatología.....	77
Distribución de los pacientes con Liquen Plano Bucal y el grupo control según las manifestaciones extrabucales.....	79
Distribución de los pacientes con Liquen Plano Bucal y el grupo control según el hábito de fumar.....	80
Distribución de los pacientes con Liquen Plano Bucal y grupo control según la ingesta de medicamentos.....	83
Distribución de los pacientes con Liquen Plano Bucal y grupo control según la presencia de enfermedades sistémicas.....	85
Distribución de los pacientes con Liquen Plano Bucal según la localización de las lesiones.....	87
Evaluación Histopatológica de las lesiones de pacientes con Liquen Plano Bucal.....	90

Evaluación de la localización del fibrinógeno en las muestras de los pacientes con Liquen Plano Bucal por inmunofluorescencia	97
Evaluación de las moléculas del complemento C ₃ , C ₄ , C _{1q} y de los anticuerpos IgM, IgG e IgA por inmunofluorescencia en relación al tipo de Liquen Plano Bucal.....	98
Localización de la inmunopositividad para el fibrinógeno, los anticuerpos IgG, IgM e IgA y las moléculas del complemento C ₃ , C ₄ , C _{1q}	100
Pruebas serológicas de los pacientes con Liquen Plano Bucal	102
Análisis molecular del Virus Papiloma Humano en muestras de pacientes con Liquen Plano Bucal y grupo control mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa.....	104
Análisis molecular del Virus Epstein-Barr en muestras de pacientes con Liquen Plano Bucal y grupo control mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa.....	106
Detección del Virus Epstein-Barr por reacción en cadena de la Polimerasa en pacientes con Liquen Plano Bucal y grupo control	108
Distribución de los pacientes positivos para el Virus Epstein-Barr según el tipo de Liquen Plano Bucal.....	109

Distribución de los pacientes con Liquen Plano Bucal y grupo control positivos para el Virus Epstein-Barr según el hábito de tabáquico.....	110
Evaluación del estado psicoemocional de los pacientes con Liquen Plano Bucal y grupo control.....	112
Distribución de los pacientes según la escala del cuestionario de ansiedad Estado-Rango “STAI” (State-Trait Anxiety Inventory)	116
DISCUSIÓN.....	118
CONCLUSIONES.....	144
ANEXOS.....	176

LISTA DE GRÁFICOS

Página

Gráfico 1. Distribución de los pacientes con Liquen Plano Bucal (LPB) y grupo control según el género.....	73
Gráfico 2. Distribución de los pacientes con LPB y el grupo control según las manifestaciones extrabucales.....	81
Gráfico 3. Distribución de los pacientes con LPB y grupo control según el hábito de fumar.....	82
Gráfico 4. Distribución de los pacientes con Liquen Plano Bucal y grupo control según la ingesta de medicamentos.....	84
Gráfico 5. Distribución de los pacientes con LPB y grupo control según la presencia de enfermedades sistémicas.....	86
Gráfico 6. Distribución de los pacientes con Liquen Plano Bucal según la localización de las lesiones.....	88
Gráfico 7. Distribución de los pacientes con LPB y grupo control positivos para el Virus Epstein-Barr.....	109
Gráfico 8. Distribución de los pacientes positivos para VEB según el tipo de LPB.....	110
Gráfico 9. Distribución de los pacientes con Liquen Plano Bucal positivos para el VEB según el hábito tabáquico.....	111

Gráfico 10. Pregunta: ¿se siente normalmente calmado y seguro? Grupo con Liquen Plano Bucal.....	113
Gráfico 11. Pregunta: ¿se siente normalmente calmado y seguro? Grupo control.....	113
Gráfico 12. Pregunta: ¿se preocupa normalmente por desgracias futuras? Grupo con Liquen Plano Bucal.....	114
Gráfico 13. Pregunta: ¿se preocupa normalmente por desgracias futuras? Grupo control.....	114
Gráfico 14. Pregunta: ¿siente frecuentemente ganas de llorar? Grupo con Liquen Plano Bucal.....	115
Gráfico 15. Pregunta: ¿siente frecuentemente ganas de llorar? Grupo control.....	115
Gráfico 16. Cuestionario Ansiedad Estado-Rasgo en el grupo de pacientes con LPB y en el grupo control.....	117

LISTA DE TABLAS

Páginas

Tabla I. Distribución de los pacientes según los tipos de Liquen Plano Bucal.....	75
Tabla II. Distribución de los pacientes con Liquen Plano Bucal y el grupo control según la sintomatología.....	78
Tabla III. Enfermedades sistémicas según el tipo de Liquen Plano Bucal.....	86
Tabla IV. Evaluación histopatológica de las lesiones de pacientes con Liquen Plano Bucal.....	92
Tabla V. Inmunopositividad de las proteínas del complemento y de los anticuerpos IgG, IgM, e IgA por inmunofluorescencia directa en relación al tipo de Liquen Plano Bucal.....	99
Tabla VI. Localización de la inmunopositividad para IgM, IgG e IgA.....	101
Tabla VII. Localización de la inmunopositividad para fibrinógeno, C ₃ , C ₄ y C _{1q}	101
Tabla VIII. Alteraciones serológicas.....	103

RESUMEN

El Liquen Plano Bucal (LPB) es una enfermedad de origen desconocido. Se han reportado diferentes agentes como responsables en su etiología: la etiología viral es uno de ellos aunque también destacan los aspectos psicógenos (se puede tratar de una enfermedad psicósomática).

En el presente estudio se investigó la presencia del genoma de los virus Epstein-Barr (VEB) y Papiloma Humano (VPH) en las muestras de lesiones de LPB de 20 pacientes y en 10 muestras de mucosa sana de pacientes sin LPB que constituyeron el grupo control, utilizando la Reacción en cadena de la Polimerasa (PCR). Así mismo, se cuantificaron los niveles de ansiedad en los pacientes con LPB y en el grupo control utilizando el cuestionario de ansiedad Estado-Rasgo "STAI" (State-Trait Anxiety Inventory).

No se encontró presencia del genoma del VPH en las muestras con LPB ni en el grupo control. El genoma del VEB se halló en 10/20 muestras (50%) del grupo con LPB y en solo una muestra del grupo control (10%).

17/20 (85%) pacientes con LPB resultaron tener la ansiedad como rasgo de su personalidad, mientras que 8/10 (80%) del

grupo control presentaron dicha característica. Se observa una incidencia alta de ansiedad en ambos grupos.

INTRODUCCIÓN

El sistema inmunológico es un delicado mecanismo que sincroniza complejos procesos, humorales y celulares, con el objeto de reaccionar en forma adecuada ante los numerosos patógenos extraños que constantemente invaden el cuerpo humano y ante cualquier cambio celular interno que altere el desarrollo y la función de los tejidos.

Sin embargo, resulta interesante que bajo ciertas y determinadas condiciones, el sistema inmunológico apunta su arsenal de defensa contra los propios componentes normales del cuerpo. Así nacen las llamadas enfermedades autoinmunes, que durante mucho tiempo representaron un misterio para la ciencia pero que hoy en día se identifican etiopatogénicamente con los procesos de lisis y sensibilización que causa el sistema inmunológico.

En algunas de esas enfermedades se conocen totalmente los mecanismos fisiopatológicos y etiológicos que permiten el desarrollo y mantenimiento de las lesiones. Conocer esto, permite al clínico abordar de manera más efectiva el tratamiento

y estudiar mejor, junto con su paciente, la evolución y el pronóstico de la enfermedad.

En otras enfermedades autoinmunes esto no es así.

El Liquen Plano es una entidad dermatológica, relativamente frecuente, que puede presentar manifestaciones bucales. En efecto; muchas veces la enfermedad solo se limita a la cavidad bucal, y otras; representa la primera manifestación antes de la proliferación cutánea.

Esta enfermedad dermatológica, pero especialmente sus manifestaciones bucales, han sido estudiadas en profundidad, al punto que actualmente ya se han establecido teorías aceptadas por la mayoría de los científicos acerca de la fisiopatología de las lesiones. Sin embargo, aún siguen siendo oscuros los factores específicos que desencadenan esa respuesta autoinmune típica en el Liquen Plano. Su etiología aún no se conoce.

Esto ha traído una consecuencia bien importante que sufre el clínico que se enfrenta diariamente a esta patología: no existe un tratamiento efectivo para curar esta enfermedad. Claro está;

al no existir una etiología definida, se prueban una gran variedad de opciones de tratamiento. Tan heterogéneo y abundante es el abanico de opciones de tratamiento como heterogénea y abundante es la literatura científica acerca de la etiología del Liquen Plano, especialmente el Liquen Plano Bucal.

Las opciones de tratamiento más utilizadas hoy en día se limitan a tratar los síntomas, cuando los hay, sin eliminar las lesiones que generalmente duran toda la vida, alternando periodos de remisión y exacerbación.

Determinar definitivamente la etiología del Liquen Plano Bucal es un reto que aún esta lejos de cumplirse, pero definitivamente estudiar las causas de esta enfermedad redundará a la larga en el establecimiento de un tratamiento curativo que no se limite a aliviar los síntomas, sino que ataque realmente las causas que producen la enfermedad.

El presente estudio aborda dos aspectos propuestos por algunos autores en la etiología del Liquen Plano Bucal: la infección viral y los factores psicógenos.

Tanto el Virus Epstein-Barr como el Virus Papiloma Humano han sido propuestos en varios países como agentes infecciosos asociados a la etiología del Liquen Plano Bucal. Esta investigación determina la presencia de estos virus en un grupo de pacientes Venezolanos con Liquen Plano Bucal mediante pruebas de biología molecular.

Al mismo tiempo, se explora y cuantifica mediante un instrumento psicométrico los niveles de ansiedad presentes en estos pacientes: otro aspecto reportado en la literatura científica como factor asociado a la aparición y el mantenimiento de las lesiones de Liquen Plano Bucal.

Y finalmente, se reportan los datos recogidos tanto en la elaboración de la historia clínica de este grupo de pacientes como en la realización de las pruebas diagnósticas. Datos como los aspectos histopatológicos e inmunológicos recogidos durante esta investigación que sirven de complemento a los datos obtenidos en las pruebas de biología molecular y en los cuestionarios psicométricos.

Es el ideal de esta investigación proporcionar una visión integral que abarque varios aspectos en la etiología del Liquen

Plano Bucal, estudiados en una población Venezolana que no necesariamente coincide con lo reportado en otros países y enriquecer así, la larga discusión que se ha y se sigue planteando acerca de la etiología de esta controversial enfermedad.

I.- REVISIÓN DE LA LITERATURA

Liquen Plano Bucal

El Liquen Plano es una inflamación crónica de la epidermis y de la mucosa que a menudo dura toda la vida y se alterna con periodos de exacerbación y remisión. Como toda enfermedad inmunológica, involucra en su fisiopatología, procesos relacionados con las células efectoras del sistema inmune. En la piel, se presenta como pápulas aplanadas, violáceas, pruriginosas, que confluyen focalmente dando lugar a placas que pueden tener puntos o líneas blanquecinas denominadas estrías de Wickhan. En la cavidad bucal se presenta como lesiones blancas, rojas o mixtas. (Bricker 1994, Duske y col. 1982, Scully y col. 1998). Las lesiones pueden afectar la superficie cutánea y oral en un 40% de los casos, exclusivamente la superficie cutánea, o tan solo la mucosa.

Tanto en piel como en boca el Liquen Plano presenta el llamado fenómeno de Koebner, que es la aparición de lesiones en áreas sometidas a traumatismos, como por ejemplo la línea de oclusión (Scully y cols. 2001).

En el 2002 Myers y cols. reportaron que en cavidad bucal el sitio predilecto para la aparición de las lesiones es la mucosa bucal seguido por la encía/reborde alveolar y la lengua.

Existen tres formas “mayores” de Liquen Plano Bucal: La forma reticular; que se caracteriza por configuraciones queratóticas en la mucosa (estrías de Wickhan). La forma atrófica; en la cual la queratosis se combina con zonas rojas o cambios eritematosos. Y la forma erosiva en la cual las lesiones ulcerosas se combinan con los cambios blancos y rojos de las dos formas anteriores (Chainani-wu y cols. 2001). Otras formas como la ampollosa o el liquen plano en placas señalados por otros autores (Sapp y cols. 1998) son solo variaciones en el grado de queratosis o erosión- ulceración de las formas anteriores. Según señalan Myers y cols. en el 2002 en su estudio retrospectivo de 248 pacientes las formas blancas (reticulares y placas) son las más frecuentes.

Puede haber lesiones queratósicas en las encías que suelen tener la apariencia de pequeñas pápulas o placas lineales o reticulares. Las lesiones vesiculo-ampollares son bastante infrecuentes en las encías y cuando están presentes, pueden causar dificultades para el diagnóstico. Las lesiones atróficas

producen gingivitis descamativa el tipo de Liquen Plano gingival más frecuente, sin embargo, si no hay lesiones queratósicas, el diagnóstico a veces se dificulta ya que el pénfigo, la enfermedad lineal de inmunoglobulina A y el penfigoide también producen gingivitis descamativa (Scully y cols.2001).

La localización bilateral de las lesiones permite diferenciar el Liquen Plano Bucal de otras entidades como las lesiones por hipersensibilidad a materiales dentales y fármacos (Myers y cols. 2002).

De todas las formas solo las erosivas producen síntomas; ardor y/o dolor que pueden estar acompañados de hemorragia en las lesiones. Se ha reportado una asociación entre el Liquen Plano y el síndrome de ardor bucal y xerostomía (Colquhoun y Ferguson 2004). No se conoce cura para el Liquen Plano Bucal (Chainani-wu y cols. 2001).

Etiología

En la actualidad no se ha identificado el agente etiológico específico del Liquen Plano. Sin embargo Walsh y col. (1990) sugieren que el inicio y el mantenimiento de las lesiones

requieren la presencia de células T específicas para un antígeno (Simark y col. 1998). Se ha investigado mucho acerca de la identidad de este antígeno. Especial interés suscita la siguiente pregunta: **¿se trata de un antígeno exógeno o endógeno?** Se ha detectado un antígeno específico, mediante inmunofluorescencia indirecta, en lesiones de pacientes con Liquen Plano cutáneo, a nivel de la capa de células espinosas y granular. Al mismo se le ha denominado “Antígeno liquen plano-específico” (Olsen y cols. 1984). Sin embargo, en estudios de Liquen Plano Bucal, la inmunofluorescencia directa de tejido lesional no permite demostrar la presencia de ese antígeno. Aunque, en un tercio de los casos, el suero de los pacientes reacciona positivamente contra el tejido alogénico lesional de pacientes con Liquen Plano cutáneo que exhiben dicho antígeno (Camisa y cols. 1986).

Los intentos fallidos de varios investigadores en encontrar al “Antígeno Liquen Plano-específico” en las lesiones de Liquen Plano Bucal puede deberse a varias causas: filtración del antígeno en la saliva, bajos niveles del antígeno en el epitelio bucal o simplemente el Liquen Plano Bucal no constituye la misma entidad que el Liquen Plano cutáneo, idea no apoyada por la mayoría de los autores (Camisa y cols. 1986).

Algunos haptenos, componentes frecuentes de ciertos materiales dentales y medicamentos, juegan un importante papel en la etiología de la reacción liquenoide ante fármacos; entidad que tiene características clínicas idénticas al Liquen Plano (Neville 1995). Los pacientes con Liquen Plano Bucal consumen más drogas metabolizadas a nivel del citocromo p450, principalmente antihipertensivos y AINEs, según Kragelund y cols. en el 2003 y recomienda una mayor investigación sobre la asociación entre el Liquen Plano y los medicamentos que se metabolizan por esta vía. Además se ha observado que lesiones de Liquen Plano pueden aparecer en zonas de contacto con ciertos materiales dentales (Kragelund y cols. 2003).

En los últimos años se le ha dado importancia al papel que cumplen ciertos superantígenos (Simark-Mattson 1994); también se destaca la predisposición genética a padecer Liquen Plano y la presencia de moléculas del Complejo de Histocompatibilidad (HLA) ha sido reportada por Potter y col. en 1993 y por Roitberg-Tambur y col. en 1994, sin embargo, no se ha encontrado una frecuencia significativa de antígenos alterados en los pacientes con Liquen Plano Bucal.

Chaiyarit y col. (1999) relacionaron la expresión de las proteínas de Shock térmico y las citoqueratinas (Cks) con la patogénesis de la enfermedad, encontrando una relación estadísticamente significativa entre la expresión de éstas proteínas a nivel de las capas basales del epitelio y la presencia de la lesión por Liquen Plano. Se ha sugerido que éstas proteínas actúan como autoantígenos en el Lupus eritematoso y en la artritis reumatoidea (Hill-Gaston JS y cols. 1991) Chaiyarit y cols. en 1999, proponen una hipótesis en la cual un individuo genéticamente predispuesto puede desarrollar una reacción inmune mediada por células con infiltración subepitelial de linfocitos T originada por un hapteno, un antígeno convencional o un superantígeno que proceda de la microflora bucal.

La generación de citocinas por parte de estas células, puede sobre-expresar proteínas de Shock térmico como la HSP60 en los queratinocitos basales adyacentes. Lo que sucede después depende si el individuo está genéticamente predispuesto a reaccionar inmunológicamente en contra de la HSP60. Si no lo está, la primera reacción inmune será una mucositis no específica. Si tiene la predisposición genética debido a que posee ciertos complejos mayores de histocompatibilidad (HLA-Bw57 ó HLA-DR2); entonces la reacción continuará con el

desarrollo de linfocitos T citotóxicos que atacan a los queratinocitos basales causando una destrucción autoinmune (una de las características del Liquen Plano bucal).

La reacción comienza con la activación de las células de Langerhans la cual presenta un antígeno a los linfocitos CD4+. Estas células promueven la destrucción epitelial a través de las moléculas de adhesión ICAM-1 y LFA-1, posteriormente la producción de citocinas, y la expresión de ICAM-1 y VCAM-1 pueden activar a los CD8+, dándole el carácter crónico a esta lesión (Villarreal M y col. 2002). El predominio de mastocitos durante la fase de formación de la lesión de Liquen, sugiere que ellas también juegan un papel activo, a través de la acción de sus mediadores químicos sobre las células endoteliales. Estos mediadores, que se liberan rápidamente después de la desgranulación, incluyen; aminas vasoactivas, enzimas que inducen la vasodilatación e incrementan la permeabilidad vascular y Factor de Necrosis Tumoral-derivado de mastocitos (TNF- α), el cual induce, entre otras cosas, a la expresión en las células endoteliales de ICAM-1 y E-selectina (CD62E), moléculas necesarias para la permanencia y activación de los CD8+ que son responsables directos del daño epitelial (Zhao y col 1998).

Algunos autores consideran al Liquen Plano como una enfermedad multifactorial donde hay que considerar el factor psicológico (es considerada por muchos como una enfermedad psicosomática). Un alto porcentaje de pacientes reportan que han experimentado sucesos de vida estresantes en el inicio de la enfermedad. Adicionalmente, índices elevados de ansiedad han sido encontrados en los estudios de investigación de estos pacientes, considerándose como un factor precipitante o desencadenante de la lesión (Burkhart y col. 1996, García-Pola y col. 2000, Bagán y Cerrero. 1995). Sin embargo este punto todavía es motivo de controversia: se ha determinado que los pacientes sometidos a eventos cargados de stress aumentan sus concentraciones de cortisol en saliva (Miller y Cols. 1995). Los individuos sometidos a situaciones experimentales de stress responden con hipersecreción de cortisol (Jones y cols. 1997). Si el stress no es seguido de un incremento en los niveles séricos de cortisol, la respuesta del sistema inmune puede no ser adecuadamente suprimida y pueden desarrollarse reacciones adversas de tipo autoinmune (Stemberg y cols. 1989).

En modelos experimentales de desordenes autoinmunes, hay una marcada evidencia que una respuesta adenocortical en conjunción con estimulación antigénica, se relaciona con una

disminución en el desarrollo de los síntomas y retarda la evolución de la enfermedad. Lo contrario, una supresión de la función en el eje hipotálamo-pituitaria-adrenal, conlleva a una exacerbación de los síntomas en estos modelos (Griffin y cols. 1991).

Rödström y Cols. en 2001 midieron la secreción de cortisol en saliva en pacientes con Liquen Plano Bucal, que fueron sometidos a situaciones experimentales de stress y no encontraron diferencias estadísticamente significativas con el grupo control de pacientes sanos, concluyendo que los pacientes con Liquen Plano bucal no tenían disminuida la capacidad supresora en la respuesta inmune, al menos no a través de la inducción de cortisol.

Se ha relacionado a varios agentes infecciosos, tales como el virus herpes simple 1, el virus herpes simple 6, el citomegalovirus, el virus papiloma humano, el virus Epstein-Barr y *Helicobacter pylori* con el Liquen Plano Bucal pero a menudo basándose en datos que no son incuestionables (Cox y cols. 1993, Yadav y cols. 1997, Leimola y cols. 1997, Pedersen 1996, Boyd y cols. 1996, Singh y cols. 1998).

Algunos pacientes con Liquen Plano Bucal son portadores bucales de especies de *Candida* o presentan candidiasis subclínica o manifiesta, la cual puede ser responsable de la inflamación al menos en algunos pacientes con síntomas que pueden mejorar con el tratamiento antimicótico. Sin embargo, es necesario hacer notar que el tratamiento con agentes inmunosupresores tales como los corticoesteroides tópicos o sistémicos puede predisponer al desarrollo de candidiasis. Aunque del 37 al 50% de los pacientes presentan infección por *Candida*, estos resultados son similares a los encontrados en la población general (Scully y cols. 2001, Lundstrom y cols. 1984).

Epidemiología

Existen evidencias que indican que las mujeres de la cuarta y quinta década de la vida se ven más afectadas (Chainani-wu y cols. 2001).

Se ha observado que antes de los 50 años de edad; ambos sexos parecen ser afectados con la misma frecuencia. Después de los 50 años de edad, el sexo femenino se ve sensiblemente más comprometido (Buchanan y Zakrzewska 1999). La relación masculino/femenino según Myers y cols. en el 2002 es de 1:1.7.

En este mismo estudio el promedio de edad es de 57.2 años para las mujeres y 51.8 años para los hombres.

Se han reportado recientemente, en nuestro país, casos de Liquen Plano con manifestaciones bucales en niños (Pérez y col. 1997) así como en el Reino Unido (Alam y Hamburguer 2001). Al hacer el diagnóstico es importante tomar en cuenta que se ha reportado la aparición de reacciones liquenoides en niños luego de la aplicación de la vacuna de la hepatitis C (Merigou y Cols. 1998, Rybojad y cols. 1998). En edades tempranas las lesiones bucales parecen ser poco frecuentes, no así las lesiones cutáneas (Kanwar y cols. 1991, Kumar y cols. 1993).

El Liquen Plano Bucal se ha asociado con ciertas condiciones como la diabetes o las alergias (Chainani-wu y cols. 2001). Un hallazgo interesante es que las lesiones atróficas o erosivas se han asociado en algunos estudios a hepatopatía crónica (Rebora 1981, Powell y cols. 1991).

Histopatología

Histológicamente existe una gran respuesta de linfocitos T citotóxicos en el tejido conjuntivo subyacente en contra de las

células epiteliales, aunque el aspecto histopatológico varía dependiendo del tipo de liquen, en la patogénesis se han descrito mecanismos similares: los macrófagos y las células de Langerhans activan a los linfocitos T citotóxicos y éstos comienzan a producir Factor de Necrosis Tumoral, que actúa sobre las células del epitelio causando el daño a nivel de éste tejido. El aspecto de estas reacciones al microscopio es el de un infiltrado linfocítico en banda en la unión epitelio-conjuntivo, se observa también acantosis, paraqueratosis, atrofia epitelial, y degeneración de la capa basal (Chaiyarit y cols. 1999). Esta degeneración “hidrópica” del epitelio de lugar a la aparición de cuerpos eosinófilos amorfos, redondos u ovalados conocidos como cuerpos de Civatte (Sapp y cols. 1998). A menudo se pierde el epitelio quedando expuesto el conjuntivo subyacente, puede existir también una pérdida de crestas en el límite entre el epitelio y el conjuntivo o una alteración de su forma, adquiriendo un patrón de “dientes de sierra” (Sapp y cols. 1998).

También se sabe que hay un aumento de mastocitos en las lesiones de Liquen Plano Bucal especialmente alrededor de los vasos sanguíneos, los elementos neurales y la membrana basal (Walsh y cols. 1990).

De manera tal que existen numerosas evidencias para considerarla una enfermedad autoinmune (Walsh y col. 1990, Eversole 1993, Karagoini y col. 1994, Buchanan y Zakrzewska 1999, Challacombe y Shirllow 1999). El diagnóstico del Liquen Plano es a menudo difícil y resulta muy útil el empleo de la inmunofluorescencia. Todas las formas de Liquen son positivas para la presencia de Fibrinógeno cuyo marcaje se observa a todo lo largo de la membrana basal (Chruch y col. 1992).

Potencial oncogénico

Histológicamente se observa también un incremento de apoptosis celular en las capas más basales de epitelio (cercana al infiltrado inflamatorio) y una proliferación celular en las capas superiores. Balvinder y col. en 1999, demostraron que esta situación estaba relacionada con la expresión de ciertos genes (Bcl-2 y Bax) que controlan los mecanismos apoptóticos celulares. Las aberraciones genéticas de éstos y otros oncogénes como la p53 son indicativos de cambios hacia la malignidad (Majorana y col. 1999, Girod y col. 1998).

Se ha comprobado el potencial de transformación maligna de las lesiones de Liquen Plano, especialmente de aquellas lesiones

que tienen más de 5 años de evolución, sobre todo en las que se presentan en pacientes con hábitos tabáquicos (Van Der Meij y col. 1999). Se han estudiado los cambios cromosómicos de las lesiones que avanzan hacia la malignidad, y se han identificado los cambios genéticos que ocurren en pacientes con Liquen Plano bucal (Kim y col. 2000). Evaluaciones del grado de inestabilidad genética ha sido útil para determinar el potencial premaligno del Liquen Plano Bucal. Las inestabilidades genéticas causantes del desarrollo del cáncer incluyen; puntos de mutaciones, amplificación, delección, anormalidades en la estructura y arreglos cromosomales, y aneuploidía cromosomal.

Dentro de estos cambios genéticos, el análisis de la aneuploidía cromosomal usando hibridación *in situ* cromosomal ha sido aceptado como un útil marcador para predecir el riesgo de transformación maligna en lesiones precancerosas. Se ha determinado el potencial premaligno del Liquen Plano Bucal, midiendo el grado de inestabilidad genética, sobre todo en el cromosoma 9 y 17 que son los más frecuentemente involucrados en carcinomas de células espinosas de cabeza y cuello. Kim y cols. en el 2001, aplicó la técnica de hibridación *in situ cromosomal* en pacientes con liquen Plano que respondían a la terapia con esteroides y en pacientes con displasia liquenoide

determinando que la monosomía en el cromosoma 9 se incrementaba en la displasia liquenoide y en el carcinoma espinocelular desarrollado a partir de displasias liquenoides si se comparaba con la mucosa de los pacientes cuyas lesiones habían remitido. Lo que hace suponer que esta aberración cromosómica juega un papel crítico en el progreso a la malignidad de las displasias liquenoides.

Algunos autores aseguran que los pacientes con Liquen Plano Bucal (especialmente el erosivo) tienen un riesgo 10 veces más alto de padecer carcinoma de células escamosas que la población general (Drangsholt y col. 2001, Scully 1985).

La Organización Mundial de la Salud definió la condición precancerosa como “un estado generalizado asociado a un incremento en el riesgo de cáncer” y como lesión precancerosa “un tejido morfológicamente alterado en el cual el cáncer es más probable que ocurra que en el equivalente aparentemente normal”. Desde 1978 la OMS considera como lesión precancerosa: el Liquen Plano, el Lupus eritematoso discoide, las anemias ferropénicas, la sífilis y la fibrosis submucosa (OMS, 1973.)

Tratamiento

El tratamiento del Liquen Plano bucal es muy variado. La primera línea la constituyen los corticoesteroides. Desde la aplicación tópica, en enjuagues (dexametasona, triamcinolona, clobetasol) y geles (fluocinolona), hasta la infiltración intralesional (10-20 mg/ml triamcinolona), pasando por la administración oral de 30-80 mg/día de Prednisona en los casos que no respondan al tratamiento local (Scully y col. 1998, Carrozo y Gandolfo 1999). Los corticoesteroides están indicados para reducir los síntomas y los efectos locales de las enfermedades autoinmunes de la mucosa bucal, entre ellas el Liquen Plano. Usados de manera tópica, son de gran ayuda y sirven de soporte para cualquier tratamiento sistémico. Son efectivos para reducir la inflamación, y más específicamente la extravasación de leucocitos y la formación de mediadores inflamatorios, al mismo tiempo ayudan a mantener la integridad de la membrana celular, inhibe la fagocitosis y la liberación de lisozimas que contienen enzimas hidrolíticas. Los esteroides de alta potencia, como el clobetasol, aplicados en un vehículo adhesivo parece ser el tratamiento más efectivo para el Liquen Plano (Lo Muzio y col. 2001).

También se ha reportado el uso de interferón- α tópico con excelentes resultados (Pedersen 1998). Y el tratamiento con IFN α sistémico (3 a 10 millones UI tres veces por semana) del Liquen Plano Bucal en pacientes con o sin infección por virus de Hepatitis C ha dado lugar a resultados satisfactorios (Doutre y cols. 1992).

Otras alternativas de tratamiento son los inmunosupresores no esteroideos como la azatioprina y ciclosporina (Carrozo y Gandolfo 1999). La ciclosporina tópica se ha utilizado con ciertos resultados beneficiosos en forma de enjuague bucal 500 mg tres veces al día, y en forma de pastas bioadhesivas (Lopez y Rosello 1995, Gombos y cols. 1992). El elevado costo de la ciclosporina impide su uso sistémico, sin embargo dosis de 1 a 2 mg/Kg. al día reducen significativamente el dolor y el ardor en Liquen Plano erosivo (Levell y cols. 1992). El uso sistémico de la ciclosporina y de la azatioprina debe reservarse para casos muy graves debido a las reacciones adversas que incluyen nefrotoxicidad en el caso de la ciclosporina y supresión de la médula ósea y neoplasias en el caso de la azatioprina (Lear y English 1996).

Se ha estudiado al Levamisol como agente inmunomodulador en el Liquen Plano Bucal pero no se ha demostrado su eficacia clínica. No obstante, el tratamiento combinado con prednisona en dosis bajas puede ser útil para controlar el Liquen Bucal erosivo grave (Lu y cols. 1995).

La Heparina en dosis bajas desprovista de actividad anticoagulante inhibe la actividad heparanasa de los Linfocitos T, que es fundamental para la migración de éstas células a los tejidos diana. Dos pequeños estudios no controlados indican que la administración subcutánea de enoxaparina, una heparina de bajo peso molecular, puede producir cierto efecto beneficioso en el Liquen Plano Bucal sin causar efectos adversos. Sin embargo, la mejor respuesta se observó en la variedad reticular de liquen plano bucal, que generalmente es asintomática (Stefanidou y cols. 1999).

El tracólimo, un antibiótico macrólido, inhibe la activación de las células T en concentraciones de 10 a 100 veces menores que las de ciclosporina, y además, tracólimo tópico parece penetrar mejor la piel que la ciclosporina tópica. Los pacientes comunican un alivio rápido del dolor y el ardor con el uso del tracólimo (Vente y cols. 1999).

La Talidomida sistémica (150 mg diarios durante cuatro meses) curó completamente las lesiones del liquen plano bucal en algunos pacientes, pero este fármaco puede producir efectos adversos graves que impiden su uso sistemático y también puede causar lesiones liquenoides (Dereure y cols. 1996).

Los retinoides tópicos y/o sistémicos (isotretinoína, vitamina A, trioxaleno) y hasta la radiación ultra-violeta (PUVA) (Carrozo y Gandolfo 1999) se han usado en el tratamiento del Liquen. Sin embargo, Nagao y cols. en 2001 midieron los niveles séricos de micronutrientes antioxidantes como retinol, α -tocoferol, alfa y beta caroteno, licopeno y otros; y determinaron que los pacientes con Liquen Plano Bucal no poseían niveles séricos inferiores de retinol o carotenos en comparación con el grupo control de pacientes sanos, y por lo tanto el déficit de estos micronutrientes no eran factores de riesgo para el establecimiento de las lesiones y su administración no debía ser considerada como opción válida de tratamiento. Además; la radiación ultravioleta puede aumentar el riesgo de cáncer bucal en una lesión premaligna como el Liquen Plano, he incluso ella

misma de por sí puede inducir a la aparición de las lesiones de Liquen (Lindelof y cols. 1991, Harrist y cols. 1984).

En ocasiones se han utilizado otros tratamientos con el fin de intentar controlar el Liquen Plano Bucal. Entre ellos se encuentran el magnetismo, la psicoterapia, y la reflexoterapia (Scully y cols 2001).

II.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Etiología viral

Uno de los factores que se han mencionado en la etiología del Liquen Plano es la infección (Jontell y col. 1990). Principalmente se ha sospechado de una etiología viral, debido entre otros hallazgos, a la expresión de interferón en las lesiones de Liquen (Simark-Mattsson y col. 1998).

Los virus inducen una proliferación descontrolada de las células *in vivo*, esto ocurre al menos por tres procesos distintos. Primero; el virus debe desacoplar los mecanismos reguladores normales que controlan el progreso del ciclo celular y la división celular. Segundo; los virus deben evitar que la célula hospedera se vuelva apoptótica, como respuesta celular normal ante la invasión viral, lo cual podría producir el desarrollo de una proliferación celular descontrolada. Finalmente, las células proliferativas muestran inevitablemente un antígeno de superficie derivado de los antígenos virales, lo cual las obliga a evitar que el sistema inmune las reconozca como extrañas y proceda a

eliminarlas, es decir, existen mecanismos virales de “evasión de la respuesta inmune” que garantizan que la proliferación celular se lleve a cabo sin el ataque del sistema inmunológico (Irvin y Thomson 2001).

Se han hecho planteamientos sobre los posibles mecanismos por lo que los agentes virales participan en la etiopatogénia de la autoinmunidad. El Virus Epstein-Barr (VEB), por ejemplo, es un mitógeno inespecífico para las células B policlonales y puede estimular la formación de autoanticuerpos. Además; la infección por VEB produce una disminución en la función de las células T supresoras (Goodman y Weigle 1981, Fox 1987).

En el Síndrome de Sjögren la reactivación del virus, que efectivamente se ha detectado en pacientes con estas lesiones, puede contribuir a la iniciación o perpetuación de una respuesta inmune en órganos “blanco” (Inoue y cols. 2001, Fox y cols. 1986).

Se ha encontrado una asociación entre la presencia del VEB y lesiones ulcerosas en cavidad bucal en pacientes inmunosuprimidos (Syrjänen y col. 1999), así como en las

lesiones de Liquen Plano bucal, otra enfermedad relacionada con la inmunidad (Pedersen 1996, Sand y col. 2002). Recientemente se ha reportado también la asociación del Liquen Plano bucal con el virus de la Hepatitis C (Van der Meij 2000, Nagao y col. 2000), pero hasta el momento no se ha podido establecer una relación directa.

El VEB y los Citomegalovirus están asociados con la exacerbación aguda de la periodontitis apical y otras lesiones periapicales, y su presencia está más asociada a la presencia de los síntomas que con el tamaño de la lesión. El VEB puede inducir la exacerbación de las lesiones periapicales a través de numerosos mecanismos, incluidas respuestas del hospedero como la desregulación de macrófagos y linfocitos (Sabeti y cols. 2003, Torabinejad 1994).

El virus Epstein-Barr es una partícula cuyo genoma consiste en ADN bicatenario, recubierto de una cápside icosaédrica formada por 162 capsómeros. La nucleocápside está rodeada de una envoltura de estructura lipoprotéica, de la que parten unas proyecciones glucoproteicas. El tamaño del virión es de 120 a 200 nm (Ureña 1997).

La puerta de entrada del VEB es la orofaringe. En ella el virus se multiplica y llega a los linfocitos B, donde persiste. La transmisión del virus es muy eficaz, el 95% de la población adulta se ve afectada de alguna manera por este virus (Ureña 1997).

Desde hace varios años, los investigadores han encontrado evidencias del poder oncogénico del virus Epstein-Barr, tanto en linfomas y enfermedad de Burkitt como en carcinomas nasofaríngeos (Richstsmeier y col 1987, Martel-Renoir y col. 1995). También se le ha atribuido, junto con el VIH, un rol importante en la patogénesis del síndrome de linfocitosis infiltrativa difusa (Rivera y cols. 2003). Magro y Crowson en el 2000, asociaron al virus con varias afecciones de la piel y las mucosas, que involucran histopatológicamente un infiltrado linfocítico en banda (característico del liquen plano) como la enfermedad de Crohn, enfermedad hepatobiliar, dermatitis granulomatosa y la reacción liquenoide a fármacos.

Los linfomas infectados con VEB expresan proteínas asociadas con la infección latente, algunas de ellas han mostrado un potencial oncogénico, tanto *in vivo* como *in vitro*. Más aún, estos productos genéticos latentes provocan una

respuesta citotóxica de células T. De esta manera, las células tumorales que expresen estos antígenos son rápidamente removidos por un sistema inmune normal. Los productos genéticos latentes con potencial oncogénico incluyen: el antígeno nuclear-2 Epstein-Barr (EBNA2), un transactivador transcripcional específico de genes virales y celulares, y la proteína latente de membrana-1 (LMP-1), una fosfoproteína transmembranal (Henderson y cols. 1991, Young y cols. 1989).

El virus Epstein-Barr se transmite por la saliva e inicialmente infecta a las células epiteliales de la orofarínge. Como el virus se replica y se libera de las células epiteliales, los linfocitos B de las cercanías rápidamente se infectan. Pero al contrario de lo que ocurre con las células epiteliales, la infección en los linfocitos B es latente y sin replicación viral. La inmunosupresión puede ser la causa por la cual esos marcadores oncogénicos de latencia pueden no ser correctamente eliminados y la proliferación de células con estos genes expresados puede dar lugar a la aparición de neoplasias (Sixbey y cols. 1994, Iona y cols. 2001).

El Virus Papiloma Humano (VPH) también se ha asociado como un factor predisponente Lliquen Plano Bucal (González y

col. 1999, Kashima 1996), e incluso se ha detectado el genoma viral en las lesiones, mayoritariamente los subtipos 31, 33, 35 (González y col. 1999, Vesper y col. 1997, Wen y col 1997, González-Morles y col. 1998). Mientras que la presencia de VPH en mucosa bucal normal es especialmente baja (Kurose y col. 2004).

Se trata de un virus con ADN bicatenario, de simetría icosaédrica y desnudo, con un tamaño entre 45 y 55 nm, responsable de numerosas lesiones tumorales a nivel epitelial, sobre todo el subtipo 16, frecuentemente asociado al cáncer genital (McMurray y col. 2000, Ureña 1997). Tang y cols. en el 2003 estudiaron por reacción en cadena de la polimerasa el papel del virus Papiloma humano en el desarrollo del carcinoma bucal de células escamosas y encontraron que la infección por este virus (especialmente el subtipo 16 y 18) juega un papel importante en la progresión de estos tumores y la sobre expresión de la proteína p53 mutada. Actualmente se han identificado más de 100 tipos diferentes que pueden ser divididos en aquellos que infectan la piel, y aquellos que infectan la mucosa. Existen subtipos que pueden causar lesiones malignas y lesiones premalignas, sobre todo en el cuello uterino.

Genotipo del Virus Papiloma Humano y su potencial oncogénico.

Bajo riesgo oncogénico: 6, 11, 40, 42-45, 53-55, 57, 59, 61, 67, 69, 71, 82
Alto riesgo oncogénico: 16, 18, 31-35, 51-52, 56, 58, 66, 68, 70, 73

En cavidad bucal, el VPH es el responsable de múltiples lesiones como: verrugas vulgares, papilomas, condiloma acuminado e hiperplasia epitelial focal (Rubacava y col. 2001, Miller y cols. 1991). Jiménez y col. en 2001 reporta la alta incidencia de la infección bucal por VPH en un grupo de pacientes Venezolanos y sugiere que estas lesiones benignas pueden servir como reservorio para nuevas lesiones o para recurrencia de las lesiones, así mismo señala la importancia de exámenes como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) como método diagnóstico para detectar infección latente. En cavidad bucal se ha asociado al virus con malignidad (Jovanovic 1994) y en nuestro país se ha determinado una prevalencia de los subtipos de alto riesgo oncogénico en las lesiones de carcinoma espinocelular (Correnti y cols. 2004).

En algunos casos como en las displasias epiteliales verruciformes, las lesiones benignas inducidas por VPH progresan a la formación de carcinomas espinocelulares. Se ha establecido de manera clara el potencial oncogénico del VPH, especialmente de algunos subtipos. La presencia frecuente de genoma viral en las células cancerosas de los tumores anogenitales sugiere que éste desempeña un papel etiológico en su aparición. El VPH puede actuar solo o, lo que es más probable, en unión de otros factores de riesgo (Ostrow y Faras 1987, Bontifligio y Stoler 1988).

El virus puede encontrarse en niños de hasta menos de 2 años, lo que sugiere una transmisión perinatal bien sea transplacentaria o al pasar el niño por el canal vaginal, y en edades siguientes: auto-inoculación de lesiones cutáneas, abuso sexual, amamantar con pezones infectados, mordisqueo de juguetes o ropa con presencia de virus, etc. El hecho es que la infección de VPH puede ocurrir desde edades muy tempranas (Kurt y col. 2001).

Como consecuencia de la infección por VPH, que ocurre a nivel de las capas basales del epitelio, este se replica hasta un nivel de 50-100 copias por célula en la capa basal. Algunas

proteínas virales se expresan en las capas basales, estas proteínas estimulan a la célula a pasar de la fase G₁ a la fase S. Al mismo tiempo, se requiere cierto grado de diferenciación celular para que ocurra la síntesis de las proteínas de la cápside y la amplificación del ADN viral. De ésta manera, la célula inicia un descontrol total en el proceso de mitosis, dividiéndose de manera desordenada, y al mismo tiempo es estimulada a diferenciarse en queratocitos por los diferentes genes virales que toman posesión de la maquinaria proteica celular. Las proteínas más importantes que codifican dichos genes son: la E5, E6 y la E7 (McMurray y col. 2001).

Algunas de las funciones de estas proteínas son:

1. Bloquear la apoptosis, que es la respuesta normal de la célula ante la infección viral. Esto lo logran mediante la degradación del factor de transcripción p53 por parte de la proteína E6 y E5.
2. Transcripción alterada de genes celulares mediante la interacción con p300, como ocurre con la proteína E6, E7.
3. Incremento en el tiempo de vida de la célula mediante un incremento en la actividad de la telomerasa (E6).

4. Alteración en el ciclo celular, especialmente incitando la transición de la fase G₁ a la fase S del ciclo mitótico. Esto se logra interactuando con ciertas proteínas y oncogenes como pRb, p107, p103, las ciclinas, los inhibidores cdk, etc. como lo hace la proteína E7. (McMurray y col. 2001)

Aspectos psicossomáticos

Según Tordjan en 1990 lo psíquico y lo somático no son entidades separadas: deben ser tomadas como dos aspectos particulares del conjunto viviente constituido por toda persona humana.

Hipócrates comprendía ya en su tiempo que los problemas sexuales interferían con nuestra salud mental. Pero se podría decir que el verdadero nacimiento de la medicina psicossomática data de Freud, con su explicación de la histeria; ha demostrado que la angustia hunde sus profundas raíces en el mismo cuerpo. La cólera, la depresión, la angustia, el deseo, se manifiestan por signos exteriores evidentes, pero también por modificaciones fisiológicas internas. Y las emociones desempeñan un rol

considerable en la elaboración de nuestra personalidad (Tordjan 1990).

El lactante, que no tiene posibilidad de traducir sus deseos y emociones con recriminaciones verbales, está obligado a expresar sus sufrimientos a través de su cuerpo. De éste modo, después del destete o de un aprendizaje demasiado riguroso de la higiene, se verá que el niño vomita, tiene convulsiones, se niega a comer o a dormir para significar su insatisfacción. Con la palabra, la insatisfacción puede expresarse a través del pensamiento verbal, la emoción se moldea sobre la expresión y el lenguaje transforma nuestra forma de comportarnos. Es probable que una persona que padece disturbios psicosomáticos ya lleven impresos sus disturbios desde antes de la etapa del lenguaje. Es decir, un lactante que haya tenido problemas digestivos o dificultades para dormir será más propenso que otras personas a sufrir problemas psicosomáticos en la edad adulta, si experimenta emociones que entren en resonancia con sus antiguos conflictos. Las condiciones exteriores son frecuentemente una simple excusa para cristalizar la insatisfacción o revivir un conflicto neurótico, por ejemplo; un hombre siente que no puede soportar el ruido, o su vivienda, porque está insatisfecho o porque tiene mala relación con su

mujer. La enfermedad psicosomática no se presenta solamente porque se ha sufrido un traumatismo o una emoción. Se presenta porque se sufre lo que se podría denominar una *unidad de ruptura* que es un momento de la vida en que el cambio asume tal importancia que nuestro organismo ya no es capaz de integrarlo. Con mucha frecuencia, el individuo se enferma dentro de los seis meses que siguen a esa unidad de ruptura (Tordjan 1990).

En la actualidad cabe hablar de hasta cinco sistemas biológicos diferentes, aunque integrados y estrechamente relacionados entre sí: el sistema nervioso central (SNC), el sistema nervioso autónomo o neuro-vegetativo, el sistema nervioso somático o músculo-esquelético, el sistema neuro-endocrino y el sistema inmunológico o neuro-inmunológico (Caballo y cols. 1996).

Como principio general, cabe afirmar que en todos estos sistemas se produce una activación generalizada ante el estrés, si bien, tanto el principio de inhibición recíproca que regula algunos de estos sistemas, como la fase o la situación de estrés agudo o crónico en que pueda encontrarse el sujeto, puede hacer variar la actividad o el modo de funcionamiento de algunos de los

componentes de estos sistemas y observarse la aparente desactivación de algunos de ellos. Por ejemplo; el sistema digestivo y reproductor, cuya activación es predominantemente parasimpática, y que durante la reacción del estrés muestran una desactivación como efecto de la reducción de la afluencia de sangre a los mismos (Caballo y cols. 1996).

Estos efectos orgánicos-fisiológicos más inmediatos y aparentes observados durante la reacción del estrés pueden, por su parte, transformarse en alteraciones o trastornos psicofisiológicos crónicos en caso de persistir a largo plazo la exposición continuada a las situaciones de estrés (Caballo y cols. 1996).

SISTEMAS BIOLÓGICOS Y RESPUESTAS CORPORALES

ALTERADAS DURANTE EL ESTRÉS

-SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

Aumento de la afluencia de sangre al cerebro, interrupción de la actividad mental que se estuviera realizando previamente, facilitación de la actividad mental relacionada con la fuente de estrés (percepción, concentración, procesamiento de información, sensaciones).

-SISTEMA NERVIOSO AUTÓNOMO

Incremento de la tasa cardiaca, aumento de la presión sanguínea, hiperventilación, dilatación bronquial, aumento de la actividad renal, incremento de la glucogénesis hepática, vasoconstricción periférica, aumento del factor de coagulación de la sangre, incremento de la actividad electrodermal y de la sudoración, incremento de secreciones gástricas, reducción de la salivación y del pH salivar, reducción de la afluencia de sangre al tracto digestivo, dificultades digestivas, reducción de la afluencia de sangre al tracto reproductor (dificultades sexuales).

-SISTEMA NERVIOSO SOMÁTICO

Aumento del flujo de sangre a los grandes músculos (piernas, brazos, espalda), tensión muscular generalizada.

**SISTEMAS BIOLÓGICOS Y RESPUESTAS CORPORALES
ALTERADAS DURANTE EL ESTRÉS (continuación)**

-SISTEMA NEUROENDOCRINO Y ENDOCRINO

Alteraciones hormonales generalizadas, incremento en el nivel de hormonas de efectos catabólicos (catecolaminas, adrenocorticotropina, cortisol), reducción inicial e incremento posterior de hormonas de efectos anabólicos (andrógenos, estrógenos, insulina).

-SISTEMA INMUNOLÓGICO

Incremento inicial de la actividad y la eficacia inmunológica, reducción final de la actividad y la competencia inmunológica.

(Caballo y cols. 1996).

Caballo y cols. en 1996 en su tratado sobre psicopatología señala al Liquen Plano Bucal y al bruxismo como las entidades de etiología psicosomática que se pueden presentar en la cavidad bucal. Este investigador de la psicología une su voz a los muchos investigadores que en el campo de la estomatología dicen lo mismo (Burkhart y col. 1996, García-Pola y col. 2000, Bagán y Cerrero. 1995).

La aparición de una enfermedad psicosomática depende de la estructura de la personalidad, del campo fisiológico, del

ambiente, y por último del impacto que el traumatismo exterior produce sobre el paciente. Tornar esos hechos traumáticos y sus emociones en hechos y emociones conscientes puede disminuir la intensidad de los síntomas, por lo cual, la presencia del psicólogo y/o el psiquiatra se hace imperante en el equipo multidisciplinario que aborde este tipo de enfermedades (Tordjan 1990).

La aparición de un trastorno psicossomático puede considerarse, en síntesis, como el resultado de la concurrencia de los siguientes 5 factores (Caballo y cols. 1996):

1. La adquisición o existencia previa de un “patrón de activación psicofisiológico”, con la implicación específica de una o unas respuestas fisiológicas o sistemas orgánicos en lugar de otros.

2. La exposición frecuente o prolongada del sujeto a situaciones o estímulos estresantes ambientales o psicológicos. Los últimos descubrimientos en el campo de la inmunología nos han enseñado que algunas personas son refractarias a ciertas infecciones, porque el antígeno no encuentra un lugar donde fijarse a nivel de la célula inmunitaria. El eje hipotalámico-hipofisiario es la clave para hacer que estas estructuras

conflictivas de nuestra personalidad se manifiesten somáticamente. La psico-neuro-inmunología conoce bien esta interacción y utiliza técnicas psicológicas como la relajación y la visualización para regular la función inmunitaria (Battista y cols. 2002).

3. La activación repetida de ese sistema orgánico y de la correspondiente respuesta o patrón psicofisiológico dominante.

4. La alteración del mecanismo regulador homeostático con la consiguiente sensibilización de la respuesta fisiológica y el deterioro en el mecanismo de habituación o reequilibrador de la misma.

5. La alteración crónica del órgano y la correspondiente aparición del trastorno psicosomático.

El término "ansiedad" se encuentra fuertemente relacionado con el de "estrés", que se conceptualiza como una respuesta biológica ante situaciones percibidas y evaluadas como amenazantes y ante las que el organismo no posee recursos para hacerle frente adecuadamente (Caballo y cols. 1996).

El concepto de estrés fue utilizado por primera vez, aparentemente, por el médico húngaro-canadiense Selye (1936, 1956) en el ámbito de la salud, como un derivado o una

adaptación del mismo término utilizado en el campo de la física, y dentro de ésta, en el campo más específico de la dinámica de las fuerzas, en el que el término del estrés se refiere, en general, a la noción del efecto producido sobre un cuerpo o una estructura sólida (o la resistencia ofrecida por la misma) por la aplicación de una fuerza externa sobre ella.

Un organismo se hace más vulnerable a las enfermedades cuando se altera el equilibrio orgánico (*Homeostasis*) producto de situaciones estresantes. Principalmente por la acción del sistema nervioso autónomo y neuroendocrino (Caballo y cols. 1996).

El estrés constituye de esta manera; un fenómeno natural, una reacción biológicamente adaptativa y fundamental para la supervivencia de los organismos, incluidos naturalmente los sujetos humanos. De esta manera puede decirse que la vida es estrés, y que el estrés es inseparable de la vida. Entonces si el estrés en sí mismo no constituye ninguna anomalía, ¿dónde radica el problema en los casos de dificultades o trastornos de estrés? La respuesta puede encontrarse, en este sentido, en la propuesta del concepto suplementario del distrés o estrés inadecuado, alterado o anómalo (Caballo y cols. 1996).

La cuestión de fondo estriba, sin embargo, en establecer qué características de los múltiples componentes que intervienen en toda experiencia del estrés hacen que se convierta de natural en inadecuada o anómala (Caballo y cols. 1996).

Los estresores psicológicos y los estresores sociales son, con mucho, los más frecuentemente observados en nuestra sociedad actual y en nuestro estilo de vida occidental. En estos casos, la reacción de estrés no está relacionada directamente con la naturaleza objetiva del estresor, sino más bien con la interpretación o el significado psicológico o cognitivo que el sujeto asigna a los distintos estímulos o situaciones, sean éstos físicos, relacionales o interpersonales o procesos internos meramente personales, subjetivos o psicológicos (Caballo y cols. 1996).

Al conjunto de manifestaciones de respuesta inespecífica que constituye el estrés se denomina síndrome de estrés o también, *Síndrome General de adaptación* adscribiéndole una evolución temporal a través de tres fases: reacción de alarma, etapa de adaptación o resistencia y etapa de agotamiento. La reacción de alarma se caracteriza por un aumento en la actividad

suprarrenal, reducción de los órganos timolinfáticos y cambios gastrointestinales (Caballo y cols. 1996).

A medida que progresan las fases se añaden otros signos como pérdida de peso corporal, desajustes en la regulación de la temperatura del cuerpo, desaparición de las células eosinófilas y alteraciones químicas en la composición de los tejidos y fluidos corporales (Caballo y cols. 1996).

Existen estudios que demuestran que el estado psicológico pre-quirúrgico, en especial la ansiedad, inciden en la recuperación post-quirúrgica. Es decir existe una relación directa entre la ansiedad y la capacidad del cuerpo para recuperarse. De hecho, se han desarrollado técnicas psicológicas para reducir la ansiedad y facilitar así la recuperación (Moix 1997).

El trastorno de ansiedad es el grupo de trastornos psiquiátricos más frecuente en la población general, con una incidencia mayor en las mujeres de 2:1; como grupo, es mas frecuente el de las mujeres jóvenes (20-30 años) con una prevalencia de 3-8 % y una tendencia constante, disminuyendo en la vejez (Crespo y cols. 2002).

Tomando en cuenta la respuesta y el estímulo responsables del estrés se puede definir en un sentido más amplio como un *estado de sobreactivación sostenido experimentado por una persona ante distintas situaciones consideradas o evaluadas como excesivas o amenazantes y que ocurren bajo condiciones de escasos recursos o habilidades de solución o control y de escaso apoyo social por parte del sujeto* (Caballo y cols. 1996).

Desde este marco conceptual, la relajación se considera una respuesta biológicamente antagónica a la de estrés (Jacobson 1938). Y es la relajación un arma terapéutica eficaz para tratar un gran número de manifestaciones psicossomática.

Más allá de los llamados trastornos por ansiedad (pánico, agorafobia, fobia social, obsesiones, ansiedad generalizada, etc.), la ansiedad es, además, un componente importante de otros problemas: problemas de alimentación, problemas sexuales, problemas de relación personal, dificultades de rendimiento intelectual, molestias físicas de origen psicossomático, etc. (Cautela y cols. 1987, Battista y cols. 2002, Fuste 1997).

Hampf y cols. En 1987 investigaron el grado de perturbación mental en los pacientes con Liquen Plano Bucal y encontraron que la mayoría de los pacientes empeoraban en los síntomas y en la apariencia clínica de las lesiones durante los periodos de estrés. Sin embargo, ninguno de sus 56 pacientes con Liquen Plano fue diagnosticado con desarreglos psiquiátricos y ninguno a excepción de uno necesitó terapia psicofarmacológica. La evaluación psiquiátrica en este estudio se realizó mediante la aplicación a los pacientes (siempre por un psiquiatra) del Cornell Medical Index (CMI); un cuestionario de salud mental que difiere entre hombres y mujeres y permite diagnosticar trastornos de personalidad.

Si bien es cierto que niveles altos de ansiedad han sido encontrados en pacientes con Liquen Plano Bucal (García-Pola y col. 2000, Bagán y Cerrero. 1995), la depresión, por su parte, ha estado casi ausente o cuando estuvo presente se encontró por debajo de los niveles de ansiedad (McCartan 1995, Colella y cols. 1993).

Dentro de los pacientes con Liquen Plano Bucal, existen un gran número de pacientes divorciadas, viudas, con personalidad propensa a la depresión, con pensamientos tristes, ansiosas, y el

51% de los pacientes con Liquen Plano Bucal manifiestan haber sufrido de situaciones estresantes al inicio de las lesiones (Lanfranchi 2001). Sin embargo, Allen y cols. en 1986 no encontraron diferencias estadísticamente significativas al medir los niveles de ansiedad en los pacientes con Liquen Plano Bucal y compararlos con su grupo control de pacientes sanos. Para esto utilizaron un instrumento psicométrico ideal para medir ansiedad; el State-trait Anxiety inventory.

Resultados similares encontró McCartan en 1995 que además encontró niveles bajos de depresión en su muestra de pacientes con Liquen Plano, mediante el uso de otro instrumento psicométrico para determinar los niveles de depresión; la escala HAD (Hospital Anxiety and Depression scale). Además, refuta con su estudio el perfil psicológico de los pacientes con Liquen Plano Bucal propuesto por autores como Shklar en 1972 y Fox en 1931 en el cual se presentaba a dichos pacientes como “intelectuales” con altos niveles de inteligencia y muy susceptibles a las tensiones que se originan a nivel profesional.

McCartan demuestra que esto no es así, al menos en su muestra, donde se aplica otro instrumento psicométrico que estudia personalidad; el Cattell 16 PF Questionnaire (McCartan

1995). Así pues, la controversia se mantiene acerca de la supuesta etiología psicógena del Liquen Plano Bucal.

La ansiedad suele ser evaluada a través de cuestionarios. Sin duda alguna, el más utilizado por su fiabilidad y validez es la escala estado del “State-trait Anxiety Inventory” (STAI). Esta escala consta de 20 ítems, las respuestas a cada uno de los ítems se registran en una escala de 4 puntos (0 nada, 1 algo, 2 bastante, 3 mucho) y se ha utilizado con éxito para medir la ansiedad y el estrés antes de procedimientos quirúrgicos (Moix 1997).

El cuestionario STAI, un instrumento para investigar los fenómenos de ansiedad (permite medidas objetivas de la ansiedad), comprende escalas separadas que miden dos conceptos independientes de la ansiedad, como estado (E) y como rasgo (R) (Crespo y cols. 2002).

La ansiedad estado (A/E) es una condición emocional transitoria del ser humano que se caracteriza por: Sentimientos subjetivos, conscientemente percibido, de tensión y aprensión y por pensamientos negativos. Y un alto grado de activación del

sistema nervioso autónomo (reacción general sin patrones específicos) (Crespo y cols. 2002).

La subescala ansiedad-estado (A/E) puede determinar los niveles actuales de intensidad de la ansiedad inducidos por procedimientos experimentales o como un índice del nivel del impulso. La ansiedad estado está conceptualizada como un estado o condición emocional transitoria del organismo humano, que se caracteriza por sentimientos subjetivos, conscientemente percibidos, de tensión y aprensión, así como por una hiperactividad del sistema nervioso autonómico. Puede variar con el tiempo y fluctuar en intensidad. Las puntuaciones A/E aumentan como respuesta a diferentes tipos de tensión y disminuyen como resultado de las técnicas de relajación; valora sentimientos de tensión, nerviosismo preocupación y aprensión (Crespo y cols. 2002).

La ansiedad rasgo (A/R) es una propensión relativamente estable, una tendencia a percibir las situaciones como amenazadoras y a elevar, consecuentemente, su ansiedad estado. Como un concepto psicológico la ansiedad-rasgo son como disposiciones que permanecen latentes hasta que son activadas por algunos estímulos de situaciones. Estas

disposiciones comportamentales adquiridas son residuos de experiencias pasadas que predisponen tanto a ver el mundo de una determinada manera como a manifestar unas tendencias de respuesta vinculada al objeto (Spielberger y cols. 1997). La variable ansiedad-rasgo (A/R) puede ser utilizada en investigación para seleccionar sujetos con diferente predisposición a responder al estrés psicológico con distintos niveles de intensidad de la A/E (Crespo y cols. 2002).

La puntuación A/R permite discriminar alumnos de enseñanza secundaria o universitaria según su predisposición a la ansiedad, así como para evaluar el grado en que están afectados por problemas de ansiedad neurótica los alumnos que acuden a los servicios de orientación y consejo (Crespo y cols. 2002).

En general, los sujetos con elevada A/R presentan mayor A/E y son más propensos a responder con un aumento de A/E en situaciones que impliquen alguna amenaza a la autoestima (Crespo y cols. 2002).

Ambos conceptos, en ciertos aspectos, se asemejan a las energías cinestésicas y potencial en el mundo de la física. La

primera es una manifestación, en un determinado momento y con un grado de intensidad, de un proceso o reacción empírica, mientras que la segunda indica diferencias de fuerza en una disposición latente para manifestar un determinado tipo de reacción. De la misma manera que la energía potencial presenta diferencias de los objetos en la cantidad de energía cinestésica que puede ser liberada mediante la aplicación de una fuerza apropiada, la ansiedad rasgo implica diferencias entre los sujetos en una disposición para responder a situaciones tensas con diferentes cantidades de ansiedad estado (Spielberger y cols. 1997).

En general, los sujetos A/R+ (con mayor ansiedad rasgo) presentarán un A/E+ (mayor ansiedad estado) que los sujetos A/R-, porque los A/R+ ven muchas más situaciones amenazadoras. Por tanto, los A/R+ son más propensos a responder con un aumento de A/E en situaciones de relaciones interpersonales que impliquen alguna amenaza a la autoestima. Sin embargo, el hecho de que las personas que difieren en A/R muestren unas correspondientes diferencias en A/E, depende del grado en que la situación específica es percibida por un determinado individuo como peligrosa o amenazadora, y esto

está muy influido por las particulares experiencias pasadas (Spielberger y cols. 1997).

El STAI también ha mostrado ser útil en la labor clínica. La puntuación A/R permite discriminar alumnos según su predisposición a la ansiedad, así como evaluar el grado en que están afectados por problemas de ansiedad neurótica los pacientes que acuden a servicios de orientación y consejo, psicoterapia y psiquiatría. También puede ser utilizada para medir los cambios que ocurren en situaciones la variable A/E, especialmente en momentos de tensión, nerviosismo, preocupación y aprensión (Spielberger y cols. 1997). Y se le ha utilizado con éxito para medir la ansiedad en pacientes que van a ser sometidos a cirugía bucal (Yusa y cols. 2004).

III.- OBJETIVOS

Objetivo General:

-Detección del virus Epstein-Barr y del virus Papiloma Humano en las lesiones de Liquen Plano Bucal.

-Medición de los niveles de ansiedad en los pacientes con Liquen Plano Bucal.

Objetivos específicos:

1.- Detección del virus Epstein-Barr y virus Papiloma Humano mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en biopsias de tejido de pacientes con Liquen Plano Bucal.

2.- Genotipaje del tipo de virus Papiloma Humano en biopsias de tejido de pacientes con Liquen Plano Bucal.

3.- Establecer la relación existente entre la ingesta de medicamentos y la presencia de las lesiones de Liquen Plano Bucal.

4.- Comparar la presencia de enfermedades sistémicas y la presencia de lesiones de Liquen Plano Bucal.

5.- Establecer la relación existente entre los hábitos tabáquicos de los pacientes con Liquen Plano Bucal y la presencia del virus Epstein-Barr y del virus Papiloma Humano.

6.- Cuantificar los niveles de ansiedad-estado en los pacientes con Liquen Plano Bucal según la escala del cuestionario ansiedad estado-rasgo "STAI" (State-Trait Anxiety Inventory).

7.- Cuantificar los niveles de ansiedad-rasgo en los pacientes con Liquen Plano Bucal según la escala del cuestionario ansiedad estado-rasgo "STAI" (State-Trait Anxiety Inventory).

8.- Comparar los niveles de ansiedad-estado y ansiedad-rasgo en los pacientes con Liquen Plano Bucal.

IV.- MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudiaron dos grupos de individuos. Un grupo de pacientes con Liquen plano Bucal: 20 individuos con lesiones. El diagnóstico clínico se corroboró mediante estudio histopatológico (muestra de biopsia de las lesiones fijada en formol, incluida en parafina y teñida con hematoxilina-eosina) e inmunofluorescencia directa positiva para fibrinógeno. Todos los pacientes fueron atendidos en el Servicio de Clínica Estomatológica “Magdalena Mata de Hening” de la Facultad de Odontología de la Universidad Central de Venezuela y en el Instituto de Biomedicina del Hospital José María Vargas de Caracas entre los años 2002-2003. Se excluyen del grupo; aquellos pacientes con lesiones liquenoides en vecindad con restauraciones metálicas y/o de acrílico que hayan aparecido posterior a la colocación de las mismas, pacientes con medicaciones sistémicas antihipertensivas, antidiabéticas y antidepresivas que hayan comenzado anterior a la aparición de las lesiones, pacientes con enfermedades inmunológicas como lupus eritematoso, eritema multiforme, enfermedad de rechazo de injerto y SIDA, y pacientes con displasias y/o carcinoma *in situ* (Myers y col. 2002).

Y un grupo control de 10 individuos con mucosas bucales sanas y sin antecedentes de Liquen Plano Bucal. Los pacientes de este grupo fueron atendidos en el post-grado de cirugía bucal y en el quirófano de periodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad Central de Venezuela entre los años 2002-2003 para realizarle tratamientos como exodoncias a colgajo de los terceros molares y alargamiento de corona clínica. Las muestras tomadas eran de mucosa sana.

Todos los pacientes firmaron el consentimiento informado para participar en la investigación siguiendo las directrices de la declaración de Helsinki (World Medical Association 2000) (VER ANEXO).

En todos los casos se completó un protocolo de estudio donde se recogió: datos personales del paciente, enfermedad actual, hábitos, antecedentes médicos, localización y características clínicas de las lesiones, características histopatológicas e inmunofluorescencia directa, análisis sanguíneo, y estado psicoemocional (VER ANEXO). Los análisis histopatológicos y de inmunofluorescencia fueron realizados siempre por dos histopatólogos (J.P. e I.D.) en el Instituto

Anatomopatológico “José A. O’Daly” en la Facultad de Medicina de la Universidad Central de Venezuela.

Cuestionario psicométrico. Se aplicó el cuestionario de Ansiedad Estado-Rasgo “STAI” (State-Trait Anxiety Inventory) en ambos grupos una hora antes del procedimiento de toma de biopsia. El cuestionario está diseñado para la autoaplicación y la misma se hizo de manera individual sin límite de tiempo. Aunque en las instrucciones impresas en el ejemplar se convida al paciente a no emplear demasiado tiempo en la respuesta de cada uno de los ítems (VER ANEXO) los pacientes utilizaban entre seis y ocho minutos para cada parte del cuestionario (A/E y A/R).

En la sección referente a la ansiedad-Estado se le indicaba al paciente rellenar con un bolígrafo la puntuación de 0 a 3 que indique mejor cómo se siente en el momento de la aplicación del cuestionario según lo indique cada ítem, indicando así mismo que no hay respuestas buenas ni malas y evitando al máximo utilizar el término “ansiedad”.

En la sección referente a la ansiedad-rasgo se convida al paciente a rellenar con un bolígrafo la puntuación de 0 a 3 que

indique mejor como se siente “en general” la mayoría de las ocasiones según indique cada ítem y nuevamente se señala que no hay respuestas buenas ni malas. Dentro de los datos personales que recoge el ejemplar impreso del cuestionario (VER ANEXO) en este estudio solo se indicó al paciente escribir su nombre, apellido y la edad.

En todos los casos se aplicaba primero la parte A/E y luego la A/R. El mismo investigador aplicó en todos los casos el cuestionario (A.A.).

En la tipificación española del STAI se obtienen puntuaciones transformadas en las escalas de centiles y decatipos. La puntuación centil indica el tanto por ciento del grupo normativo al que un sujeto determinado es superior en la variable apreciada por la prueba. Las puntuaciones decatipos constituyen una escala típica de diez puntos (media: 5,50. desviación: 2) que puede ser fácilmente comprendida por el público en general. Una vez obtenidas las puntuaciones directas mediante la aplicación de la plantilla a las respuestas del sujeto, y determinadas las características (sexo y edad) se busca en la tabla del manual de la prueba la puntuación centil y decatipo correspondiente. Un decatipo mayor o igual a seis (6) indica un

sujeto ansioso en la escala A/E o un sujeto con la ansiedad como rasgo de su personalidad en la escala A/R.

Manejo tisular. El material biológico consistió en muestras de tejido bucal obtenido mediante biopsias incisionales bajo anestesia local (lidocaína al 2% con epinefrina 1: 100.000 A.T.O.™ Zizine. París Francia) que se practicaban en los pacientes del servicio para diagnosticar lesiones con impresión diagnóstica de Liquen Plano Bucal (siguiendo los criterios de exclusión del grupo 1). Las muestras de tejido provenientes de lesiones ulcerosas o erosivas eran obtenidas mediante incisión proveniente de zonas aledañas al sitio ulcerado con el objeto de obtener un tejido con epitelio sano que permite observar la inmunoreacción a nivel de la unión epitelio-corión. En las lesiones reticulares las muestras se obtenían de las zonas blanquecinas.

Dichas muestras de tejido se dividían en tres porciones; una para ser fijada en formol tamponado, embebida en parafina, seccionada en microtomo (5 μ m), y teñida con hematoxilina-eosina para su análisis histopatológico. Otra que se colocó en solución fisiológica (muestra en fresco que incluía tejido no ulcerado) para la realización de la inmunofluorescencia directa

con anticuerpos policlonales (Dako Corporation, Conpenhagen, Denmark) fluoresceinados (C1q, fibrinógeno, C3, IgM, C4, IgG, IgA). Y otra que se congeló a menos 70°C en nitrógeno líquido para su posterior análisis molecular. La porción congelada para la extracción del ADN se dividió a su vez en dos porciones; una para la extracción del ADN-VPH y otra para extracción del ADN-VEB (**Fig. 1**).

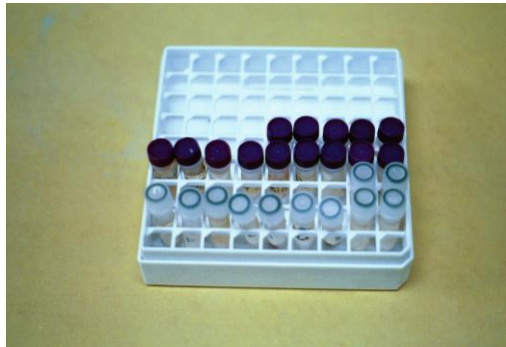


Fig. 1.- Muestras congeladas a -70° C en nitrógeno líquido: una porción para la extracción del ADN-VPH y otra para la extracción de ADN-VEB.

Extracción del ADN

1. Se agregó a las biopsias 100 µl de proteinasa K (1000 µg/ml) + 100 µl de buffer lisis (tris-HCL 10 mM + sarcosina

0.1%). Se agitó con vórtex y se colocó en baño de maría a 55°C por 2 horas. La proteinasa K se inactivó a 100°C por 5 min.

2. Se agregó igual volumen de cloroformo: fenol: isoamílico. Se vorterizó y centrifugó a 14000 rpm por 10 min.

3. Se tomó la fase acuosa y se transfirió a otro eppendorf para agregar igual volumen de cloroformo. Se mezcló por inversión suavemente y centrifugó a 14000 rpm por 10 min.

4. Se tomó la fase acuosa y se transfirió a otro eppendorf para precipitar el ADN agregando 1/10 volúmenes de acetato de amonio 3M y el doble de volumen de etanol puro frío. Se dejó toda la noche a -20°C.

5. Al día siguiente: se centrifugó a 14000 rpm durante 20 min. (**Fig. 2**).

6. Se descartó el sobrenadante y se agregó 500 µl de etanol al 75%. Se centrifugó a 14000 rpm durante 10 min.

7. Se descartó el sobrenadante y se colocaron los tubos en posición invertida sobre papel absorbente hasta que el etanol se evaporó totalmente.

8. Se resuspendió el pellet en 50µl agua destilada y libre de DNAsa.



Fig. 2.- Centrífuga utilizada durante la extracción del ADN.
Velocidad utilizada: 14000 rpm.

Reacción en cadena de la polimerasa para VPH.

Antes de las reacciones de amplificación se cuantificó el ADN extraído utilizando un GeneQuant (Pharmacia. Cambridge, UK).

En las reacciones de amplificación se emplearon iniciadores específicos PVHfast (Pharma Gen s.a., Madrid, España).

El ADN extraído se agregó a la mezcla para PCR que contenía: Dntp's, los iniciadores, un plásmido de 1200 pb para control positivo, $MgCl_2$, Taq polimerasa y agua.

La reacción de amplificación se realizó de la siguiente manera:

1.- Se descongeló un tubo de reacción por cada muestra durante unos pocos segundos a 37 °C y se guardó en hielo. Se añadió 5 µl del ADN extraído de las muestras y se mantuvo en hielo.

2.- Se programó el termociclador (PTC-150 minicycler. MJ Research. Watertown, Massachussets. USA) con los siguientes ciclos de temperaturas: 1 ciclo a 94 °C por 4 min. (desnaturalización inicial). 35 ciclos a; 94 °C por 1 min. (desnaturalización), 52 °C por 1,5 min. (anillamiento) y 72 °C por 2 min. (extensión). 1 ciclo a 72 °C por 10 min. (extensión final). Y finalmente 4 °C continuos hasta la recogida de los tubos (**Fig. 3**).

3.- Se colocaron los tubos y se inició el programa una vez que el bloque alcanzó los 90 °C. Minimizando así, las posibles amplificaciones inespecíficas debidas a incubación por debajo de la temperatura de hibridación.

La visualización del producto amplificado se realizó siguiendo el siguiente protocolo:

1.- Se llevó 10 μ l del producto amplificado con micropipeta a un tubo Eppendorf limpio. El resto del material se conserva a 4 °C para su posterior utilización, especialmente para la tipificación del virus con enzimas de restricción (**fig. 4**).

2.- Se añadió 2 μ l de solución de carga a los 10 μ l de producto amplificado y se cargó en un gel de agarosa al 2% en TBE 1X en una cámara de electroforesis (minisub. Biorad). Se utilizó como marcador de peso molecular 0,5 μ g de ADN (Molecular Weight Marker VIII. Boehringer Mannheim). La electroforesis se corrió a 8 V/cm (**fig. 5 y 6**).

La visualización se realizó en un transiluminador (2011 macrovue LKB. San Gabriel, California. USA).



Fig. 3.- Termociclador.



Fig. 4.- Micropipetas con sus puntas seriadas.

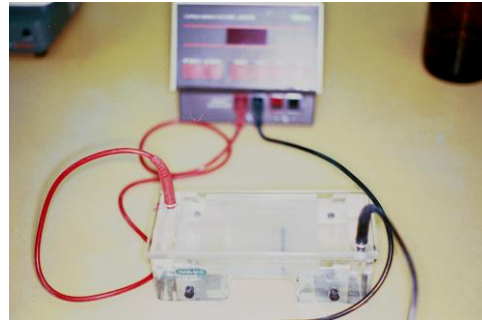
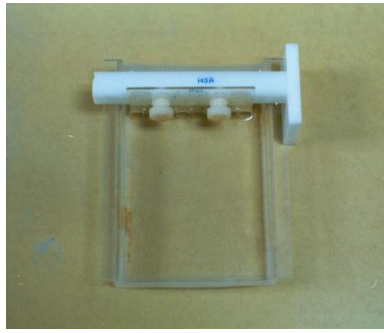


Fig. 5.- Gel de agarosa. **Fig. 6.-** Cámara de electroforésis

Para las muestras positivas aparecía una banda de 450 pb correspondiente al genoma de VPH. En el control interno aparecerá solamente la banda 1200 pb. En caso de que aparezca en el control negativo (mezcla sin ADN) una banda de 450 pb, significa que la amplificación está contaminada.

Tipificación por digestión con enzimas de restricción.

Se centrifugan unos segundos los tubos de enzima 1 de restricción y enzima 2 de restricción en la microfuga. La enzima 1 y la enzima 2 de restricción se mantienen siempre a -20 °C.

Se toman los tubos de reacción amplificados anteriormente de las muestras positivas para VPH y se añade a cada uno 1 µl de enzima 1 de restricción. Luego de resuspender se pasan 20 µl a otro tubo Eppendorf. Se añade 0,5-1 µl de enzima 2 de

restricción y se resuspende de nuevo suavemente. Se incuban los tubos a 37 °C durante 2 horas.

Al final a cada uno de los tubos de las 2 digestiones se añaden 3 µl de solución de carga y se corren 15 µl de cada uno en un gel de agarosa al 2,5% con TBE 1X, en la cámara de electroforesis (minisub. Biorad). Se utilizó como marcador de peso molecular 0,5 µg de ADN Molecular Weight Marker VIII (Boehringer Mannheim). La electroforesis se corrió a 8 V/cm.

La visualización se realizó en un transiluminador (2011 macrovue LKB. San Gabriel, California. USA).

En las muestras positivas la banda de 450 pb se digiere con este procedimiento generando un patrón de bandas dependiendo del tipo de virus. Además del patrón de bandas del virus aparecen dos bandas de 550 650 pb correspondientes a la digestión de la banda de 1200 pb de control interno.

Reacción en cadena de la polimerasa para VEB.

Antes de las reacciones de amplificación se cuantificó el ADN extraído utilizando un GeneQuant (Pharmacia. Cambridge, UK).

El ADN extraído se agregó a la mezcla para PCR (nested) que contenía en la amplificación “primer outer”:

-Buffer 10X: 6 μ l.

-MgCl₂ (50 mM): 1 μ l.

-Dntp's (10 mM): 2 μ l.

-Taq polimerasa: 0,5 μ l.

-Iniciador W1 (5'CTA GGG GAG AAC GTG AA3', nucleotidos 14555-14575): 0,5 μ l.

-Iniciador W2 (5'CTG AAG GTG AAC CGC TTA CCA 3', 14310-14380): 0,5 μ l.

-H₂O: 12,0 μ l.

-ADN: 2,5 μ l.

Se programó el termociclador (PTC-150 minicycler. MJ Research. Watertown, Massachussets. USA) con los siguientes ciclos de temperaturas: 30 ciclos de 94^aC por 4', 92^aC por 45'', 69^aC por 30'', 72^aC por 45'' y 72^aC por 5'.

En la segunda amplificación (primer inner) la mezcla contenía:

-Buffer 10X: 6 μ l.

- MgCl₂ (50 mM): 1 µl.
- Dntp's (10 mM): 2 µl.
- Taq polimerasa: 0,5 µl.
- Iniciadores W3 (5' GGT ATC GGG CCA GAG GTA AGT 3', nucleotidos 14605-14625).
- Iniciadores W4 (5' GCT GGA CGA GGA CCC TTC TAC 3', nucleótidos 14777-14797).
- H₂O: 12 µl.
- Amplificado: 2,5 µl.

Se programó el termociclador (PTC-150 minicycler. MJ Research. Watertown, Massachussets. USA) con los siguientes ciclos de temperaturas: 30 ciclos de 94^aC por 4', 92^aC por 45'', 69^aC por 30'', 72^aC por 45'' y 72^aC por 5'.

El control positivo fue una muestra de ADN de la línea B95-8 positiva para VEB y se hizo una reacción paralela para la beta-actina.

El producto de PCR fue analizado por electroforésis en un gel de agarosa al 3% y La visualización con bromuro de etidio se realizó en un transiluminador (2011 macrovue LKB. San Gabriel, California. USA).

Análisis estadístico

El análisis estadístico entre los resultados de ambos grupos se realizó mediante la utilización de la prueba de Fisher (Fisher Exact Test) procesando los datos mediante el software SPSS® para Windows versión 9.0 (©1998 SPSS Inc. Derechos reservados).

V.- RESULTADOS

El estudio se realizó en un grupo de pacientes que acuden a los Servicios de Medicina Estomatológica de la Facultad de Odontología de la Universidad Central de Venezuela y de Dermatología en el Instituto de Biomedicina.

Población estudiada: En este estudio fue evaluada una población total de 30 individuos, de los cuales 20 presentaban lesiones de Liquen Plano Bucal y 10 constituyeron el grupo control.

1.- Distribución de los pacientes con Liquen Plano Bucal y grupo control según la edad.

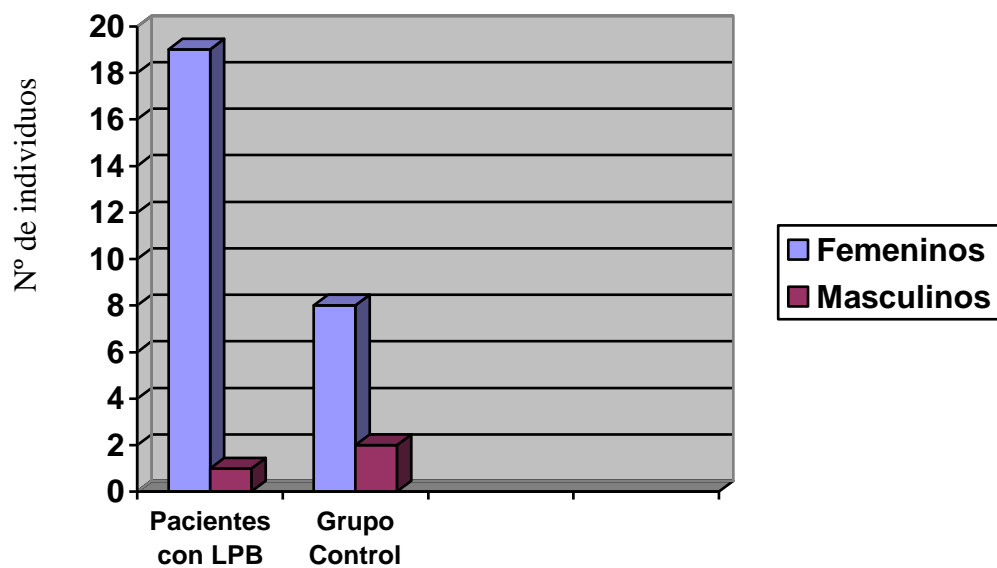
El promedio de edad del grupo de los pacientes con Liquen Plano Bucal, fue de $50,85 \pm 14.8$ ($X \pm DS$). Con un rango de edad entre 28 y 75 años.

Para el grupo control el promedio de edad fue de $38,6 \pm 19.43$ ($X \pm DS$) con un rango de edad entre 21 y 85 años.

2.- Distribución de los pacientes con Liquen Plano Bucal y grupo control según el género.

En la población evaluada se observó un predominio del género femenino en el grupo de pacientes con lesiones de Liquen Plano Bucal con 19/20 pacientes (95%) y solo un paciente del género masculino (5%). En el grupo control 8/10 pacientes fueron del género femenino (80%) y 2/10 de género masculino (20%) **(Gráfico 1)**

Gráfico 1.- Distribución de los pacientes con Liquen Plano Bucal (LPB) y el Grupo Control según el género.



3.- Distribución de los pacientes según los tipos de Liquen Plano Bucal.

El tipo de liquen plano bucal más frecuente según la apariencia clínica fue el reticular con 9/20 casos (45%), seguido del: erosivo con 4/20 casos (20%), 3/20 pacientes (15%), presentaron tanto lesiones reticulares como erosivas, 1/20 paciente (5%) presentó lesiones reticulares, lesiones en placa y zonas atróficas alternadas, un solo paciente (5%) presentó la apariencia clínica de una mácula hipercrómica, mientras que otro paciente presentó una mezcla de zonas reticulares y máculas hipercrómicas, y un paciente presentó lesiones en placa y erosivas (**Tabla I, Fig. 7, 8, 9**)

Tabla I.- Distribución de los pacientes según los tipos de Liquen Plano bucal.

Nº de pacientes	Tipo de Liquen Plano (apariencia Clínica)	%
10	Reticular	50
8	Erosivo	40
1	Atrófico	5
1	Mácula Hipercrómica(*)	5

(*)No se puede clasificar en ninguna de las clasificaciones propuestas



Fig. 7.- Lesiones erosivas

y reticulares de Liquen Plano Bucal.



Fig. 8.- Liquen Plano en Placas.



Fig. 9.- liquen Plano erosivo.

4.- Distribución de los pacientes con liquen Plano Bucal y el grupo control según la sintomatología.

Referente a los síntomas se pudo observar que 7/20 pacientes (35%) del grupo con Liquen Plano fueron asintomáticos, mientras que los otros 13/20 (65%) presentaron los siguientes síntomas: ardor (30%), sensación de mucosa rugosa o “acartonada” (30%), dolor (30%), sensación de mucosa rugosa y ardor (7%). De los pacientes sintomáticos el 53,84% (7/13) presentaron la forma reticular de Liquen. (**Tabla II**).

Tabla II.- Distribución de los pacientes con liquen Plano Bucal y el grupo control según la sintomatología.

<i>Tipo de Liquen</i>	<i>Síntoma</i>	<i>Grado de dolor (1-10)*</i>
Reticular	No refiere	0
Reticular	Mucosa rugosa	0
Mácula Hiperocrómica	No refiere	0
Erosivo	No refiere	0
Atrófico	Ardor	0
Erosivo	Dolor	3
Erosivo	Ardor	0
Reticular	No refiere	0
Erosivo	Dolor	2
Reticular	No refiere	0
Reticular	Mucosa rugosa	0
Erosivo	Ardor	0
Erosivo	Ardor	0
Reticular	Mucosa rugosa	0
Reticular	Mucosa rugosa	0
Reticular	No refiere	0
Reticular	Dolor	3
Reticular	Mucosa rugosa-ardor	0
Erosivo	Dolor	5
Erosivo	No refiere	0

(*) Escala subjetiva que manifestaba el paciente al momento de la anamnesis.

5.- Distribución de los pacientes con Liquen Plano Bucal y el grupo control según las manifestaciones extrabucales.

En el grupo evaluado 2/20 pacientes (10%) presentaron lesiones Liquenoides en otras mucosas (específicamente mucosa de vulva), mientras que 9/20 pacientes (45%) presentaron lesiones en piel: observandose en 5/9 pacientes máculas hipercrómicas, en 2/9 pacientes máculas y pápulas hipercrómicas, un paciente pápulas hipercrómicas y otro paciente máculas hipocrómicas.

También se observó que 8/20 pacientes (40%) además tenían lesiones en uñas y/o cabellos: 5/8 pacientes micosis a nivel de las uñas, y 3/8 pacientes con alopecia (**gráfico 2**).

En el grupo control no se encontraron lesiones liquenoides en otras mucosas, solo un individuo (10%) presentaba lesiones costrosas en piel, ninguno presentó lesiones en uñas y/o cabellos (**gráfico 2**).

6.- Distribución de los pacientes con Liquen Plano Bucal y el grupo control según el hábito tabáquico.

Con respecto a los hábitos tabáquicos 7/20 pacientes con Liquen Plano Bucal (35%) manifestaron el hábito de fumar, de los cuales: 6/7 pacientes tenían el hábito desde hace más de 20 años y solo uno fumaba recientemente, 5/7 pacientes fumaban una o más de una caja de cigarrillos al día y 2/7 pacientes fumaban menos de una caja.

En el grupo control 2/10 pacientes (20%) presentaban el hábito de fumar cigarrillos; ambos menos de una caja al día, uno desde hace más de 20 años y el otro desde un periodo más corto **(gráfico 3)**.

Mediante la prueba para datos no paramétricos de Fisher existe una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos $P > 0.90$ (1.37 es el estadístico de contraste para la significancia en este grupo).

Gráfico 2.- Distribución de los pacientes con LPB y el grupo control según las manifestaciones extrabucales.

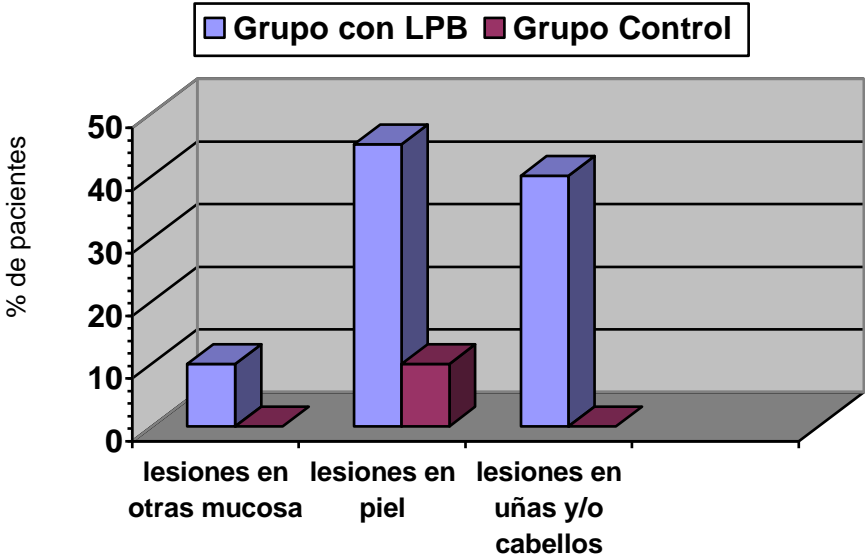
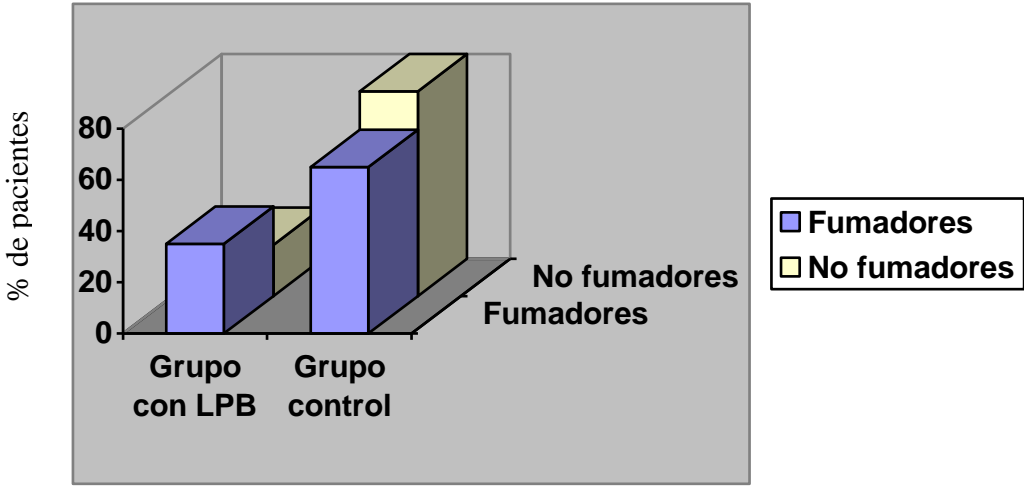


Grafico 3.- Distribución de los pacientes con LPB y grupo control según el hábito de fumar.



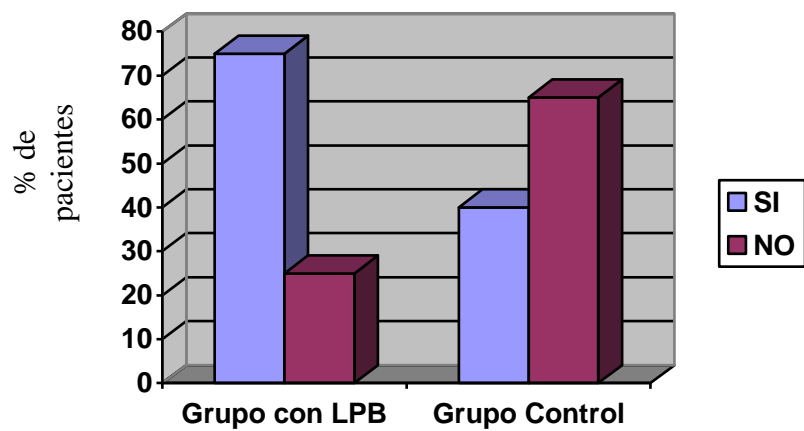
7.- Distribución de pacientes con Liquen Plano Bucal y grupo control según la ingesta de medicamentos.

En cuanto a la ingesta de medicamentos 15/20 pacientes (75%) del grupo con Liquen ingerían medicamentos en el momento del diagnóstico. El medicamento más frecuente es la vitamina E (5/15 pacientes), seguido por suplementos de calcio (4/15 pacientes) y la aspirina (2/15 pacientes) (**gráfico 4**).

En el grupo control, 6/10 pacientes (60%) no ingerían medicamentos. Mientras que 4 pacientes (40%) usaban medicamentos (**gráfico 4**).

Se observó una diferencia estadísticamente significativa al aplicar una prueba H para muestras no paramétricas entre el grupo con Liquen y el grupo control $P > 0.95$ (1.85 es el valor estadístico de contraste para este grupo)

Gráfico 4.- Distribución de pacientes con Liquen Plano Bucal y grupo control según la ingesta de medicamentos.



8.- Distribución de los pacientes con Liquen Plano bucal y grupo control según presencia de enfermedades sistémicas concomitantes.

En el grupo de pacientes con liquen plano bucal, 6/20 (30%) presentaban una enfermedad sistémica concomitante (**gráfico 5**). Las enfermedades que se presentaron fueron: depresión bipolar, artritis, candidiasis bucal, asma, varices en las piernas, hipotiroidismo, gastritis, hipertensión arterial y enfermedad vascular periférica. De los pacientes que presentaban enfermedades sistémicas concomitantes al Liquen Plano Bucal, 5/6 pacientes (83,3%) presentaron la forma erosiva sola o asociada a otra forma de Liquen Plano Bucal (**tabla III**).

En el grupo control, 5/10 pacientes (50%) de los pacientes presentaron alguna enfermedad sistémica (**gráfico 5**). En este grupo la hepatitis A se presentó en 2/5 pacientes. Las otras enfermedades fueron: artritis, osteoporosis, varicela e hipertensión arterial. Se observa una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos $P > 0.90$ (1,37 estadístico de contraste según la tabla del test de Fisher), con una prevalencia de enfermedades sistémicas en el grupo control (**tabla III**).

Gráfico 5.- Distribución de los pacientes con Liquen Plano Bucal y grupo control según la presencia de enfermedades sistémicas.

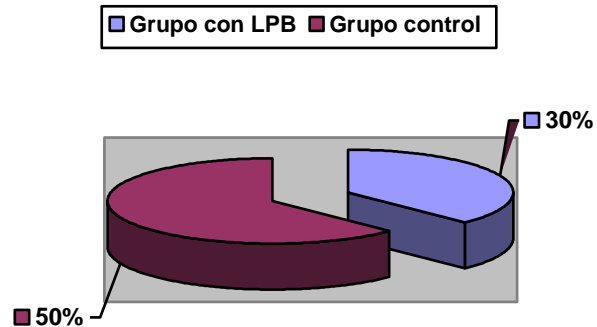


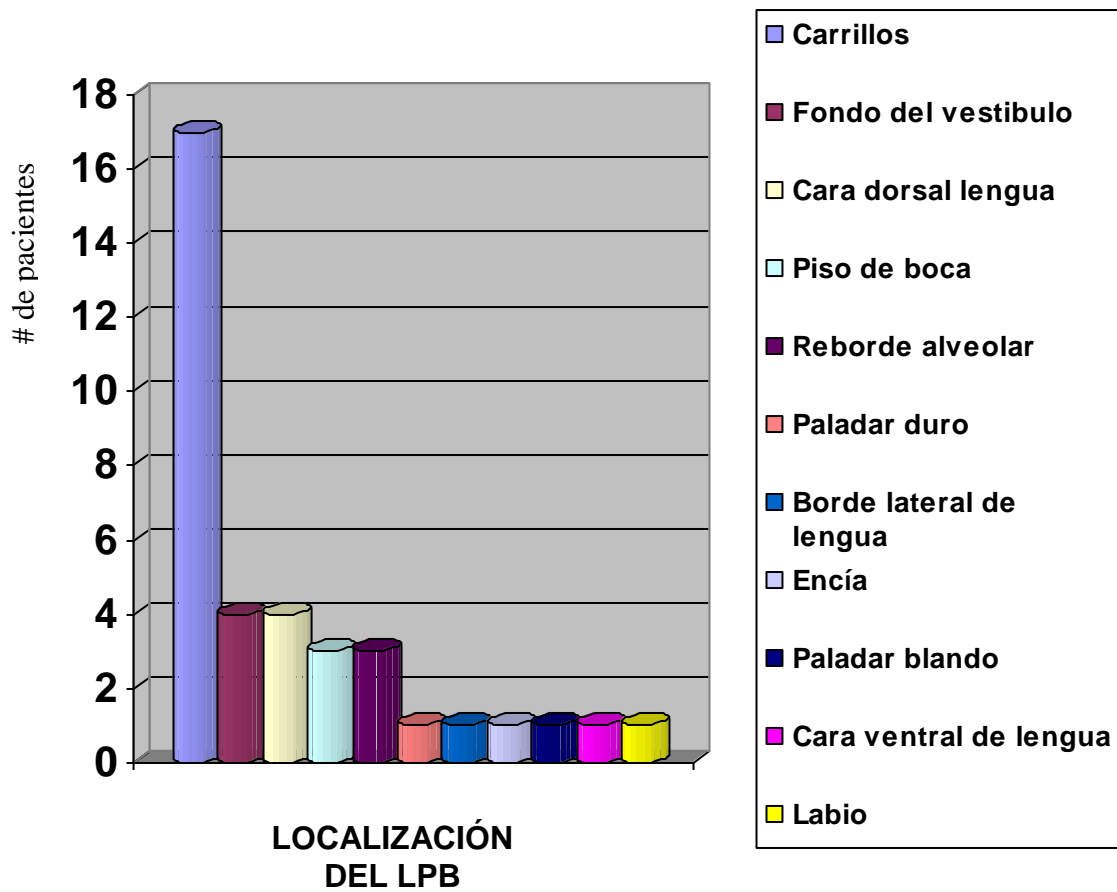
Tabla III.- Enfermedades sistémicas según el tipo de Liquen Plano Bucal.

<i>Tipo de Liquen</i>	<i>Enfermedad sistémica asociada</i>
Erosivo	Asma, várices en las piernas.
Erosivo	Artritis
Erosivo	Depresión bipolar
Placa-erosivo	Candidiasis bucal
Reticular-erosivo	Hipotiroidismo, gastritis
Reticular	Hipertensión arterial, Enfermedad vascular periférica

9.- Distribución de los pacientes con Liquen Plano Bucal según la localización de las lesiones.

La localización más frecuente de las lesiones de Liquen fue cara interna de carrillos con 17/20 (85%) pacientes (**fig. 7, 10 y 11**) seguida por fondo del vestíbulo con 4/20 (20%) pacientes, cara dorsal de la lengua con 4/20 (20%), piso de la boca con 3/20 (15%), reborde alveolar 3/20 (15%) pacientes, y paladar duro, bordes laterales de la lengua, encía, paladar blando, cara ventral de la lengua y labio con solo un paciente (5%) presentando lesiones en cada localización respectivamente (**fig. 12**). Las lesiones se presentaban en varias localizaciones en un mismo paciente en la mayoría de los casos.

Grafico 6.- Distribución de los pacientes con Liqueen Plano Bucal según la localización de las lesiones.



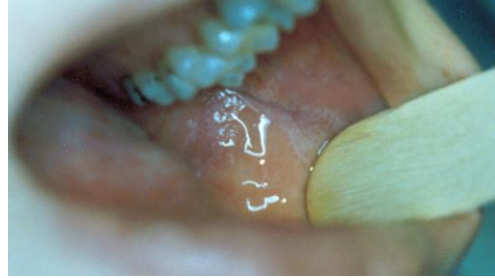


Fig. 10 y 11.- Liquen Plano Reticular en cara interna de carrillo. A la izquierda mezclado con zonas melanóticas, a la derecha mezclado con zonas atróficas.



Fig. 12.- Lesiones de Liquen plano en semimucosa de labio inferior.

10.- Evaluación histopatológica de las lesiones de pacientes con Liquen Plano Bucal.

El estudio histopatológico se realizó como parte de los exámenes diagnóstico. Las muestras de tejido coloreadas con hematoxilina y eosina presentaron las siguientes características histopatológicas: 18/20 muestras (90%) presentaron acantosis (**Fig.13**), 16/20 (80%) presentaron degeneración hidrópica del epitelio (**Fig. 14 y 15**), 11/20 (55%) muestras presentaron cuerpos de civatte, 10/20 (50%) papilomatosis, y 10/20 (50%) infiltrado inflamatorio moderado en banda en unión corión-epitelial, 7/20 (35%) muestras hiperparaqueratosis (**Fig. 13**), y 6/20 (30%) hiperortoqueratosis, 5/20 (25%) infiltrado inflamatorio leve en banda en unión corión-epitelial (**Fig. 16**), y 5/20 (25%) presentaron infiltrado inflamatorio severo en banda en unión corión-epitelial (**Fig. 17**), tres (15%) muestras presentaban melanosis, tres (15%) congestión vascular, dos (10%) elongación de los mamelones epiteliales, dos (10%) fibrosis del corión, y dos (10%) hemosiderófagos, una (5%) muestra presentaba edema del corión, una (5%) infiltrado linfocítico alrededor de pequeños vasos, y otra (5%) extravasación de glóbulos rojos en el epitelio, una (5%) muestra presentaba vesícula sub-epitelial, y otra (5%)

muestra mostraba células gigantes multinucleadas a nivel del conjuntivo (**Fig. 18**) (**Tabla IV**).

Tabla IV.- Evaluación histopatológica de las lesiones de pacientes con Liquen Plano Bucal.

<i>Característica histopatológica</i>	<i>Número de muestras</i>
Acantosis	18
Degeneración hidrópica	16
Cuerpos de Civatte	11
Papilomatosis	10
Infiltrado inflamatorio en banda Moderado (*)	10
Hiperparaqueratosis	7
Hiperortoqueratosis	6
Infiltrado inflamatorio en banda leve (*)	5
Infiltrado inflamatorio en banda severo (*)	5
Melanosis	3
Congestión vascular	3
Elongación de los mamelones epiteliales.	2
Fibrosis del Corión	2
Hemosiderófagos	2
Edema del corión	1
Infiltrado linfocítico alrededor de pequeños vasos	1
Extravasación de glóbulos rojos en el epitelio	1
Vesícula subepitelial	1
Células gigantes multinucleadas.	1

(*) Todas las muestras (100%) presentaron infiltrado inflamatorio tipo linfocítico en banda a nivel subepitelial siendo ésta la característica histopatológica más frecuente.

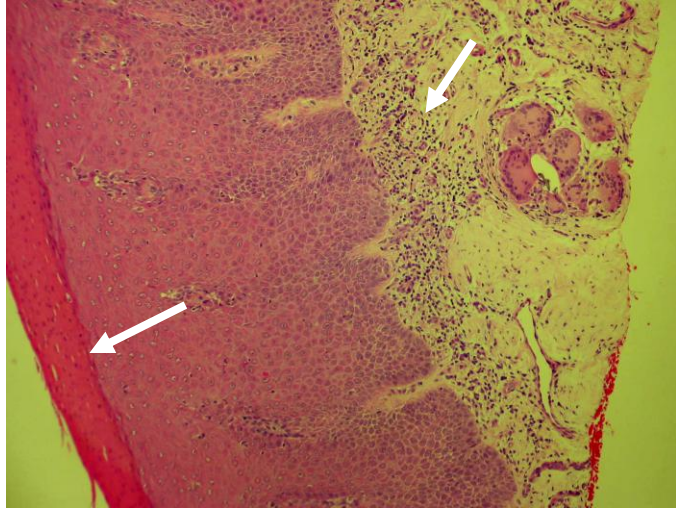


Fig. 13.- Microfotografía de mucosa de reborde alveolar, coloración H-E. Se observa acantosis, hiperparaqueratosis e infiltrado inflamatorio leve. La apariencia clínica era de Liquen Plano en Placas. Aumento: 10X.

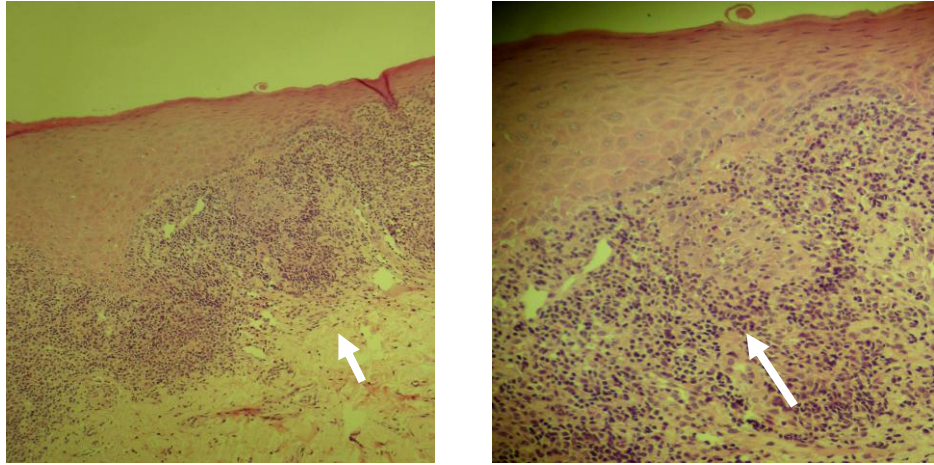


Fig. 14 y 15.- Microfotografía de mucosa de piso de boca, coloración H-E. Nótese el infiltrado linfocítico en banda con la consiguiente degeneración hidrópica de las capas basales del epitelio. Aumento: 20X

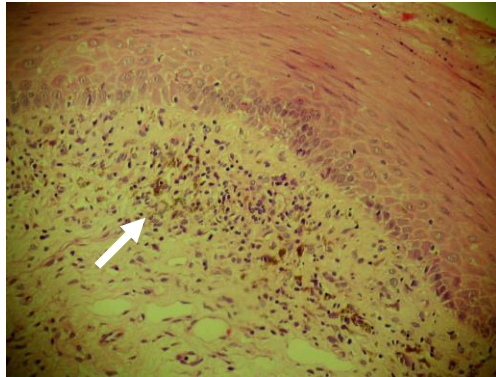


Fig. 16.- Microfotografía de mucosa de cara interna de carrillo, coloración H-E. Se observa un leve infiltrado inflamatorio en banda a nivel del corión y la presencia de macrófagos cargados de pigmento. Aumento: 40X Clínicamente se trataba de un Liquen Plano Reticular.

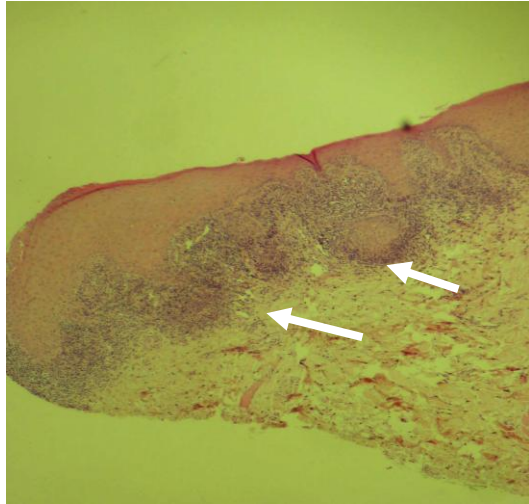


Fig. 17.- Microfotografía de mucosa de piso de boca. Coloración H-E. Se observa infiltrado inflamatorio linfocítico (severo) en banda a nivel subepitelial. Clínicamente era una zona erosiva. Aumento 10X.

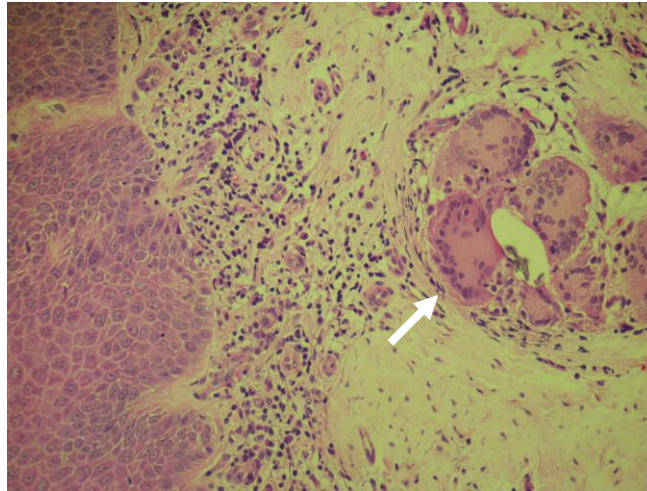


Fig. 18.- microfotografía anterior a mayor aumento (40X).
Nótese la presencia de células gigantes multinucleadas a nivel
del conjuntivo.

11.- Evaluación de la localización de Fibrinógeno en las muestras de los pacientes con Liquen Plano Bucal por inmunofluorescencia

Todas las muestras fueron positivas para fibrinógeno en los pacientes con Liquen Plano Bucal. En la figura 19 se puede observar el inmunomarcaje a todo lo largo de la unión corión-epitelial.

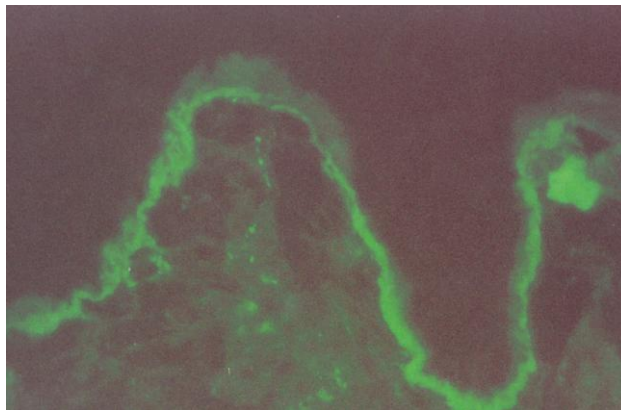


Fig. 19.- Inmunofluorescencia positiva para fibrinógeno a todo lo largo de la unión corión-epitelial.

12.- Evaluación de las moléculas del complemento C₃, C₄, C_{1q} y de los anticuerpos IgM, IgG e IgA por inmunofluorescencia directa en relación al tipo de Liquen Plano Bucal.

Al evaluar la presencia de inmunoglobulinas se observó que 16/20 muestras resultaron positivas para IgG, siendo el tipo reticular el que presentó mayor número de inmunoreactividad (50%) para este anticuerpo. En relación a las moléculas de complemento 14/20 muestras (70%) resultaron positivas para las proteínas del complemento C₃, y 8/20 para la presencia de C_{1q} (37.5%), siendo el tipo reticular el que presentó mayor número de muestras positivas para ambos marcadores. Mientras que 4/20 muestras resultaron positivas para C₄, siendo el tipo erosivo el que presentó mayor número de muestras inmunopositivas (75%).

En relación a la presencia de anticuerpos de la clase IgM e IgA; 12/20 muestras resultaron positivas para IgM, siendo más frecuente en el tipo reticular (41.6%). Solamente 1/20 muestra resultó positiva para IgA, y esta se presentó en una muestra de tipo reticular (**Tabla V**).

Tabla V.- Inmunopositividad de las proteínas del complemento y de los anticuerpos IgG, IgM E IgA por inmunofluorescencia directa en relación al tipo de Liquen Plano Bucal.

<i>Tipo de Liquen</i>	<i>Fibrinógeno</i>	<i>C1q</i>	<i>C3</i>	<i>C4</i>	<i>IgM</i>	<i>IgG</i>	<i>IgA</i>
Erosivo.	++	-	++	-	-	++	-
Reticular	+	-	trazas	-	-	+	trazas
Reticular	++	-	trazas	-	-	+	-
Reticular	+++	-	trazas	-	-	+	-
Erosivo	++	-	trazas	-	trazas	+	-
Erosivo	+	-	-	-	-	-	-
Reticular	++	trazas	trazas	-	+	trazas	-
Erosivo	+++	+	-	-	++	++	-
Erosivo	trazas	-	trazas	+	trazas	+	-
Reticular	++	-	-	-	-	-	-
Erosivo	+++	-	trazas	-	trazas	+	-
Reticular	++	trazas	trazas	-	trazas	trazas	-
Reticular	+++	trazas	trazas	-	+	+	-
Erosivo	+	trazas	++	trazas	trazas	trazas	-
Atrófico	+	-	-	-	-	-	-
Reticular	+	-	-	-	-	-	-
Reticular	++	-	-	-	++	+	-
Reticular	++	trazas	trazas	++	+	++	-
Mácula hipercrómica	++	+	++	-	++	++	-
Erosivo	++	+	++	++	+	++	-

13.- Localización de la inmunopositividad para el fibrinógeno, los anticuerpos IgG, IgM e IgA y las moléculas del complemento C₃, C₄ y C_{1q}.

La localización más frecuente para el fibrinógeno fue la unión corión-epitelial con 12/20 muestra positivas (60%). Mientras que para la IgM se observó más frecuentemente a nivel del corión con 5/12 (42%) muestras positivas en dicha localización. En relación a la IgG la inmunopositividad se presentó en el tejido conjuntivo tanto superficial como profundo (submucosa) con 10/16 muestras positivas (63%). La IgA solo se presentó en el corión de un solo caso.

Con respecto a las proteínas del complemento; para el C_{1q} la localización más frecuente fue el corión con 3/8 (38%) y la unión corión-epitelio con 3/8 muestras positivas. Mientras que para C₃ fue las paredes de los pequeños vasos con 4/14 muestras positivas (29%). Para el C₄ la localización más frecuente fue las paredes de los pequeños vasos con 3/4 muestras positivas (75%) (**Tablas VI y VII**).

Tabla VI.- Localización de la inmunopositividad para IgM, IgG e IgA.

Anticuerpo	<i>Paredes de pequeños vasos</i>	<i>Corión</i>	<i>Conjuntivo superficial y profundo</i>	<i>Unión Corión-Epitelial</i>	<i>Corión y paredes de pequeños vasos</i>
IgM	3/12	5/12	2/12	1/12	1/12
IgG	0	3/16	10/16	2/16	1/16
IgA	0	1	0	0	0

Tabla VII.- Localización de la inmunopositividad para fibrinógeno, C₃, C₄ Y C_{1q}.

Marcador	<i>Unión Corión-epitelio</i>	<i>Conjuntivo superficial y profundo</i>	<i>Paredes de pequeños vasos</i>	<i>Corión y paredes de pequeños vasos</i>	<i>Corión</i>
Fibrinógeno	12/20	4/20	0	3/20	1/20
C ₃	2/14	2/14	4/14	4/14	2/14
C ₄	0	1/4	3/4	0	0
C _{1q}	3/8	0	0	2/8	3/8

14.- Pruebas serológicas de los pacientes con Liquen Plano Bucal.

De todos los pacientes del grupo con Liquen Plano solo uno presentó hiperglicemia (115 mg/dl), siendo normales los valores de glicemia del resto de los pacientes.

La alteración hematológica más encontrada en el grupo de pacientes con Liquen fue la anemia con 4 casos (20%). 12/20 pacientes (60%) presentaron alteraciones serológicas (**Tabla VIII**).

Tabla VIII.- Alteraciones serológicas.

<i>Alteración serológica</i>	<i>n</i>
Anemia	4
hiperglicemia	1
neutrofilia	1
eosinofilia	1
leucocitosis	1
leucopenia	1
Eritrosedimentación disminuida	1
hiperlipidemia	1
linfopenia	1

15.- Análisis molecular del virus Papiloma Humano en muestras de pacientes con Liquen Plano Bucal y Grupo control mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa.

El análisis molecular de las muestras provenientes de pacientes con Liquen Plano Bucal y del grupo control, mostró que ninguno de los pacientes presentó genoma viral, ya que en la electroforésis no se observó la banda de 450 pb característica de la amplificación de la región conservada L1 delimitada por los oligonucleótidos iniciadores específicos del PVHfast (Pharma Gen).

En el carril 1 se observó el marcador de peso molecular. En todos los carriles se visualiza la banda de 1200 pb del gen del control interno de la prueba, la cual se observó en todas las muestras. En el carril 2 se observa el control negativo. En el carril 4 se observa la banda de 450 pb del genoma del virus tipo 18 de las células HeLa correspondiente al control positivo y en los carriles 3, 5, 6, 7 y 8 muestras de pacientes negativos para la presencia de genoma del VPH (**fig. 20**).

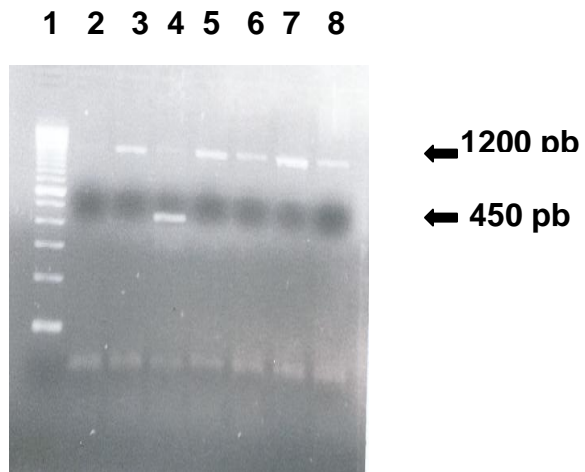


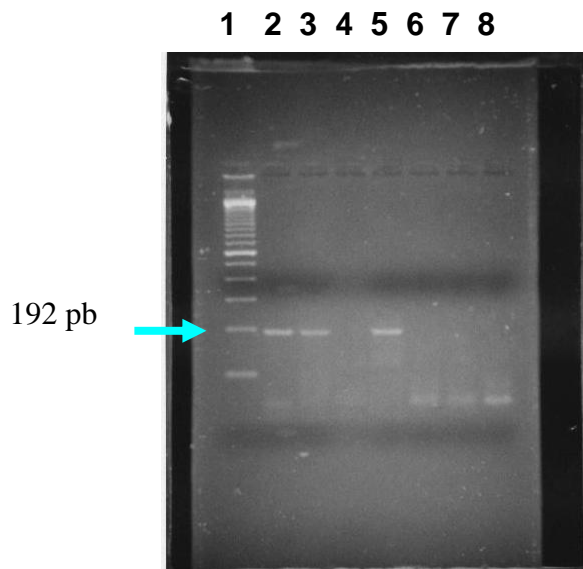
Fig. 20.- Detección del virus Papiloma Humano en muestras de Liquen Plano Bucal. Línea 1: marcador de peso molecular. Línea 2: control negativo. Líneas 3, 5, 6, 7 y 8 ADN de pacientes. Línea 4: control positivo.

16.- Análisis molecular del virus Epstein-Barr en Muestras de pacientes con Liquen Plano Bucal y Grupo Control mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa.

El ADN extraído de los tejidos provenientes de los pacientes que resultaron positivos para la presencia del genoma viral, mostraron una banda de 192 pb característica de la amplificación de la región W1 delimitada por los oligonucleótidos iniciadores 14555-14575 (5'CTA GGG GAG AAC GTG AA3') y la región W2 delimitada por los oligonucleótidos 14310-14380 (5'CTG AAG GTG AAC CGC TTA CCA3') como resultado de la nested-PCR.

En la electroforesis en gel de agarosa se visualiza en el carril 1 el marcador de peso molecular, en los carriles 3 y 5 pacientes positivos para el genoma viral, en los carriles 4, 6 y 7 pacientes negativos. Además se observa en el carril 2 el control positivo correspondiente (**Fig. 21**)

Fig. 21.- Detección del virus Epstein-Barr en lesiones bucales de Liquen plano.

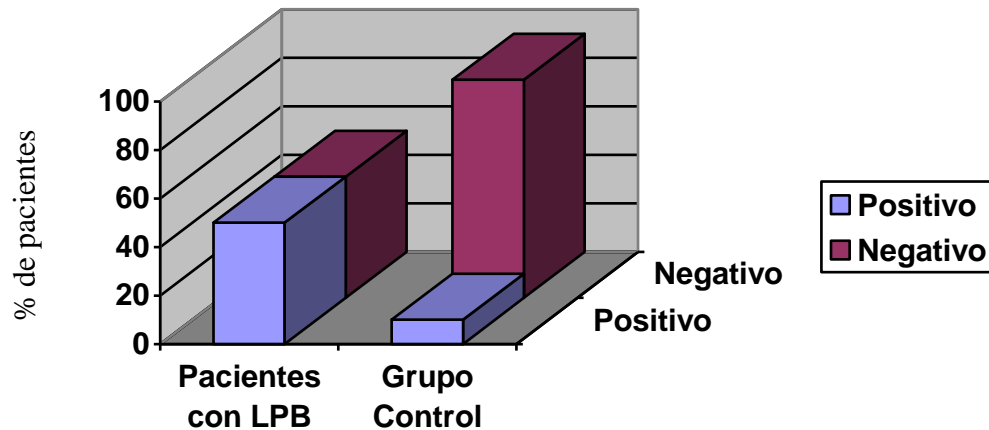


El producto de PCR 192 pb (flecha). Línea 1: marcador de peso molecular. Línea 2: control (línea celular B95-8). Línea 3 y 5: pacientes positivos. Líneas 4, 6 y 7: pacientes negativos. Línea 8: control negativo.

17.- Detección de virus Epstein-Barr por Reacción en Cadena de la Polimerasa en pacientes con Liquen Plano Bucal y Grupo Control.

En la evaluación de las biopsias provenientes de pacientes con Liquen Plano Bucal por técnicas de Biología Molecular se encontró la presencia del genoma del virus Epstein-Barr en 10/20 (50%) pacientes. En el grupo control se obtuvo que un individuo (10%) fue positivo para el genoma viral. Se observó una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos con una confianza de $\alpha=90\%$ gracias a la prueba no paramétrica de Fisher con un $P > 0.80$ (**Gráfico 7**).

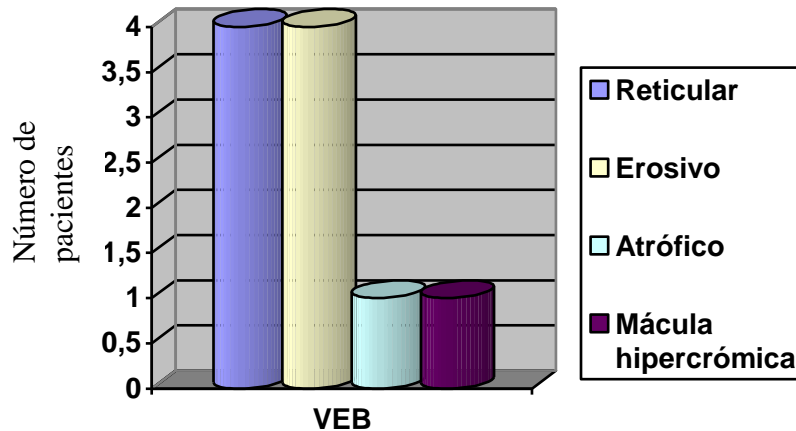
Grafico 7.- Distribución de los pacientes con LPB y grupo control positivos para virus Epstein-Barr.



18.- Distribución de los pacientes positivos para el virus Epstein-Barr según el tipo de Liquen Plano Bucal.

De los 10 pacientes positivos para el VEB 4/10 (40%) presentaron la forma reticular de Liquen Plano Bucal. El mismo número de pacientes presentó la forma erosiva; siendo estas las formas clínicas más comunes (**gráfico 8**). Un paciente presentó la forma atrófica de Liquen Plano Bucal y un paciente presentó la apariencia clínica de mácula melanótica.

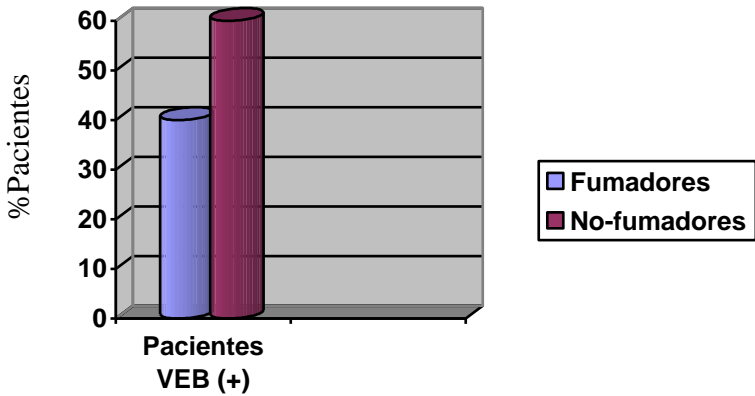
Gráfico 8.- Distribución de los pacientes positivos para VEB según el tipo de Liquen Plano Bucal.



19.- Distribución de los pacientes con Liquen Plano Bucal y Grupo Control positivos para el virus Epstein-Barr según el hábito tabáquico.

De los 10 pacientes positivos para el VEB 4/10 (40%) tenían el hábito de fumar cigarrillos mientras que el único paciente positivo para el VEB en el grupo control no tenía dicho hábito (**gráfico 9**). Esta diferencia es estadísticamente significativa $P > 0.090$ (0.699 es el estadístico de contraste).

Gráfico 9.- Distribución de los pacientes con Liquen Plano Bucal positivos para el VEB según el hábito tabáquico.



20.-Evaluación del Estado psicoemocional de los pacientes con Liquen Plano Bucal y grupo control

Según el cuestionario realizado a los pacientes a la pregunta: “¿se siente normalmente calmado y seguro?” 14/20 pacientes del grupo con Liquen Plano Bucal contestaron afirmativamente (70%) y 6/20 pacientes contestaron no (30%). Referente al grupo control 8/10 pacientes contestaron sí (80%) y 2/10 pacientes contestaron no (20%) (**Gráfico 10 y 11**).

Gráfico 10.- Pregunta: ¿se siente normalmente calmado y seguro? Grupo con Liquen Plano Bucal

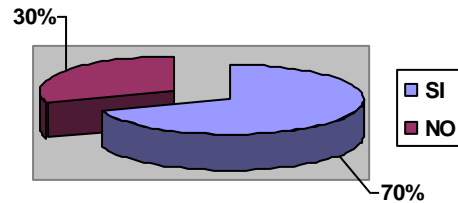
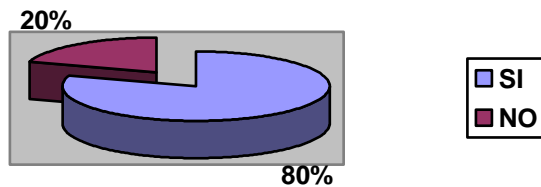


Gráfico 11.- Pregunta: ¿se siente normalmente calmado y seguro? Grupo control



A la pregunta: “¿se preocupa normalmente por desgracias futuras?” 12/20 pacientes del grupo con Liquen Plano Bucal contestaron sí (60%) y 8/20 pacientes contestaron no (40%). En el grupo control 2/10 pacientes contestaron sí (20%) y 8/10 pacientes contestaron no (80%) (**Gráfico 12 y 13**).

Gráfico 12.- Pregunta: ¿se preocupa normalmente por desgracias futuras? Grupo con Liquen Plano Bucal

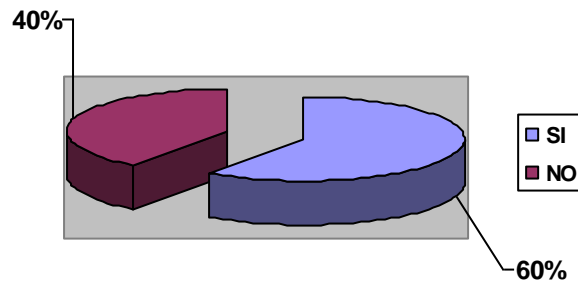
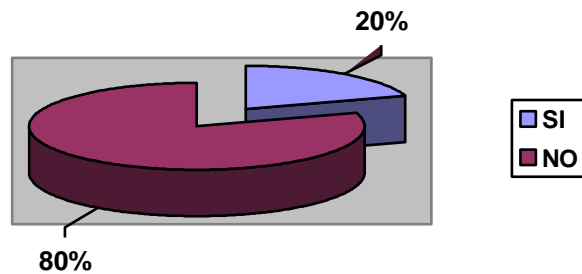


Gráfico 13.- Pregunta: ¿se preocupa normalmente por desgracias futuras? Grupo control



A la pregunta: “¿siente frecuentemente ganas de llorar?” 9/20 pacientes del grupo con Liquen Plano Bucal contestaron afirmativamente (45%) y 11/20 pacientes contestaron no (55%).

En el grupo control; 3/10 pacientes contestaron sí (30%) y 7/10 pacientes contestaron no (70%) (**Gráfico 14 y 15**).

Gráfico 14.- Pregunta: ¿siente frecuentemente ganas de llorar? Grupo con Liquen Plano Bucal.

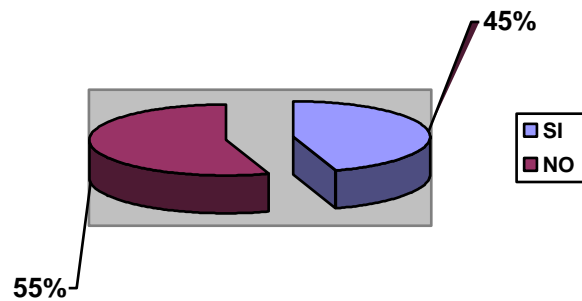
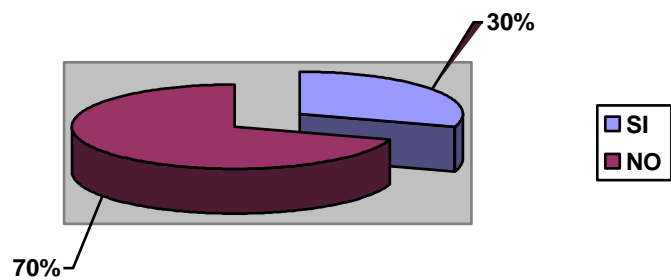


Gráfico 15.- Pregunta: ¿siente frecuentemente ganas de llorar? Grupo control.



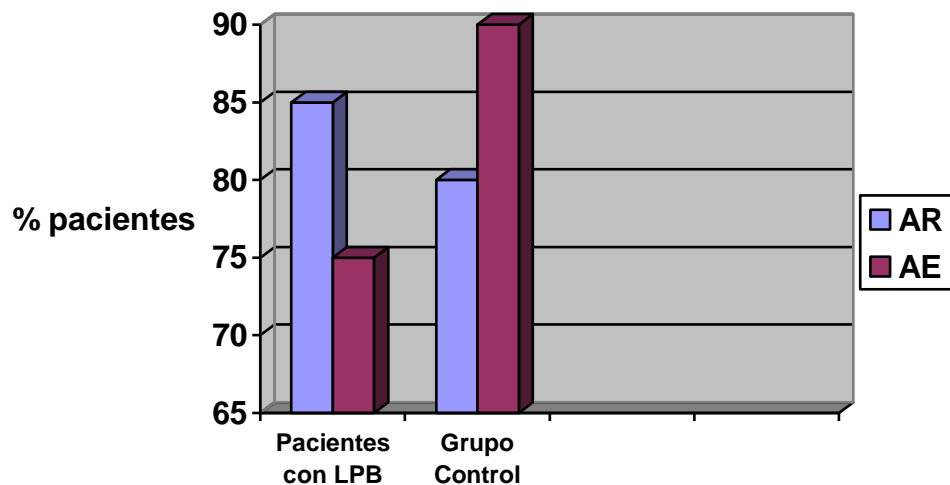
21.- Distribución de los pacientes según la escala del cuestionario de ansiedad Estado-Rasgo “STAI” (State-Trait Anxiety Inventory).

Al analizar las respuestas de los cuestionarios de ansiedad rasgo se obtuvo que 17/20 de los pacientes del grupo con Liquen Plano Bucal presentaron un decatipo igual o mayor de 6 en la escala del cuestionario de Ansiedad Rasgo “STAI” (State-Trait Anxiety Inventory) lo que indica que el 85% de los pacientes en este grupo resultaron tener la ansiedad como rasgo en su personalidad. 8/10 pacientes del grupo control presentaron un decatipo igual o mayor de 6 en la escala del cuestionario de Ansiedad Rasgo “STAI” (State-Trait Anxiety Inventory) lo que señala que el 80% de los pacientes de este grupo presentaba la ansiedad como rasgo en su personalidad. No existe una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos $P > 0.01$ (0.412 es el estadístico de contraste).

Al analizar las respuestas de los cuestionarios para medir la ansiedad Estado se obtuvo que 15/20 de los pacientes del grupo con Liquen Plano Bucal presentaron un decatipo igual o mayor de 6 en la escala del cuestionario Ansiedad estado “STAI” (State-trait Anxiety Inventory) lo que indica que el 75% de los pacientes

de este grupo se mostraban ansiosos al momento de la aplicación de esta prueba. 9/10 pacientes del grupo control presentaron un decatipo igual o mayor de 6 en la escala del cuestionario Ansiedad estado "STAI" (State-Trait Anxiety Inventory) lo que indica que el 90% de los pacientes de este grupo se mostraron ansiosos al momento de la aplicación del cuestionario (**Gráfico 16**). No existe una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos $P > 0.01$ (estadístico de contraste: 0.412).

Gráfico 16.- Cuestionario Ansiedad Estado-Rasgo en el grupo de pacientes con LPB y en el grupo control.



VI.- DISCUSIÓN

La etiología del Liquen Plano Bucal ha sido controversial y los diferentes estudios reportados en la literatura científica, lejos de clarificar definitivamente los aspectos más polémicos, generalmente abre la puerta para aumentar la discusión. En el presente estudio la distribución de pacientes con Liquen Plano Bucal según edad y género coincide con otros autores (Buchanan y Zakrzewska 1999, Chainani-wu y cols. 2001, Myers y cols. en el 2002) los cuales han reportado que las mujeres entre la cuarta y quinta década de la vida son el grupo más afectado en esta enfermedad. En efecto, el promedio de edad de 57 años del grupo de pacientes evaluados se aproxima al reportado por Myers y cols. en el 2002. Cabe destacar la marcada predilección del género femenino observada en esta investigación, donde el 95% de los pacientes fueron mujeres.

En cuanto a la apariencia clínica de las lesiones de Liquen Plano Bucal en los pacientes los resultados obtenidos concuerda con el estudio retrospectivo realizado por Myers y Cols. en el

2002 acerca de la prevalencia de las formas “blancas” especialmente la reticular.

En este estudio el 50% de los casos presentaron Liquen Plano reticular, siendo esta la forma clínica más frecuente. Sin embargo, un hallazgo interesante de esta investigación fue encontrar casos de Liquen plano Bucal con una apariencia clínica macular de color pardo oscuro de manera solitaria o en conjunción con otras formas de Liquen. Si bien, esta apariencia clínica ha sido reportada en piel como una hiperpigmentación post-inflamatoria en lesiones de Liquen de larga data (Cotran y cols. 1990), en cavidad bucal no existen estudios que permitan incluirla en una de las clasificaciones propuestas (Duske y cols. 1982, Bricker 1994, Scully y cols. 1998, Sapp y cols. 1998), por lo tanto se hacen necesarios estudios epidemiológicos con poblaciones más grandes que permitan elaborar una clasificación de Liquen Plano Bucal que incluya todas las variadas presentaciones clínicas que esta enfermedad puede tener.

Un considerable número de pacientes sintomáticos (53.84%) presentaban la forma reticular de Liquen Plano Bucal. Si bien es cierto que en la presente investigación la forma reticular fue la más común, estos datos contradicen a autores como Myers y

cols. en el 2002 y su hallazgo de que solo las formas erosivas producen síntomas.

Los síntomas más comúnmente encontrados coinciden con los de la mayoría de los autores (Sapp y cols. 1998, Chainani-wu y cols. 2001, Scully y cols. 2001, Colquhoun y Ferguson 2004): ardor, dolor y sensación de mucosa “acartonada” o rugosa. Resaltando que, la paciente con peor sintomatología dolorosa presentaba Liquen Plano erosivo.

Solo 10% de los pacientes del grupo con Liquen Plano Bucal presentaban lesiones en otras mucosas, específicamente en mucosa de vulva, lo que es de esperarse según la extensa revisión bibliográfica de Sapp y cols. en 1998. El 45% de los pacientes con Liquen Plano Bucal también presentaban lesiones liquenoides en piel, lo cual coincide con el porcentaje de pacientes propuesto por Sapp. En el grupo control solo un paciente presentaba lesiones costrosas que no fueron diagnosticadas pero que no eran sugestivas de Liquen Plano. El 40% de los pacientes con Liquen Plano presentaba lesiones en uñas y cuero cabelludo, por lo cual en nuestro estudio, esta combinación de afecciones no fue tan infrecuente como lo manifiesta Scully y cols. en el 2001.

El presente estudio coincide con el reporte de Eisen en 1999 que encontró un elevado número de casos con Liquen que presentaban lesiones en piel, especialmente en genitales, uñas, esófago y ojos. El mismo estudio propone el abordaje multidisciplinario de los pacientes con Liquen Plano Bucal debido a las numerosas implicaciones que tiene la enfermedad en otros sistemas.

Existe una prevalencia en el número de pacientes con Liquen plano Bucal que presentaban el hábito del cigarrillo si se compara con el grupo control. Llama la atención el hecho de que todos menos uno de los pacientes fumadores presentaban el hábito desde hace más de 20 años. Lo que indica una conducta bien arraigada y que indiscutiblemente deteriora la condición sistémica del paciente.

La literatura al respecto es contradictoria; mientras Neumann-Jensen y cols. en 1977 reportaban una prevalencia de fumadores dentro de los pacientes con Liquen no mayor al de la población general, Pindborg y cols. en 1972 y Murti y cols. en 1986 lo relacionan directamente como un factor importante en la aparición y/o el mantenimiento de las lesiones de Liquen Plano

Bucal. En el presente estudio no se puede por el tamaño de la muestra establecer una relación causal entre el hábito tabáquico y la aparición y/o el mantenimiento de las lesiones, pero motiva a la realización de estudios posteriores para comprobar si esa tendencia se mantiene en una población mayor y si existe una asociación entre el consumo de tabaco y la posterior transformación maligna de estas lesiones. Para el clínico, es de importancia manejar con su paciente esta combinación de manera de advertirle el riesgo incrementado de la aparición de neoplasias malignas en la cavidad bucal.

Existe una prevalencia significativamente mayor en la ingesta de medicamentos en el grupo con Liquen plano Bucal si se compara con el grupo control, lo cual coincide con lo reportado por Scully y cols en el 2001.

El medicamento más utilizado por los pacientes con Liquen en este estudio es la vitamina E, el cual no aparece en la larga lista de medicamentos productores de reacciones Liquenoides propuesta por Scully y cols. en el 2001 ni tampoco es una de las drogas metabolizadas a nivel del citocromo P-450 que según Kragelund y cols. en el 2003 juegan un papel importante en la aparición y el mantenimiento de las lesiones. Por otro lado, dos

de los pacientes que ingerían medicamentos en el grupo con Liquen Plano Bucal tomaban aspirina; un antiinflamatorio no esteroideo que según Scully y cols en su revisión del 2001, estaba asociado con la etiología de las lesiones de Liquen.

Ahora bien, es difícil decir con exactitud, en este o en los estudios citados anteriormente, cual o cuales medicamentos se pueden asociar directamente como responsables en la etiología del Liquen Plano Bucal. Sin embargo, el presente estudio muestra una clara tendencia que también se presentó en diferentes investigaciones (Scully y cols. 2001, Kragelund y cols. 2003): que los pacientes con Liquen Plano Bucal ingieren más medicamentos que los pacientes control que no presentan lesiones. Pero la lista de estos medicamentos es tan larga, y aumenta tanto con cada investigación, que los científicos simplemente no han podido explicar mediante que mecanismos ocurre esa interacción causa-efecto (si es que la hay) entre el Liquen Plano y la ingesta de medicamentos.

La presencia de enfermedades sistémicas concomitantes fue mayor en el grupo control que en el grupo con Liquen Plano Bucal, y esta diferencia es estadísticamente significativa, lo cual no concuerda con los trabajos de Reborá en 1981, Powell y cols.

en 1991 y Chainani-wu y cols. en el 2001 donde reportaron que los pacientes con Liquen sufrían de algunas enfermedades previas que los podían predisponer a la aparición de las lesiones. Más aún; en los seis pacientes del grupo con Liquen que presentaban enfermedades sistémicas; no se observó hepatopatías crónicas como lo reporta Powell y cols. en 1991.

Un dato interesante es que uno de los pacientes con enfermedades sistémicas presentaba candidiasis bucal. Lundstrom y cols. en 1984 había planteado dicha relación, sin embargo, nuestro trabajo no muestra una prevalencia de candidiasis en el grupo con Liquen Plano Bucal que permita establecer una asociación etiológica, y según el mismo Lundstrom; la presencia de Candida en los pacientes con Liquen Plano Bucal no difiere en gran medida de la que se puede encontrar en la población general.

En el presente estudio la localización de las lesiones de Liquen Plano Bucal más encontrada coincide con la reportada por Myers y cols. en el 2002, siendo la mucosa bucal de la cara interna de carrillos. Sin embargo, la encía no fue tan frecuentemente afectada en nuestro estudio como lo reporta el mismo Myers en sus datos. Es importante destacar la

localización bilateral de las lesiones de Liquen en la mayoría de los pacientes con carrillos afectados.

En cuanto al estudio histopatológico todos los tejidos biopsiados del grupo con Liquen Plano Bucal presentaron el infiltrado inflamatorio en banda a nivel subepitelial que reportan la mayoría de los autores y que orienta en la mayoría de los casos el diagnóstico histopatológico (Walsh y col. 1990, Eversole 1993, Karagoini y col. 1994, Sapp y cols. en 1998, Buchanan y Zakrzewska 1999, Challacombe y Shirllow 1999, Chaiyarit y cols. 1999).

En nuestro estudio; algunas muestras presentaban infiltrado leve (5/20), y otras severo (5/20); la mitad del grupo con Liquen presentó infiltrado inflamatorio linfocítico moderado (10/20). La acantosis fue la segunda característica histopatológica más encontrada con 18/20 muestras. Estos resultados son similares a los reportados por Chaiyarit y cols. en 1999 en donde la acantosis fue la característica más frecuente sobre todo en las formas “blancas” de Liquen. Es importante destacar que nuestro estudio reporta una prevalencia de formas reticulares, lo que coincide perfectamente con este hallazgo histopatológico. Otras

características reportadas por Chaiyart y cols. en 1999 son la hiperqueratosis, y la degeneración hidrópica del epitelio basal.

En este estudio, se encontró no solamente paraqueratosis (7/20) sino también ortoqueratosis (6/20). 16/20 de los pacientes presentaban degeneración hidrópica del epitelio y 11/20 presentaban los llamados *Cuerpos de Civatte*, similar a lo expuesto por Sapp y cols. en 1998 cuando señala a estas dos últimas características histopatológicas como unas de las más frecuentes en las lesiones de Liquen, que ayudan en el diagnóstico debido a la heterogenicidad con que estas lesiones se muestran desde el punto de vista histopatológico.

Melanosis, elongación de mamelones epiteliales, fibrosis del corión, vesícula subepitelial e infiltrado linfocítico alrededor de pequeños vasos han sido reportados previamente como características histopatológicas presentes en lesiones de Liquen Plano, las mismas también se observaron en este estudio pero con menor frecuencia que las características descritas anteriormente (Cotran y cols. 1990, Vincent y cols. 1990, Angus y cols. 2004).

La presencia de células gigantes multinucleadas, hemosiderófagos y extravasación de glóbulos rojos hacia el epitelio es un reporte raro en muestras de mucosa bucal con Liquen Plano, pero reportadas en varias oportunidades en muestras de piel (Shelley y cols. 1984, Goldberg y cols. 1994, Dalton y cols. 2003, Magro y Crowson 2000) Según Goldberg y cols en 1994; al encontrar células gigantes en las lesiones con Liquen es importante hacer el diagnóstico diferencial con Sarcoidosis. Es más, reporta un caso donde el diagnóstico histopatológico inicial fue Liquen y luego evolucionó hacia una sarcoidosis y concluye que las semejanzas histopatológicas son tantas, cuando hay células gigantes, que es difícil diferenciar las dos entidades.

Los hemosiderófagos son macrofagos que se llenan de ese pigmento derivado del hierro que es la hemosiderina, muchas veces proveniente de la sangre que es fagocitada por ellos. Estos fagocitos, pueden formar un verdadero “tatuaje” al ubicarse en el corión de las zonas que han sufrido hematomas recientes y llenarse de eritrocitos que se degradan y forman hemosiderina. Shelley y cols. en 1984 reportaron un caso de Liquen cutáneo en una zona de hematoma reciente producto de una veno-punción mal realizada que lucía como una

hiperpigmentación. Cabe preguntarse: ¿Puede ser una microhemorragia, producto tal vez de un traumatismo, la responsable del color prado-ocre que presentaban algunas de las lesiones de Liquen en este estudio?

En todo caso, la presencia de hemosiderófagos, congestión vascular, glóbulos rojos extravasados en el epitelio y células gigantes multinucleadas fue de una frecuencia muy baja en nuestro estudio.

Referente a la evaluación de las biopsias por inmunofluorescencia directa; todas las muestras del grupo con Liquen Plano fueron positivas en el inmunomarcaje para fibrinógeno, la mayoría a lo largo de la unión corión-epitelial y algunas incluso más profundamente en el corión hasta las paredes de los pequeños vasos. Esta positividad para el fibrinógeno ha sido reportada con mucha frecuencia (Eversole 1993, Karagoini y col. 1994, Chaiyarit y cols. 1999, Sapp y cols. en 1998, Walsh y col. 1990, Buchanan y Zakrzewska 1999, Challacombe y Shirllow 1999, Scully y cols. 2001, Chruch y col. 1992). En la actualidad la molécula del fibrinógeno se considera una de las características distintivas del Liquen Plano Bucal, e incluso una prueba diagnóstica (Sapp y cols. 1998).

Un hallazgo importante fue que un gran número de pacientes del grupo con Liquen (16/20) resultaron también positivos en la inmunofluorescencia directa para la presencia de anticuerpos IgG. Es interesante comparar estos resultados con los de Yih y cols. en 1998 donde no encontraron esta inmunoglobulina en ninguno de los 26 casos con Liquen Plano Bucal evaluados. Así mismo, Ingafou y cols. en 1997 reportaron que no observaban una asociación entre la IgG circulante y el Liquen Plano Bucal. Sin embargo, se ha reportado IgG circulante anti-epitelial en pacientes con Liquen (Rabinovich y cols. 1999), mientras que otros autores han encontrado depósitos lineares de IgG en la zona basal del epitelio en las lesiones cutáneas de Liquen Penfigoide (Sakuma-Okoyama y cols. 2003). En nuestra investigación aparece con una frecuencia bien importante que llama la atención sobre todo por su ubicación a nivel del tejido conjuntivo superficial y profundo en un 63% de las muestras positivas para IgG, e incluso con localización submucosa en el resto de las muestras.

Al analizar estos datos, se puede sugerir la utilización de manera más frecuente de la prueba de inmunofluorescencia directa para IgG, sobre todo en aquellos casos dudosos donde el

inmunomarcaje para fibrinógeno no sea tan intenso, ya se evidenció en nuestros resultados que dicho marcador fue un acompañante frecuente del fibrinógeno a todo lo largo del corión en la gran mayoría de las muestras con Liquen Plano evaluadas.

Sistig y cols. en el 2002 reportan niveles de IgG antiepitelial en saliva conjuntamente con la IgA en pacientes con Liquen Plano Bucal y con otras enfermedades bucales de carácter autoinmune. Más recientemente, Gu y cols. en el 2004 encuentran mediante pruebas ELISA una sobre-expresión de IL-6; una citocina que estimula la secreción de IgG y la diferenciación de células B, también en pacientes con la enfermedad.

Resultados como estos conllevan a plantearse la hipótesis acerca del papel de los mediadores químicos y los plasmocitos en la fisiopatología del Liquen Plano Bucal. ¿Es principalmente una reacción citotóxica mediada por CD8+ la etiopatogénia del Liquen Plano Bucal? ¿Cuál es el verdadero papel de los linfocitos B? ¿Cómo actúan anticuerpos como IgG en el inicio y mantenimiento de las lesiones? Estas preguntas podrán ser contestadas en futuras investigaciones que basadas en estos resultados indaguen un poco más acerca del papel de los

anticuerpos en la etiología y el mantenimiento de las lesiones de Liquen Plano Bucal.

Una condición similar se observa cuando se revisa la inmunoreacción para la inmunoglobulina IgM; en el presente estudio 12 de las 20 muestras de Liquen Plano Bucal fueron inmunopositivas para este anticuerpo, principalmente a lo largo del corión. Estos resultados difieren de los presentados por Ostman y cols. en 1994 y los reportados por Yih y cols. en 1998 en cuyos trabajos no encontraron en ninguna de sus 51 y 26 muestras respectivas de Liquen Plano Bucal analizadas mediante inmunohistoquímica y mediante inmunofluorescencia directa, expresión del anticuerpo en las biopsias.

En el trabajo de Ostman y cols. se plantean la incógnita acerca de la naturaleza de la respuesta inmunológica en los pacientes con Liquen Plano Bucal; sugiriendo que, la respuesta humoral se presenta como consecuencia de varios estímulos que ocurren e interactúan simultáneamente como por ejemplo; el producido por la presencia de ciertos materiales dentales, infecciones, la ingesta de medicamentos y otros.

Al evaluar el anticuerpo IgA, una muestra de Liquen Plano reticular presentó inmunoreacción para IgA a lo largo del corión. Mientras que Sistig y cols. en el 2002 encuentran valores aumentados de este anticuerpo en la saliva de los pacientes con Liquen Plano Bucal. Sin embargo Ostamn y cols. en 1994 no encontraron marcaje para IgA en la zona de la membrana basal del epitelio de sus muestras con Liquen Plano mediante inmunohistoquímica. Así mismo, los resultados de Yih y cols. en 1998 coinciden con Ostman y su estudio. Este hallazgo no concordante para esta enfermedad, permitirá seguir especulando acerca del verdadero papel que juega la respuesta humoral en la etiopatogénia del Liquen. De hecho; todos los anticuerpos evaluados se presentaron con mayor frecuencia en el tipo reticular de Liquen Plano; esto destaca la necesidad de que se realicen investigaciones que permitan establecer una asociación entre una forma clínica en particular de Liquen Plano y la presencia de los mismos.

Al evaluar algunos parámetros involucrados en la respuesta innata se presentaron 14 muestras positivas para la molécula del complemento C₃, principalmente localizado en paredes de pequeños vasos, en el grupo de Liquen Plano. A esto se suma el hecho de que 3 muestras resultaron positivas para C1_q y 3 para

C₄ a nivel del corión y en las paredes de pequeños vasos. La validez del complemento como prueba diagnóstica no está del todo clara. En la presente investigación un gran número de muestras resultaron positivas para C₃, lo que pudiera representar una orientación diagnóstica, sin embargo, existen pocos reportes en la literatura que apoyen estos hallazgos.

Hsu y cols. en el 2000 encuentran depósitos lineares de C₃ a todo lo largo de la unión corión-epitelio en muestras de Liquen Plano Penfigoide, al igual que Sakira y cols. en 1999. Pero, en nuestra investigación la mayoría de los casos positivos para complemento fueron Liquen Plano reticular, una entidad totalmente distinta desde el punto de vista clínico.

Incluso, en otros reportes se ha asociado el Liquen plano con una disminución en los niveles séricos de C₄ (Jamison y cols. 1978), aunque otros autores contradicen esos reportes (Guillot y cols. 1981).

Fayyazzi y cols. en 1999 se plantean la hipótesis de un papel protagónico del complemento en la patogénesis del Liquen Plano cutáneo, mientras Yih y cols en 1998 no encontraron moléculas del complemento en ninguna de sus 26 muestras de

Liquen Plano Bucal analizados mediante inmunofluorescencia directa.

Como se puede apreciar, la literatura científica al respecto es contradictoria. En la actualidad no se conoce cuál es el verdadero significado de la presencia de las moléculas del complemento en esta patología, constituyéndose en un tema interesante para abordar en futuras investigaciones. A partir de nuestros resultados se podría inferir que la inmunoexpresión de complemento puede deberse a la presencia de un antígeno exógeno que desencadena la respuesta inmunológica en las lesiones de Liquen. Quizá esa respuesta de inmunidad innata se desencadena ante la presencia de un agente infeccioso como el VEB y es precisamente el complemento, el “enlace” entre una activación leucocítica primaria y la cronicidad típica que representa un infiltrado linfocítico continuo a lo largo de toda la unión corión-epitelio. Mediante esta investigación no se puede comprobar lo antes expuesto, pero representa un hallazgo interesante para seguir investigando acerca de la importancia del complemento en la fisiopatología del Liquen.

La alteración serológica más frecuente fue la anemia, aunque solo se presentó en 4 pacientes del grupo con liquen. Lu

y Wu en el 2004 estudiaron la relación entre enfermedades bucales y la anemia; encontraron que se hallaba asociada a condiciones concomitantes de muchos pacientes con Liquen: síndrome de ardor bucal, mucositis, úlceras bucales, glositis, candidiasis bucal y queilitis.

En nuestro estudio no se encontró una prevalencia de alteraciones hiperglicémicas que según Chainani-wu y cols. en el 2001 se asocian a la presencia de las lesiones de Liquen Plano Bucal.

Es importante señalar que el 60% de los pacientes presentaron alteraciones serológicas. Posiblemente se puede asociar esta condición con los datos epidemiológicos que reflejan el estado de salud sistémico de nuestra población femenina en esas edades en investigaciones futuras.

Numerosos investigadores han asociado la presencia del Virus Papiloma Humano con la presencia de las lesiones de Liquen Plano Bucal (Kashima 1996, Vesper y cols. 1997, Wen y cols 1997, González-Moles y cols. 1998, González y col. 1999, Campisi y cols. 2004). Campisi y cols. en el 2004 no encontró una prevalencia de VPH con un tipo particular de liquen pero si

halló una asociación entre las lesiones y la presencia de genoma viral mediante PCR.

Nuestros hallazgos difieren con estos reportes, ya que no se encontró el genoma viral en ninguno de los pacientes con Liquen Plano Bucal ni en el grupo control. Ya Ostwald y cols. en el 2003 hallaron porcentajes bastantes bajos en lesiones benignas como el Liquen Plano al compararlos con los hallazgos en lesiones malignas tipo carcinoma espinocelular. Y no pudieron establecer una asociación de etiología con el Liquen Plano Bucal.

Boyd y cols. en 1996 realizó un estudio comparativo, motivado por la disparidad de los resultados existentes en la literatura sobre la frecuencia con que se encontraba el genoma de VPH en las lesiones de Liquen Plano Bucal en diferentes estudios en comparación con las muestras de Liquen cutáneo. Los autores compararon los resultados de PCR para muestras positivas de Liquen Plano Bucal con resultados de Hibridación *in situ* para las mismas muestras y encontró un gran número de falsos positivos.

En este estudio Boyd y cols. realizan un minucioso análisis de las posibles formas de contaminación que se pueden presentar en el Laboratorio de Biología Molecular mientras se realiza un procedimiento tan delicado como la PCR. Dicha contaminación puede provenir de diferentes fuentes, pero la más común es sin duda, los productos de amplificaciones de previas PCRs llamados amplicones. Hay que tomar en cuenta que 0.1 ml de producto de amplificación puede contener 10^{12} copias de un amplicon (porción de ADN amplificada) lo que hace de las medidas de esterilidad de los ambientes empleados para la pre y post amplificación un procedimiento determinante a la hora de realizar las pruebas de PCR que tengan validez diagnóstica. Sobre todo en aquellos laboratorios que realizan de rutina pruebas de PCR para VPH.

Nuestros resultados coinciden con Boyd y cols. cuando concluyen en su estudio que los resultados positivos que muestran la presencia de VPH mediante PCR en muestras de Liqueen Plano Bucal, deben ser revisados con precaución. Ya que, una prueba tan sensible como la PCR puede anillar porciones de ADN que pertenezcan a partículas virales incompletas y/o sin capacidad de infectar (defectuosas), por lo cual, los reportes previos de una asociación entre VPH y Liqueen

Plano Bucal; no necesariamente tienen una implicación clínica de relevancia.

Más recientemente, varios trabajos se han enfocado en la asociación del virus Epstein-Barr con la presencia de las lesiones por Liquen Plano Bucal (Pedersen 1996, Sand y col. 2002, Oflatharta y cols. 2003). En el presente estudio se detectó mediante PCR la presencia de VEB en lesiones de Liquen Plano Bucal. Los resultados de esta investigación concuerdan con otros autores y demuestran una prevalencia del genoma viral en el grupo de pacientes con Liquen en comparación con solo un individuo del grupo control. Oflatharta y cols. en 2003 encuentra en su grupo con Liquen Plano Bucal una prevalencia del Virus Epstein-Barr y del Virus Papiloma Humano, contrario a nuestros resultados que indican una evidente prevalencia del VEB en comparación con la ausencia del genoma de VPH.

Dentro de los pacientes con Liquen Plano Bucal se observa un número significativo de pacientes fumadores (40%) que fueron positivos para el VEB si se compara con el grupo control donde no habían fumadores con presencia del VEB. Estos resultados difieren de los de Sand y cols. en el 2002 que no encontraron una prevalencia de infección por VEB en pacientes fumadores

con Liquen en comparación con el grupo control, y no consideran al cigarrillo como un factor de riesgo para la infección por VEB. Futuras investigaciones deben realizarse con el propósito esclarecer estos hallazgos que relacionan el hábito del cigarrillo con el desarrollo de la infección por VEB en las lesiones de Liquen.

La presencia de un agente infeccioso como el VEB es suficiente para desencadenar una respuesta inmunológica como la que se observa en el Liquen Plano Bucal, sobre todo cuando la infección se encuentra a nivel del queratinocito. Sin embargo, como se ha planteado, no parece tratarse de un solo factor etiológico sino más bien de un conjunto de factores que actúan al mismo tiempo y de manera distinta dependiendo de la población afectada. Esto podría explicar la gran variedad de elementos que se han detectado en las múltiples investigaciones acerca de la etiología del Liquen Plano Bucal, muchos de ellos señalados también en este estudio.

Nuestros resultados solo pueden dar evidencias acerca de algunos factores mencionados en la etiología del Liquen pero dejan la motivación para otras investigaciones con mayor número

de pacientes que puedan establecer una asociación con mayor impacto epidemiológico.

Un aspecto importante para el desarrollo y resolución de cualquier patología especialmente el Liquen Plano Bucal es el estado psicoemocional de los pacientes. En nuestro estudio el 60% de los pacientes con Liquen manifestaron preocuparse normalmente por desgracias futuras a diferencia del 20% del grupo control, lo que refleja el estado de tensión emocional que estos pacientes pueden estar manifestando al tiempo que padecen o comenzaron a padecer la enfermedad. Así mismo, un mayor número de pacientes del grupo con Liquen no se consideraban personas calmadas y seguras si se compara con el grupo control. Además; un mayor número de pacientes con Liquen sentían frecuentemente ganas de llorar.

Todas estas preguntas hechas a los pacientes del estudio para explorar el estado psicoemocional se realizan también en pruebas psicométricas como el STAI (Spielberger y cols. 1997) y como reporta Lanfranchi y cols. en el 2001; los pacientes con Liquen Plano Bucal frecuentemente tienen tendencias depresivas o han pasado recientemente por experiencias fuertes desde el

punto de vista psicoemocional, y según estos autores, la enfermedad no es más que una somatización de esos eventos.

Al cuantificar los niveles de ansiedad, encontramos una prevalencia de la ansiedad-estado y de la ansiedad-rasgo en los dos grupos de esta investigación, si bien no hay una diferencia entre los grupos evaluados, llama poderosamente la atención que los pacientes con Liquen Plano Bucal presentaban en mayor proporción la ansiedad como rasgo de su personalidad. Esto coincide con García-Pola y col. 2000, Bagán y Cerrero. 1995 que concluyen en sus investigaciones que los niveles de ansiedad están aumentados en los pacientes con Liquen Plano, pero al igual que Allen y cols. en 1986 no podemos establecer la asociación etiológica porque no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos.

Cabe destacar que estos hallazgos son importantes para el clínico, ya que, un abordaje integral de los casos con Liquen que incluya al psicoterapeuta puede ofrecer un mejor pronóstico y una mejora en la calidad de vida de los pacientes ya que como se demostró en éste trabajo y en los estudios mencionados previamente, en el grupo que sufre liquen Plano Bucal se encuentra una mayor proporción de ansiedad.

Especulando un poco sobre nuestros hallazgos podemos decir que la incidencia significativamente alta de ansiedad en ambos grupos puede explicarse con los sucesos político-sociales que estaba atravesando nuestra nación en los años en que estas pruebas se estaban aplicando (2002-2003) lo cual, según Hinde en 1999 y Uzcátegui y Bruzual en el 2003 pudo afectar sensiblemente la condición psico-emocional de nuestra población . Tal vez, estudios realizados en otro momento histórico puedan arrojar datos diferentes acerca de la posible asociación entre ansiedad y Liquen Plano Bucal en nuestra población.

El hecho que encontremos una alta proporción de ansiedad-estado en el grupo control se podría explicar si se toma en cuenta que dichos pacientes realizaron la prueba justo en el momento previo a someterse a un procedimiento quirúrgico (Ej.: exodoncia de cordales), procedimientos que son asociados generalmente con dolor y generan ansiedad. La ventaja del STAI sobre otras pruebas inespecíficas es que logra diferenciar los dos tipos de ansiedad: la que forma parte intrínseca de la personalidad (que podría somatizarse crónicamente como Liquen Plano Bucal) y la ansiedad circunstancial producto de un evento puntual como lo es un acto quirúrgico. Claro está, los pacientes

con mayor ansiedad-rasgo siempre tendrán la tendencia a mostrar mayores niveles de ansiedad-estado (Crespo y cols. 2002).

La recomendación es utilizar, a la hora de cuantificar la ansiedad en futuras investigaciones como esta, pruebas psicométricas específicas que permitan diferenciar los dos tipos de ansiedad y que no confunda la ansiedad momentánea con la ansiedad que forma parte de la personalidad y que puede, según algunos autores (García-Pola y col. 2000, Bagán y Cerrero. 1995), manifestarse clínicamente como Liquen Plano Bucal.

VII.- CONCLUSIONES

- Mediante la prueba de Reacción en Cadena de la Polimerasa se detectó una alta incidencia del genoma del Virus Epstein-Barr en los pacientes con Liquen Plano Bucal.

- No se detectó presencia de genoma del Virus Papiloma Humano en los pacientes con Liquen Plano Bucal ni en el grupo control.

- Se observa una mayor prevalencia en la ingesta de medicamentos en el grupo de Liquen Plano Bucal si se compara con el grupo control.

- Se observaron menos enfermedades sistémicas en el grupo de Liquen Plano Bucal que en el grupo control. Dentro de las pocas enfermedades sistémicas concomitantes que se encontraron en el grupo con Liquen Plano Bucal no se hallaron ni diabetes ni hepatopatías.

- Existe una mayor incidencia de pacientes fumadores en el grupo de Liquen Plano Bucal al compararlo con el grupo control.

Dentro de los pacientes positivos para el Virus Epstein-Barr se observó una mayor incidencia de pacientes fumadores.

- Un mayor número de pacientes en el grupo control presentaron ansiedad-estado al contestar la prueba STAI si se compara con el grupo de Liquen Plano.

- Un mayor número de pacientes en el grupo de Liquen presentaron la ansiedad como rasgo de su personalidad, sin embargo no es posible establecer una asociación entre la ansiedad y la presencia de lesiones de Liquen Plano Bucal.

- Dentro de los pacientes con Liquen Plano Bucal se halló una mayor proporción de pacientes con ansiedad-rasgo que pacientes con ansiedad-estado.

BIBLIOGRAFÍA

- Alam F, Hamburguer J. Oral Mucosal Lichen Planus in Children. *Int J Paediatric Dentistry*. (2001); 11: 209-14.

- Allen CM, Beck FM, Rossie KM, Kaul TJ. Relation of stress and anxiety to oral lichen planus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. (1986); 61: 44-46.

- Angus N, Colquhoun AN, Ferguson MM. An association between Oral Lichen Planus and persistently dry mouth. *Oral Surg Oral Med oral Pathol Oral Radiol Endod*. (2004); 98 (1): 60-8.

- Bagán JV, Cerero R. **Medicina Oral**. Barcelona: Masson; 1995: 202-19.

- Balvinder K, Malik FK, Odell EW, Morgan PR. Quantitative assessment of apoptosis in Oral Lichen Planus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* (1999); **88**: 187-95.

□ Battista V, Delgado L, Orta M. **Intervención cognitivo-conductual para el estrés post-traumático y su influencia en la respuesta inmune.** Tesis de grado. Facultad de Humanidades. Escuela de Psicología. Universidad Central de Venezuela, Caracas (2002).

□ Boyd AS, Annarella M, Rapini RP. False-positive polymerase chain reaction results for Human Papillomavirus in Lichen Planus. Potential laboratory pitfalls of this procedure. **J Am Acad Dermatol.** (1996); 35: 42-6.

□ Bonfiglio TA, Stoler MH. Human Papillomavirus and cancer of uterine cervix. **Human Pathol.** (1988); **19**: 621.

□ Bricker SL. Oral Lichen Planus: a review. **Semin Dermatol.** (1994); **13**: 87-90.

□ Buchanan JA, Zakrzewska JM. Sore Mouths and itchy wrists. **Postgrad Med J.** (1999) Mar; **75**:177-9.

□ Burkhart NW, Burker EJ, Wolfe L. Assessing the characteristic of patients with Oral Lichen Planus. **JADA** (1996); **127**: 648-662.

□ Caballo VE, Buela-Casal G, Carrobles JA. **Manual de Psicopatología y trastornos Psiquiátricos**. Siglo veintiuno editores. Madrid. (1996) Vol.2 407-450.

□ Callacombe SJ, Shirlow PJ. "**Immunology of Diseases of the Oral Cavity**". Chapter in mucosal immunity, second edition, edited by Orga PL et al. Academic Press, 1999.

□ Camisa C, Allen CM, Bowen B, Olsen RG. Indirect immunofluorescence of Oral Lichen Planus. **J Oral Pathol.** (1986); 15: 218-20.

□ Campisi G, Giovannelli L, Aricò P, Lama A, Di Liberto C, Ammatuna P, D'Angelo M. HPV DNA in clinically different variants of Oral Leukoplakia and Lichen Planus. **Surg Oral Med oral Pathol Oral Radiol Endod.** (2004); 98: 705-11.

□ Carrozo M, Gandolfo S. The management of Oral Lichen Planus. **Oral Dis.** (1999); 5: 196-205.

□ Cautela, J., R ; Groden, J. "**Técnicas de relajación**". Ediciones Martínez Roca. Madrid, España. 1987.

□ Chainani-wu N, Silverman s, Lozada-Nur F, Mayer P, Watson JJ. Oral Lichen Planus patient profile, disease progression and treatment responses. **JADA**. (2001); 132: 901-908.

□ Chaiyarit P, Kafrawy AH, Milles DA, Zunt SL, Van Dis ML, RL Gregory. Oral Lichen Planus an immunohistochemical study of heat shock proteins (HSPs) and cytokeratins (CKs) and a unifying hypothesis of pathogenesis. **J Oral Pathol Med**. (1999); **28**: 210-5.

□ Church LF, Schosser RH. Chronic ulcerative stomatitis associated with stratified epithelial specific antinuclear antibodies. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**. (1992); **73**: 579-82.

□ Colella G, Gritti P, De Luca F, De Vito M. Sugli aspetti psicopatologici del lichen planus orale. **Minerva Stomatol**. (1993); 42: 265-70.

□ Correnti M, Rivera H, Cavazza ME. Detection of human papillomaviruses of high oncogenic potential in oral squamous

cell carcinoma in a Venezuela population. **Oral Dis.** (2004); 10: 163-166.

□ Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. **Patología Estructural y Funcional.** (1990). 4º Ed. Madrid. 1371

□ Cox M, Maitland N, Scully C. Human Herpes Simplex-1 and papillomavirus type 16 homologous DNA sequences in normal, potentially malignant and malignant oral mucosa. **Oral Oncol.** (1993); 29B: 215-9.

□ Crespo FJ, Cruz J, Cura P, Delkader J, Escobar PA. Estudio del nivel de ansiedad en alumnos de cuarto y sexto curso de medicina. Recuperado en Julio 2004 de la World Wide Web: http://www.ucm.es/info/dosis/Preventiva/jor_8/s1/s8_03.htm.

□ Dalton SR, Fillman EP, Altman CE, Gardner TL, Davis TL, Bastian BC, Libow LF, Elston DM. Atypical junctional melanocytic proliferations in benign lichenoid keratosis. **Hum Pathol.** (2003) Jul; 34 (7): 706-9.

- Dereure O, Basset-Seguin N, Guilhou JJ. Erosive Lichen Planus: dramatic response to thalidomide. ***Arch Dermatol.*** (1996); 132: 1392-3.
- Doutre MS, Beylot C, Couzigou P. Lichen Planus and Virus C Hepatitis: disappearance of the Lichen under interferon alpha therapy. ***Dermatology.*** (1992); 184: 229.
- Drangsholt M, Truelove EL, Morton TH, Epstein JB. A man with 30-year history of oral lesions. ***J Evid Base Dent Pract.*** (2001); 1: 123-35.
- Duske JJ, Frick WG. Lichen Planus-oral manifestations and suggested treatments. ***J Oral Maxillofac Surg.*** (1982) ; 40 : 240-4.
- Eisen D. The evaluation of cutaneous, genital, scalp, nail, esophageal and ocular involvement in patient with oral Lichen Planus. ***Surg Oral Med oral Pathol Oral Radiol Endod.*** (1999); 88: 431-6.
- Eversole R. Oral Mucosal Diseases. In: Millard H, Mason D, eds. ***2nd World Workshop on Oral Medicine.*** Ann

Arbor, MI: Continuing Dental Education, School Of Dentistry, University Of Michigan, 1993: 108-86.

□ Fayyazi A, Sandau R, Duong LQ, Gotze O, Radzun HJ, Schweyer S, Soruri A, Zwirner J. C5a receptor and interleukin-6 are expressed in tissue macrophages and stimulated keratinocytes but not in pulmonary and intestinal epithelial cells. ***Am J Pathol.*** 1999 Feb; 154 (2): 495-501.

□ Fox H. Lichen Planus confined to the mouth. ***Arch Dermatol Syphilol.*** (1931); 24: 1071-82.

□ Fox RI. Potential role of Epstein-Barr virus in Sjögren's Syndrome. ***Rheum Dis Clin North Am.*** (1987); 13: 275.

□ Fox RI, Pearson G, Vaughan JH. Detection of Epstein-Barr virus-associated antigens and DNA in salivary gland biopsies from patients with Sjögren's syndrome. ***J Immunol.*** (1986); 137: 3162-8.

□ Fuste, V. Técnicas de relajación. ***Formación Médica Continuada en Atención Primaria.*** (1997); 4 (4): 221-229.

□ García-Pola MJ, Zarabozo H. Valoración de la ansiedad como factor etiológico del Liquen Plano bucal. **Med Oral.** (2000); 5: 7-13.

□ Girod SC, Pfeiffer P, Ries J, Pape HD. Proliferative activity and loss of function of tumor suppressor genes as “Biomakers” in diagnosis and prognosis of benign and preneoplastic oral lesions and oral squamous cell carcinoma. **British J Oral Maxillofacial Surg.** (1998); 36: 252-260.

□ Goldberg LJ, Goldberg N, Abrahams I, Silvers DN, Szaniawski W, Halperin AJ. Giant cell lichenoid dermatitis: a possible manifestation of sarcoidosis. **J Cutan Pathol.** (1994) Feb;21(1):47-51

□ Gombos F, Capello B, Gaeta GM. La ciclosporina in formulazione bioadhesiva nella terapia del lichen planus orale erosivo. **Minerva Stomatol.** (1992); 41: 385-9.

□ González-Moles MA. Presence of HPV 16 sequences in oral Lichen Planus lesions. **Bull Group InT Rech Sci Stomatol Odontol.** (1998); 40 (2-3): 92-7.

□ González MA, González S, Ruiz I, Rodríguez A, Bagán JV, Ceballos A. Detección de ADN de papilomavirus humano en el liquen plano mediante hibridación in situ. **Med Oral**. (1999); 4: 391-7.

□ Goodman MG, Weigle WO. Role of polyclonal B cell activation in self/non-self discrimination. **Immunol Today**. (1981); 2:54.

□ Gu GM, Martin MD, Darveau RP, Truelove E, Epstein J. Oral and serum IL-6 in Oral Lichen Planus patients. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**. (2004); 98: 673-8.

□ Guggenheimer J, Moore PA, Rossie K, Myers D, Mongelluzzo MB, Block HM, Weyant R, Orchard T. Insulin-dependent diabetes mellitus and oral soft tissue pathologies. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**. (2000); 89: 563-9.

□ Guillot B, Guilhou JJ, Clot J, Meynadier J. Circulating immune complexes in skin disease patients. Study and literature data (author's transl). **Ann Dermatol Venereol**. 1981; 108 (10): 741-9.

□ Griffin AC, Whitacre CC. Sex and strain differences in the circadian rhythm fluctuation of endocrine and immune function in the rat: implication for rodent models of autoimmune disease. **J Neuroimmunol.** (1991); 35: 53-64.

□ Hampf BG, Malmström MJ, Aalberg VA, Hannula JA, Vikkula J. Psychiatric disturbance in patients with oral lichen planus. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol.** (1987); 63: 429-32.

□ Harrist TJ, Pathak, Mosher DB. Chronic cutaneous effect of long-term psoralen and ultraviolet radiation therapy in patients with vitiligo. **Natl Cancer Inst Monogr.** (1984); 66: 191-6.

□ Henderson S, Rowe M, Gregory C, Croom-Carter D, Wang F, Longnecker R. Induction of bcl-2 expression by Epstein-Barr virus latent membrane protein-1 protects infected B cells from programmed cell death. **Cell.** (1991); 65: 1107-15.

□ Hinde RA. La Guerra: algunas de sus causas y consecuencias psicológicas. **Akademos.** (1999); 2: 31-66.

□ Hill-Gaston JS, Life PE, Van Der Zee R. Epitope specificity and MHC restriction of rheumatoid arthritis synovial T cell clones which recognize a mycobacterial 65kDa heat shock protein. ***Int Immunol.*** 1991; 3: 965-72.

□ Hsu S, Ghohostani RF, Uitto J. Lichen planus pemphigoides with IgG autoantibodies to the 180 kd bullous pemphigoid antigen (type XVII collagen). ***J Am Acad Dermatol.*** 2000 Jan; 42 (1 Pt 1): 136-41.

□ Ingafou M, Lodi G, Olsen I, Porter SR. Oral lichen planus is not associated with IgG circulating antibodies to epithelial antigens. ***Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.*** 1997 Aug; 84 (2): 175-8.

□ Inoue H, Tsubota K, Ono M. Possible involvement of EBV-mediated alpha-fodrin cleavage for organ-specific autoantigen in Sjögren Syndrome. ***J Immunol.*** (2001); 166: 5801-9.

□ Irving WL, Thomson BJ. Viruses and cancer. ***J Exp Path.*** (2001); 82: 1.

□ Jacobson. "Progressive relaxation". **University of Chicago Press**. Chicago, Estados Unidos. 1938.

□ Jamison TH, Cooper NM, Epstein WV. Lichen planus and discoid lupus erythematosus. Overlap syndrome associated with cryoglobulinemia and hypocomplementemia. **Arch Dermatol**. 1978 Jul; 114 (7): 1039-42.

□ Jimenez C, Correnti M, Salma N, Cavazza ME, Perrone M. Detection of human papillomavirus DNA in benign oral squamous epithelial lesions in Venezuela. **J Oral Pathol Med**. (2001); 30: 385-8.

□ Jones DA, Rollman GB, Brooke RI. The cortisol response to psychological stress in temporomandibular dysfunction. **Pain**. (1997), 72: 171-82.

□ Jontell M, Watts S, Walstrom M, Levin L, Sloberg K. Human Papilloma Virus in Erosive Oral Lichen Planus. **J Oral Pathol Med**. (1990); 19:273-7.

□ Jovanovic A. Squamous cell carcinoma of the lip and the oral cavity-and epidemiological study. **Dissertation**. Academisch Ziekenhuis, Amsterdam, 1994.

□ Kanwar AJ, Handa S, Ghosh S, Kaur S. Lichen Planus in Childhood: a report of 17 patients. ***Pediatric Dermatol.*** (1991); 8 (4): 288-91.

□ Karagoini EE, Dotsika EN, Sklavounou A. Alteration in peripheral blood mononuclear cell function and serum cytokines in Oral Lichen Planus. ***J Oral Pathol Med.*** (1994): 23: 28-35.

□ Kashima HK. Recurrent respiratory papillomatosis. ***Obstet and Gynecol Clin North Am.*** CD 23. (1996) 3: 699-703.

□ Kragelund C, Thomsen CE, Bardow A, Pedersen AM, Nauntofte B, Reibel J, Torpet LA. Oral Lichen Planus and intake of drugs metabolized by polymorphic cytochrome p450 enzymes. ***Oral Dis.*** (2003); 9: 177-87.

□ Kim J, Yook JI, Lee EH, Ryu MH, Ion JH, Hong JC, Kim DJ, Kim HS. Evaluation of premalignant potential in Oral Lichen

Planus using interphase cytogenetics. **J Oral Pathol Med.** (2001); 30: 65-72.

- Kumar V, Garg BR, Baruah MC, Vasireddi SS. Childhood Lichen Planus. **J Dermatol.** (1993); 20: 175-77.

- Kurose K, Terai M, Soedarsono, Rabello D, Nakajima Y, Burk RD, Takagi M. Low prevalence of HPV infection and its natural history in normal oral mucosa among volunteers on Miyako Island, Japan. **Oral Surg Oral Med oral Pathol Oral Radiol Endod.** (2004); 98 (1): 91-6.

- Kurt F, Smith EM, Levy BT, Allen JM, Haugen TH, Turek LP. Human papillomavirus in the oral cavities of children and adolescents. **Oral Surg Oral Med oral Pathol Oral Radiol Endod.** (2001), 91: 62-9.

- Lanfranchi H. El Liquen Plano como enfermedad psicossomática. **Gaceta Médica de Bilbao.** (2001); 98 (1): 8-9.

- Lear JT, English JS. Erosive and generalised lichen planus responsive to azathioprine. **Clin Exp Dermatol.** (1996); 21: 56-7.

□ Leimola-Virtanen R, Haponen R, Syrjanen S. Cytomegalovirus (CMV) and Helicobacter pylori (HP) found in oral ulcers. **J Oral Pathol Med.** (1995); 24: 14-7.

□ Leong IT, Fernandes BJ, Mock D. Epstein-Barr virus detection in non-Hodgkin's lymphoma of the oral cavity: An immunocytochemical and in situ hybridization study. **Oral Surg Oral Med oral Pathol Oral Radiol Endod.** (2001); 92: 184-93.

□ Levell NJ, Munro CS; Marks JM. Severe Lichen Planus clears with very low-dose cyclosporine. **Br J Dermatol.** (1992); 127; 66-7.

□ Lindelof B, Sigurgersson B, Tegner E. PUVA and cancer: a large scale epidemiologic study. **Lancet.** (1991); 338: 91-3.

□ Lo Muzio L, Della Valle A, Mignogna MD, Bucci P, Sciubba J. The treatment of oral aphthous ulceration or erosive Lichen Planus with topical clobetasol propionate in three preparations: a clinical and pilot study on 54 patients. **J Oral Pathol Med.** (2001); 30: 611-7.

□ Lopez J, Rosello X. Cyclosporine A, an alternative to the Oral Lichen Planus erosive treatment. ***Bull Group Int Rech Sci Stomatol Odontol.*** (1995); 38: 33-8.

□ Lu SY, Chen WJ, Eng HL. Dramatic response to Levamisole and low-dose prednisolone in 23 patients with Oral Lichen Planus. ***Oral Surg Oral Med Oral Pathol.*** (1995); 80: 705-9.

□ Lu SY, Wu HCh. Initial diagnosis of anemia from sore mouth and improved classification of anemias by MCV and RDW in 30 patients. (2004). Tomado de: <http://www2.us.elsevierhealth.com>

□ Lundstrom IM, Anneroth GB, Holmberg K. Candida in patients with Oral Lichen Planus. ***Int J Oral Surg.*** (1984); 13: 226-38.

□ Magro CM, Crowson AN. Lichenoid and granulomatous dermatitis. ***Int J Dermatol.*** (2000) Feb; 39(2): 126-33.

- Majorana A, Facchetti F, Sapelli P. Apoptosis-associated markers in Oral lichen Planus (Letter). **J Oral Pathol Med.** (1999); 28: 47-8.
- Martel-Renoir D, Grunewald V, Touitou R, Schwaab G, Joab I. Qualitative analysis of the expression of Epstein-Barr Virus Lytic genes in nasopharyngeal carcinoma biopsies. **J Gen Virol.** (1995); 76: 1401-8.
- Merigou D, Leaute-Labreze C, Bioulac-Sage P, Taieb A. Lichen Planus in Children: role of the campaign for Hepatitis B vaccination. **Annales de Dermatologie et de Venereologie.** 1998; 125 (7): 399-403. (en français)
- Miller CS, Dembo JB, Falace DA. Kaplan AL: Salivary cortisol response to dental treatment of varying stress. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 1995; 79: 436-41.
- Miller CS, Zeuss MS, White DK. In situ detection of HPV DNA in oral mucosal lesions. A comparison of two hybridization kits. **J Oral Pathol Med.** (1991); 20: 403-8.

- Moix J. Evaluación de la ansiedad en la antesala al quirófano. **Medicina Clínica**. (1997); 108 (4): 157-158.

- McCartan BE. Psychological factors associated with oral lichen planus. **J Oral Pathol Med**. (1995); 24: 273-275.

- McMurray HR, Nguyen D, Westbrook TF, McAnce DJ. Biology of human papillomaviruses. **J Exp Path**. (2001); 82: 15-33.

- Murti PR, Daftary DK, Bhonsie RB. Malignant potential of Oral Lichen Planus: observation in 722 patients from India. **J Oral Pathol**. (1986); 15: 71-7.

- Myers SL, Rhodus NL, Parsons HM, Hodges JS, Kaimal S. A retrospective survey of oral lichenoid lesions: Revisiting the diagnostic process for oral lichen planus. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod** (2002); 93: 676-81.

- Nagao T, Warnakulasuriya S, Ikeda N, Fukano H, Yamamoto S, Yano M, Miyazaki H, Ito Y. Serum antioxidant micronutrient levels in Oral Lichen Planus. **J Oral Pathol Med**. (2001); 30: 264-7.

□ Nagao Y, Sata M, Noguchi S, Seno'o T, Kinoshita M, Kameyama T, Ueno T. Detection of hepatitis C virus RNA in Oral Lichen Planus and Oral cancer tissues. **J Oral Pathol Med.** (2000); 29: 259-66.

□ Neumann-Jensen B, Holmstrup P, Pindborg JJ. Smoking habits of 611 patients with Oral Lichen Planus. **Oral Surg.** (1977); 43: 410.

□ Neville BW, Dam DD, Allen CM, Bouquot JE, Eds. "**Oral and Maxillofacial Pathology**". Philadelphia: WB Saunders Co, 1995: 572.

□ Oflatharta C, Flint SR, Toner M, Butler D, Mabruk MJ. Investigation into a possible association between oral lichen planus, the human herpesviruses, and the human papillomaviruses. **Mol Diagn.** 2003; 7 (2): 73-83.

□ Olsen RG, Du Plessis D, Camisa C. Indirect immunofluorescence microscopy of lichen Planus. **Br J Dermatol.** (1984); 110: 9-15.

□ Ostman PO, Anneroth G, Skoglund A. Oral lichen planus lesions in contact with amalgam fillings: a clinical, histologic, and immunohistochemical study. **Scand J Dent Res.** 1994 Jun; 102 (3): 172-9.

□ Ostrow RS, Faras AJ. The molecular biology of Human Papilloma Viruses and the pathogenesis of genital papillomas and neoplasm. **Cancer Metas Rev.** (1987); 6:383.

□ Ostwald C, Rutsatz K, Schweder J, Schmidt W, Gundlach K, Barten M. Human papillomavirus 6/11, 16 and 18 in oral carcinomas and benign oral lesions. **Med Microbiol Immunol** (Berl). 2003 Aug; 192 (3): 145-8.

□ Pedersen A. Abnormal EBV immune status in oral Lichen Planus. **Oral Dis.** (1996); 2 (2); 125-8.

□ Pedersen A. IFN- α cream in the treatment of oral lichen planus. **Oral Dis.** (1998); 4: 155-156.

□ Pérez C, Jiménez C, Villarroel M. "Liquen Plano en un niño: reporte de un caso". **Act Odontol VzI** (1997); 40-43.

- Pindborg JJ, Mehta FS, Daftary DK. Prevalence of Oral Lichen Planus among 7639 Indian Villagers in Kerala, South India. ***Acta Derm Venereol.*** [Stockh] (1972); 52: 216.
- Potter K, Klonda P, Scully C, Bidwell J, Potter S. Class I and II HLA antigens in British patients with Oral Lichen Planus. ***Oral Surg Oral Med Oral Pathol.*** (1993); 75: 176-80.
- Powell FC, Rogers RS III, Dickson ER. Lichen Planus and the liver. ***Hepatology.*** (1991); 13: 609-11.
- Rabinovich OF, Khanukova LM, Khamidulina KF. The characteristics of the immune status of patients with lichen rubber planus. ***Stomatologija*** (Mosk). 1999; 78 (5):20-3.
- Ramírez T. "**Cómo hacer un Proyecto de Investigación**". Caracas: Editorial Panapo. (1999): 165.
- Rebora A. Lichen Planus and the liver. ***Lancet.*** (1981); ii: 805-6.

□ Richtsmeier WJ, et al. Epstein-Barr Virus associated malignancies. **CRC Crit Rev Clin Lab Sci.** (1987); 25: 105.

□ Rivera H, Nikitakis NG, Castillo S, Slavash H, Papadimitriou JC, Sauk JJ. Histopathological analysis and demonstration of EBV and HIV p-24 antigen but not CMV expression in labial minor salivary glands of HIV patients affected by diffuse infiltrative lymphocytosis syndrome. **J Oral Pathol Med.** (2003); 32: 431-7.

□ Rödström P, Jontell M, Hakeberg M, Berggren U, Lindstedt G. Erosive Oral Lichen Planus and salivary cortisol. **J Oral Pathol Med.** (2001); 30: 257-63.

□ Roitberg-Tambur A, Friedman A, Korn S, et al. Serologic and molecular analysis of the HLA system in Jewish patient with Oral lichen Planus. **Tissue Antigens.** (1994); 43: 219-23.

□ Rubalcava CV, García FJ, Aldape B, Tapia JL. Expresión del Virus Papiloma Humano en la Hiperplasia Epitelial Focal, Papiloma y Verruga Vulgar. **Gaceta Médica de Bilbao.** (2001); 98: 48.

□ Rybojad M, Moraillon I, Laglenne S, Vignon-Pennamen MD, Bonvalet D, Prigent F, Saada V. Lichen Planus in Children: twelve cases. ***Annales de Dermatologie et de Venereologie***. (1998); 125 (10): 679-81. (en français)

□ Sabeti M, Simon JH, Slots J. Cytomegalovirus and Epstein-Bar virus are associated with symptomatic periapical pathosis. ***Oral Microbiol Immunol***. (2003); 18: 327-28.

□ Skaria M, Salomon D, Jaunin F, Friedli A, Saurat JH, Borradori L. IgG autoantibodies from a lichen planus pemphigoides patient recognize the NC16A domain of the bullous pemphigoid antigen 180. ***Dermatology***. 1999; 199 (3): 253-5.

□ Sakuma-Oyama Y, Powell AM, Albert S, Oyama N, Bhogal BS, Black MM. Lichen planus pemphigoides evolving into pemphigoid nodularis. ***Clin Exp Dermatol***. (2003) Nov; 28 (6): 613-6.

□ Sand LP, Jalouli J, Larsson P, Hirsch J. Prevalence of Epstein-Barr virus in oral squamous cell carcinoma, oral lichen

planus and normal oral mucosa. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** (2002); **93**: 586-92.

- Sapp JP, Eversole LR, Wysocki GP. **Patología Oral y Maxilofacial Contemporánea.** Harcourt. Madrid (1998). 250

- Scully C, Beyb M, Ferreiro MC. Update on Oral Lichen Planus: etiopathogenesis and management. **Crit Rev Oral Biol Med.** (1998); **9**: 86-122.

- Scully C, Eisen D, Carrozzo M. Tratamiento del Liquen Plano Oral. **Am J Clin Dermatol Ed. Esp.** (2001); Mar-Abr: 35-55.

- Scully C, El-Kom M. Lichen Planus: review and update on pathogenesis. **J Oral Pathol.** (1985); 4: 431-58.

- Shelley WB, Swaminathan R, Shelley ED. Lichen aureus: a hemosiderin tattoo associated with perforator vein incompetence. **J Am Acad Dermatol.** 1984 Aug; 11(2 Pt 1):260-4.

□ Shklar G. Lichen Planus as an oral ulcerative disease. ***Oral Surg Oral Med Oral Pathol.*** (1972); 33: 376-88.

□ Simark C, Jontell M, Bergenholtz G, Heyden M, Dahlgren UI "Distribution of interferon- γ mRNA-positive cells in Oral Lichen Planus lesions" ***J Oral Pathol Med.*** (1998); **27**:483-8.

□ Simark-Mattson C, Bergenholtz G, Jontell M, Tarkowski A, Dahlgren UI. T receptor V-gene usage in Oral Lichen Planus, increased frequency of T cell receptors expressing V alpha 2 and V beta 3. ***Clin Exp Immunol.*** (1994); **98**: 503-7.

□ Singh K, Kumar S, Jaiswal MS, et al. Absence of helicobacter pylori in oral mucosa lesions. ***Indian Med Assoc.*** (1998); 96: 177-8.

□ Sistig S, Vucicevic-Boras V, Lukac J, Kusic Z. Salivary IgA and IgG subclasses in oral mucosal diseases. ***Oral Dis.*** (2002) Nov; 8 (6): 282-6.

- Sixbey JW, Nedrud JG, Raab-Traub N, Hanes RA, Pagano JS. Epstein-Barr virus replication in oropharyngeal epithelial cells. ***N Engl J Med.*** (1984); 310: 1225-30.

- Spielberger CD, Gorsuch RL, Lushene RE. **STAI cuestionario de ansiedad estado-rasgo.** Publicaciones de psicología aplicada. Madrid. 1997. 7-26.

- Stefanidou MP, Ioannidou DJ, Panayaiotides JG, et al. Low molecular weight heparin: a novel alternative therapeutic approach for Lichen Planus. ***Br J Dermatol.*** (1999); 141: 1040-5.

- Stenberg EM, Hill JM, Chrousos GP. Inflammatory mediator induced hypothalamic-pituitary-adrenal axis activation is defective in streptococcal cell wall arthritis-susceptible lewis rats. ***Proc Natl Acad Sci USA.*** (1989); 86: 2374-8.

- Tang X, Jia L, Ouyang J, Takagi M. Comparative Study of HPV prevalence in Japanese and North-east Chinese oral carcinoma. ***J Oral Pathol Med.*** (2003); 32: 393-8.

□ Torabinejad M. Mediators of acute and chronic periradicular lesions. ***Oral Surg Oral Med Oral Pathol.*** (1994); 78: 511-21.

□ Tordjman G. **Cómo comprender las enfermedades psicósomáticas.** Editorial Gedisa. Barcelona. 1990. 13-32.

□ Ureña JL. Eds. **Microbiología Oral.** México DF: McGraw Hill-Interamericana, 1997: 565.

□ Uzcátegui LJ, Bruzual E. Termómetro emocional de una crisis: Interpretaciones y proyecciones psicosociales. (2003) Tomado de: <http://www.emocionol.com/1>

□ Van Der Meij HE, Schepman P, Smeele LE, Van Der Wal JE, Bezemer PD, Van Der Waal I. A review of the recent literature regarding malignant transformation of Oral Lichen planus. ***Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.*** (1999); **88**: 307-10.

□ Vente C, Reich K, Rupprecht R, et al. Erosive mucosal lichen planus: response to topical treatment with tacrolimus. ***Br J Dermatol.*** (1990); 140: 338-42.

- Vesper A. Detection of Human Papillomavirus (HPV-DNA) in Oral Manifestation of Lichen Planus. ***Mund Keifer Gesichtschir.*** (1997); 1 (3): 146-9.

- Villarroel M, Correnti M, Delgado R, Tapia FJ. Oral Lichen Planus: immunohistology of mucosal lesions. ***J Oral Pathol Med.*** (2002); 31: 410-4.

- Vincent SD, Fotos PG, Baker KA, Pharm MS, Williams TP. Oral Lichen Planus: the clinical, historical, and therapeutic features of 100 cases. ***Oral Surg Oral Med Oral Pathol.*** (1990); 70: 165-71.

- Walsh LJ, Savage NW, Ishh T, Seymour GJ. Immunopathogenesis of Oral Lichen Planus. ***J Oral Pathol Med.*** (1990); 19: 389-96.

- Wen S. Detection and analysis of human Papillomavirus 16 and 18 homologous DNA sequences in oral lesions. ***Anticancer Res.*** (1997); 17 (1A): 307-11.

□ World Health Organization. Report from a meeting of investigators on the histological definition of precancerous lesions. 1973.1973. CAN/731. Geneve.

□ World Medical Association Declaration of Helsinki. Ethical principles for medical research involving human subjects. Amended by the 52nd WMA General Assembly, Edinburgh, Scotland, October 2000.

□ Yadav M, Arivananthan M, Chandrashekran A, et al. Human Herpesvirus 6 (HHV-6) DNA and virus encoded antigen in oral lesions. **J Oral Pathol Med.** (1997); 26: 393-401.

□ Yih W, Maier T, Kratochvil J, Zieper M. Analysis of desquamative gingivitis using direct immunofluorescence in conjunction with histology. **J Periodontol.** (1998); 69: 678-85.

□ Young L, Alfieri C, Hennessy K, Evans H, O'Hara C, Anderson KC. Expression of Epstein-Barr virus transformation-associated genes in tissues of patient with EBV Lymphoproliferative disease. **N Engl J Med.** (1989); 321: 1080-5.

□ Yusa H, Onizawa K, Hori M, Takeda S, Takeda M, Fukushima S, Yoshida H. Anxiety measurements in university students undergoing third molar extraction. ***Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.*** (2004); 98 (1): 23-7.

□ Zhao ZZ, Savage NW, Walsh LJ. Associations between mast cells and laminin in Oral Lichen Planus. ***J Oral Pathol Med.*** (1998); 27: 163-7.

ANEXOS