

Grado en ODONTOLOGÍA
Trabajo Fin de Grado
Curso 2022-2023

**Efecto sistémico y local del estrés oxidativo sobre la
estomatitis aftosa recurrente. Revisión Sistemática.**

Presentado por: Giulia Rinaldi

Tutor: Cristina Estornut Navarro

ÍNDICE

1. RESUMEN	8
2. ABSTRACT	10
3. PALABRAS CLAVE	12
4. ABREVIATURAS	14
5. INTRODUCCIÓN	17
5.1 ESTOMATITIS AFTOSA RECURRENTE (RAS)	17
5.1.1 DEFINICIÓN	17
5.1.2 EPIDEMIOLOGÍA: PREVALENCIA E INCIDENCIA	17
5.1.3 PRESENTACIÓN CLÍNICA	18
5.1.3.1 ESTOMATITIS AFTOSA MENOR	18
5.1.3.1. ESTOMATITIS AFTOSA MAYOR	18
5.1.3.1. ESTOMATITIS AFTOSA HERPETIFORME	19
5.1.4 FACTORES DE RIESGO	19
5.1.5 FISIOPATOLOGÍA Y PATOGENIA	21
5.1.5.1 ESTRÉS OXIDATIVO Y DEFENSAS ANTIOXIDANTES	22
5.1.5.1.1 RELACIÓN ENTRE ESTRÉS OXIDATIVO Y RAS	27
6. JUSTIFICACIÓN E HIPOTESIS	30
6.1 JUSTIFICACIÓN	30
6.2 HIPÓTESIS	31
7. OBJETIVOS	33
8. MATERIAL Y MÉTODO	35
8.1 IDENTIFICACIÓN DE LA PREGUNTA PICO	35
8.2 CRITERIOS DE ELEGIBILIDAD	36
8.3 FUENTES DE INFORMACION Y ESTRATEGIA DE LA BÚSQUEDA DE DATOS	36
8.4 PROCESO DE SELECCIÓN DE LOS ESTUDIOS	38
8.5 EXTRACCIÓN DE DATOS	38
8.6 VALORACION DE LA CALIDAD	39
8.7 SÍNTESIS DE DATOS	39
9. RESULTADOS	41
9.1 SELECCIÓN DE LOS ESTUDIOS. FLOW CHART	41
9.2 ANÁLISIS DE LAS CARACTERISTICA DE LOS ESTUDIOS REVISADOS	42

9.3 EVALUACIÓN DE LA CALIDAD METODOLÓGICA Y RIESGO DE SESGO	48
9.4 SÍNTESIS DE RESULTADOS	50
9.4.1 ANÁLISIS DE MARCADORES OXIDATIVOS	50
9.4.2 ANÁLISIS REALIZADOS EN MUESTRAS SANGUÍNEAS	50
9.4.3 ANÁLISIS REALIZADOS EN MUESTRAS SALIVARES	60
9.4.4 ANÁLISIS REALIZADOS EN MUESTRAS SANGUÍNEAS Y SALIVARES	64
10. DISCUSIÓN	70
10.1 POSIBLES MEDIDAS DE PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO	76
10.2 LIMITACIONES DEL ESTUDIO	79
11. CONCLUSIONES	81
12. BIBLIOGRAFÍA	83
13. ANEXOS	95

ÍNDICE TABLAS Y FIGURAS

1. Figura 1	22
2. Tabla 1	95
3. Figura 2	41
4. Tabla 2	42
5. Tabla 3	43
6. Tabla 4	44
7. Tabla 5	49
8. Tabla 6	54
9. Tabla 7	56
10. Tabla 8	58
11. Tabla 9	62
12. Tabla 10	63
13. Tabla 11	67
14. Tabla 12	68

RESUMEN

Introducción: La estomatitis aftosa recurrente (RAS) es una enfermedad inflamatoria crónica y recurrente de la boca. Se caracteriza por la aparición de úlceras dolorosas en la mucosa bucal. Se cree que la RAS es una enfermedad multifactorial con predisposición genética, factores ambientales y alteraciones en el sistema inmunológico. El estrés oxidativo, causado por el desequilibrio entre los radicales libres y el sistema antioxidante, también parece estar implicado en la patogenia de la RAS. Varios factores de riesgo, como el tabaquismo, la deficiencia de hierro y vitaminas, y la ansiedad, pueden contribuir al desarrollo de la enfermedad. La comprensión de los mecanismos subyacentes puede ayudar en la prevención y tratamiento de la RAS.

Materiales y métodos: se realizó una búsqueda de artículos sobre estrés oxidativo en pacientes con RAS desde 2000 hasta 2022 en PubMed, Scopus y Web of Science. Se seleccionaron estudios que analizaran niveles de oxidantes y antioxidantes en sangre y saliva de pacientes con RAS y controles sanos.

Resultados: De 165 artículos potencialmente elegibles, 14 cumplieron con los criterios de inclusión: 7 estudios sobre muestras sanguíneas, 3 sobre muestras salivares y 4 sobre muestras sanguíneas y salivares. Se evaluaron múltiples marcadores oxidantes y antioxidantes en muestras de sangre y saliva. En general, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de casos y controles para la mayoría de los marcadores, asumiendo un Valor $P < 0,05$ como estadísticamente significativo para considerar niveles aumentados de estrés oxidativo. Además, se observó un mayor daño oxidativo del ADN en los pacientes con RAS.

Conclusión: Los pacientes con RAS muestran mayores niveles de estrés oxidativo en comparación con los controles sanos, con un aumento significativo de los marcadores oxidantes y una disminución significativa de las defensas antioxidantes en muestras de saliva y sangre.

ABSTRACT

Introduction: Recurrent aphthous stomatitis (RAS) is a chronic and recurrent inflammatory disease of the mouth. It is characterised by the appearance of painful ulcers in the oral mucosa. RAS is believed to be a multifactorial disease with genetic predisposition, environmental factors and alterations in the immune system. Oxidative stress, caused by an imbalance between free radicals and the antioxidant system, also appears to be involved in the pathogenesis of RAS. Several risk factors, such as smoking, iron and vitamin deficiency, and anxiety, may contribute to the development of the disease. Understanding the underlying mechanisms may help in the prevention and treatment of RAS.

Materials and methods: We searched PubMed, Scopus and Web of Science for articles on oxidative stress in patients with RAS from 2000 to 2022. Studies analysing oxidant and antioxidant levels in blood and saliva of RAS patients and healthy controls were selected.

Results: Of 165 potentially eligible articles, 14 met the inclusion criteria: 7 studies on blood samples, 3 on salivary samples and 4 on both blood and salivary samples. Multiple oxidative and antioxidant markers were assessed in blood and saliva samples. Overall, statistically significant differences were found between case and control groups for most markers, assuming a P-value <0.05 as statistically significant to consider increased levels of oxidative stress. In addition, increased oxidative DNA damage was observed in patients with RAS.

Conclusion: Patients with RAS show increased levels of oxidative stress compared to healthy controls, with a significant increase in oxidative markers and a significant decrease in antioxidant defences in saliva and blood samples.

PALABRAS CLAVE

- I. Estomatitis aftosa recurrente
- II. Estomatitis aftosa
- III. Úlcera aftosa recurrente
- IV. Ulceración aftosa recurrente
- V. Úlcera aftosa recurrente
- VI. Úlcera oral
- VII. Estrés oxidativo
- VIII. Marcadores oxidantes
- IX. Estrés nitrosativo
- X. ROS
- XI. RNS
- XII. Niveles antioxidantes
- XIII. Estado antioxidante
- XIV. Marcadores antioxidantes

ABREVIATURAS

RAS: recurrent aphthous stomatitis

RAU: recurrent aphthous ulcer

IL: interleucina

TNF: factor de necrosis tumoral

MiRAS: estomatitis aftosa menor

MaRAS: estomatitis aftosa mayor

HuRAS: estomatitis aftosa herpetiforme

HLA: antígeno leucocitario humano

ERO: especies reactivas de oxígeno

ERN: especies reactivas de nitrógeno

O₂^{•-}: anión superóxido

HO⁻: radical hidroxilo

H₂O₂: peróxido de hidrógeno

NADPH: nicotiamida adenina dinucleotido fosfato

UV: ultravioleta

ADN: ácido desoxirribonucleico

GSH: glutatión

SOD: superóxido dismutasa

GPx: glutatión peroxidasa

PRX: peroxiredoxina

TRX: tiorredoxina

GST: glutatión-S-transferasa

NQO1: quinona oxidorreductasa

(HO)-1: hemo oxigenasa

NRF: factor nuclear eritroide

MPO: mieloperoxidasa

HClO: ácido hipocloroso

CIO: hipoclorito

•OH: radicales hidroxilos

GSSG: glutatión disulfuro

AU: ácido úrico

MDA: malondialdehído

NO[•]: óxido nítrico

AOP: poder antioxidante

TOS: estado oxidante total

TAS o TAC: estado antioxidante total o capacidad antioxidante total

OSI: índice de estrés oxidativo

VIH: virus de inmunodeficiencia humana

PON1: paraxonasa

NOS: óxido nítrico sintasa

CAT: catalasa

Vit A: vitamina A

Vit C: vitamina C

Vit E: vitamina E

VitB12: vitamina B12

1. INTRODUCCIÓN

1.1 ESTOMATITIS AFTOSA RECURRENTE (RAS)

1.1.1 DEFINICIÓN

La estomatitis aftosa recurrente (RAS, recurrent aphthous stomatitis) o ulcera aftosa recurrente (RAU, recurrent aphthous ulcer) es una enfermedad inflamatoria idiopática y multifactorial, crónica y recurrente, caracterizada por úlceras unitarias o múltiples, redondas u ovaladas, normalmente dolorosas con varios grados de severidad y autolimitadas (1-3 mm) (1). Estas lesiones aparecen frecuentemente en la mucosa oral no queratinizada y presentan un centro blanco y necrótico rodeado por un halo eritematoso característico, signo clínico de inflamación local (2, 3). El halo eritematoso típico de esta enfermedad se forma a partir de una vasculitis superficial y de eritrocitos extravasados y representa la llegada de células inflamatorias e inmunitarias tal como linfocitos T y neutrófilos, que liberan mediadores inflamatorios como citoquinas (prevalentemente interleucinas (IL) 2 y 6) y factor de necrosis tumoral (TNF) (3, 4).

1.1.2 EPIDEMIOLOGÍA: PREVALENCIA E INCIDENCIA

La prevalencia de la RAS varía ampliamente entre países, entre el 5 y el 30% en la población general. Se considera uno de los trastornos más frecuentes y más comunes de la cavidad oral en todo el mundo. En algunos grupos determinados puede alcanzar una prevalencia de más del 50% y, según los últimos estudios epidemiológicos, la frecuencia de aparición es mayor en regiones como Estados Unidos y Europa, en individuos de raza blanca no fumadores y en sujetos que presentan un alto nivel socioeconómico (5-7).

La RAS se desarrolla más frecuentemente en individuos de sexo femenino, menores de 40 años y es generalmente más prevalente en grupos de edades entre 10 y 19 años (5, 7). Efectivamente, tal y como sostiene Çaglayan y cols (3), la etapa con una mayor incidencia de RAS es la infancia, de hecho su frecuencia y gravedad tiende a disminuir con la edad. Aunque estas lesiones son características de la infancia y adolescencia, pueden manifestarse a cualquier edad, frecuentemente con recidivas y periodos interbrote (3).

La RAS aparece en individuos aparentemente saludables, por lo que es fundamental realizar un óptimo diagnóstico diferencial, excluyendo enfermedades asociadas a úlceras bucales recurrentes, tal y como el síndrome de Behçet, enfermedades inflamatorias intestinales crónicas, enfermedad celíaca, enfermedades

inmunodepresoras y/o tratamientos inmunosupresores, enfermedades inflamatorias y algunas otras patologías (5, 7).

1.1.3 PRESENTACIÓN CLÍNICA

La presentación clínica de la RAS varía dependiendo de la edad y el grado de severidad y se caracteriza por la aparición de úlceras dolorosas en la mucosa bucal. Suelen ir acompañadas por síntomas prodrómicos que pueden surgir hasta 24-48h antes de la aparición clínica de estas lesiones orales. Suele producir dolor, ardor y picor localizado, una área afectada típicamente eritematosa, dificultad para hablar y comer, inflamación de los ganglios linfáticos y fiebre (3). Estas úlceras son de tamaño variable y, generalmente, afectan a la mucosa móvil no queratinizada de los labios y mejillas, bordes laterales y cara ventral de la lengua y, solo en algunas formas clínicas, pueden afectar a paladar y encías (7).

Según la modificación de Field y Allan, esta patología puede clasificarse en tres tipos: estomatitis aftosa menor, estomatitis aftosa mayor y estomatitis aftosa herpetiforme (8).

1.1.3.1 ESTOMATITIS AFTOSA MENOR

La estomatitis aftosa menor (MiRAS) es, sin duda, la forma más frecuente de aparición entre los pacientes que sufren RAS (hasta 85%) y se caracteriza por úlceras de carácter leve, inferiores a 10 mm, con fondo de color blanco-amarillento y con bordes poco elevados y ligeramente indurados. Pueden aparecer hasta cinco lesiones de carácter leve, en una o múltiples áreas bucales, y curan espontáneamente, sin dejar cicatrices, en aproximadamente 10-14 días (3, 7, 8).

1.1.3.1. ESTOMATITIS AFTOSA MAYOR

La estomatitis aftosa mayor (MaRAS) es la segunda forma más frecuente de aparición en pacientes con RAS y se ha observado una mayor prevalencia en adultos, muchas veces como signo clínico de síndromes sistémicos subyacentes.

Estas úlceras se caracterizan por ser úlceras superiores a 10 mm que curan espontáneamente en aproximadamente seis semanas, dejando casi siempre una cicatriz después de su curación, a menudo con una ligera fibrosis. Son úlceras de bordes

irregulares, más profundas con respecto a las aftas menores, por lo cual presentan un fondo hemorrágico, resultado de las lesiones sufridas por los vasos sanguíneos que irrigan la zona (3, 7, 8).

1.1.3.1. ESTOMATITIS AFTOSA HERPETIFORME

La estomatitis aftosa herpetiforme (HuRAS o de Cooke) es la forma menos común de aparición en pacientes con RAS, de hecho apenas alcanza el 10% de todos los pacientes con RAS. Sin embargo, se observa una mayor incidencia en mujeres maduras.

La estomatitis de Cooke se presenta en forma de múltiples úlceras, que pueden alcanzar hasta 100 lesiones orales, repartidas en grupos en cualquier parte de la cavidad oral, que simulan las lesiones producidas por el herpes virus. Suelen aparecer úlceras que no superan los 3 mm, sin embargo pueden potencialmente fusionarse y llegar entonces a formar úlceras mayores irregulares. Curan espontáneamente en aproximadamente 2 semanas (3, 7, 8).

1.1.4 FACTORES DE RIESGO

Según los estudios realizados hasta ahora, 7 personas sobre 10 han sufrido al menos una vez en su vida el RAS, por lo que es importante entender cuáles son sus factores de riesgo principales para poder prevenir o aminorar la gravedad y frecuencia de esta enfermedad (9). Estos se clasifican en factores de riesgo modificables y no modificables y, aunque no han sido identificados con exactitud los factores causantes de esta condición, se cree que la etiopatogenia de la RAS es multifactorial e incluye múltiples factores como: predisposición genética, hábitos personales, el estilo de vida, alergias, influencias hormonales, anormalidades hematológicas, factores inmunológicos, déficit de vitaminas y micronutrientes debidos a una mala alimentación, estrés psicosocial, traumatismos y también enfermedades sistémicas e infecciones virales o bacterianas (1, 10, 11). Como últimos potenciales factores responsables se incluyen disbiosis en la microbiota oral, la falta de sueño, el uso de alcohol, la exposición prolongada a sustancias tóxicas y a la luz solar e incluso reacciones a medicamentos (algunos antibióticos, antiinflamatorios no esteroideos y antidepresivos) (3, 7, 9, 12)

Un reciente estudio, ha evidenciado que entre el 10 y el 20% de los pacientes con estomatitis aftosa recurrente presentan una deficiencia de hierro, ácido fólico y vitamina B12 (5).

Todos los potenciales factores etiopatogénicos estudiados para RAS son capaces de alterar el equilibrio del estado oxidante/antioxidante presente en nuestro organismo y pueden así acelerar la formación de radicales libres (3, 13).

Uno de los factores de riesgo más asociado a enfermedades inflamatorias y relacionadas con el estrés oxidativo es el consumo de tabaco. Sin embargo, varios trabajos de investigación han demostrado la disminución en la frecuencia de aparición de RAS en pacientes fumadores. Hasta ahora, hay datos contradictorios sobre la asociación del hábito tabáquico a la RAS, ya que algunos estudios definen el tabaco un factor de riesgo relevante en la aparición de RAS, mientras que en otros la frecuencia de aparición esta disminuida (11). Recientes estudios afirman que en pacientes fumadores parece aumentar la queratinización de la mucosa oral que, a su vez, actuaría como factor de protección frente a la invasión de factores etiopatogénicos del RAS. Además, la nicotina inhalada por los fumadores ejerce su acción disminuyendo el nivel de citoquinas pro inflamatorias y aumentando el nivel de citoquinas antiinflamatorias. No obstante esto, no se puede claramente definir el hábito tabáquico como factor de protección frente al RAS, debido a sus múltiples efectos nocivos comprobados y siendo este el principal factor de riesgo en cáncer de pulmón y cáncer oral (6, 9).

Diversos estudios, evidencian una mayor predisposición a padecer RAS en gemelos monocigóticos, asociado al antígeno leucocitario humano y HLA-B51 (también presente en la enfermedad de Behçet), que afectan incluso a la severidad de la enfermedad (6, 7, 14).

Así, la predisposición genética juega un rol decisivo en la aparición de esta patología e indica que buena parte de la susceptibilidad para el RAS es de origen hereditario pero, desafortunadamente, constituye un factor de riesgo no modificable (6, 9).

Otra posible origen de la RAS radica en sujetos con una personalidad ansiosa. Aunque parezca extraño, la ansiedad no solo influye en los pensamientos y comportamientos, sino que a nivel analítico se pueden encontrar valores elevados de cortisol en las muestras salivares de estos pacientes. La existencia de este exceso puede desencadenar la aparición de úlceras orales (7, 11, 15)

1.1.5 FISIOPATOLOGÍA Y PATOGENIA

La patogenia de la RAS aún no está completamente comprendida, sin embargo, se cree que la enfermedad es causada por una alteración de la inmunidad innata, lo que provoca una respuesta inflamatoria excesiva. Esta respuesta inflamatoria provoca la activación de los linfocitos T, lo que resulta en una mayor producción de citoquinas proinflamatorias, como el TNF-alfa e interleucinas. Como consecuencia, en pacientes con RAS, se pueden observar aumentos en los niveles séricos de varias interleucinas (IL-2, IL-4, IL-5 y IL-10). Las citoquinas estimulan la producción de ERO, que causan estrés oxidativo, provocando un daño celular adicional (Figura 1) (12). TNF-alfa, en particular, desarrolla un papel esencial en la evolución de la RAS. Esta citoquina da comienzo a una ruta inflamatoria, ya que favorece la migración de neutrófilos que desencadenan este proceso inflamatorio agudo (7). En este proceso se expresa el complejo mayor de histocompatibilidad, cuya función es diferenciar lo propio de lo extraño y en consecuencia es responsable de las “señales de peligro” que inducen la activación de los linfocitos T frente a las células epiteliales. Otra citoquina que participa a este proceso inflamatorio es la IL-2, mientras que los niveles de IL-10 (citoquina antiinflamatoria) en las lesiones mucosas se ven disminuidos (7, 9).

Además, se ha visto que factores genéticos tienen una gran influencia en el desarrollo y evolución de esta patología oral, tanto que la mitad de los pacientes con aftas bucales tienen antecedentes familiares de RAS y la probabilidad de padecerla aumenta casi al 100% si ambos los padres sufren de RAS. Por lo contrario, en pacientes sin antecedentes familiares de RAS, tenemos solo el 20% de probabilidad de sufrirla (6, 7, 9). Específicamente, los polimorfismos genéticos en genes relacionados con el funcionamiento del sistema inmune (interleucinas, TNF) han sido identificados como responsables de esta predisposición genética, ya que facilitan la migración de células pro inflamatorias (6, 9). Estos polimorfismos permiten la expresión no controlada de IL-1beta, IL-6 y TNF-alfa, todos responsables de los procesos inflamatorios anteriormente mencionados.

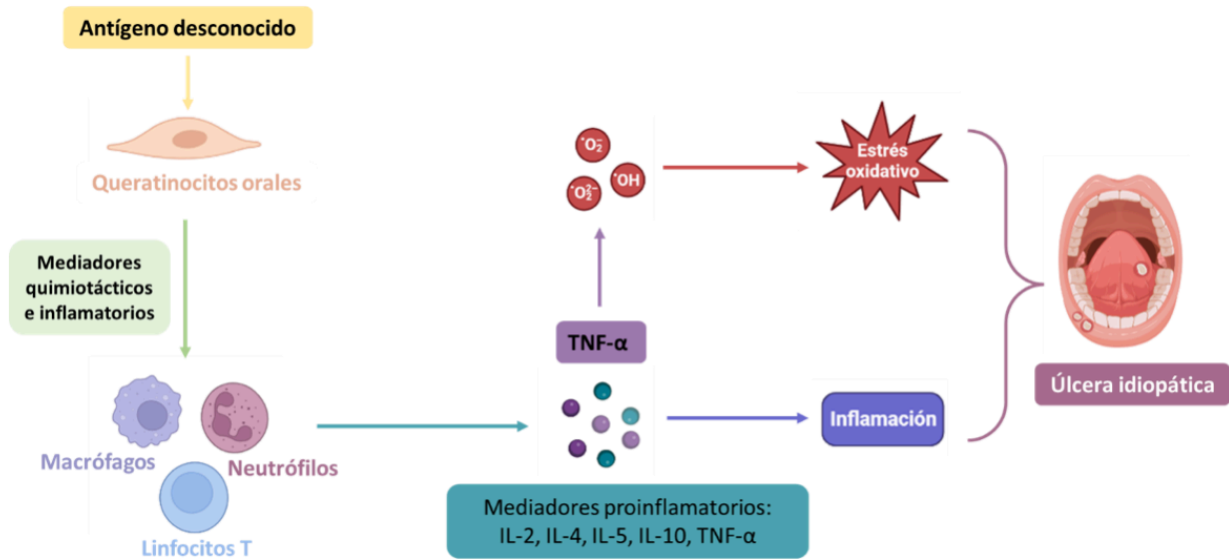


Figura 1. Respuesta inflamatoria a un antígeno, que estimula la producción de oxígeno reactivo. Este proceso termina con la aparición de úlceras orales. Imagen creada con Biorender.

1.1.5.1 ESTRÉS OXIDATIVO Y DEFENSAS ANTIOXIDANTES

El estrés oxidativo surge como resultado de un desequilibrio entre la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) y especies reactivas de nitrógeno (ERN) y las defensas antioxidantes que conduce a la disfunción celular y al daño tisular (16).

Las ERO son metabolitos de oxígeno altamente reactivos que contienen uno o más electrones no apareados en sus orbitales atómicos externos, lo que las convierte en moléculas inestables y altamente reactivas, y además son los radicales libres que se encuentran más comúnmente en el sistema biológico. Algunos ejemplos son el anión superóxido (O_2^-), el radical hidroxilo ($HO\cdot$) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) (5, 3, 17). En este sentido, las ERO son moléculas que se generan a partir del metabolismo celular fisiológico sin tener consecuencias patológicas, por lo que, en condiciones normales la producción de estas especies no ha sido identificada como peligrosa para el organismo.

Asimismo son varios los factores involucrados con la generación de estrés oxidativo, tanto endógenos como exógenos. Los principales productores de ERO endógenas son la cadena de transporte de electrones y las reacciones catalizadas por

enzimas en las que intervienen la NADPH oxidasa, la xantina oxidasa, la óxido nítrico sintasa, las enzimas del citocromo P450, la lipoxigenasa y la ciclooxigenasa (18).

Las ERO también podrían ser producto de la interacción con fuentes exógenas, como la invasión bacteriana (19, 20). Otras fuentes celulares de ERO son los neutrófilos, los monocitos y las células endoteliales (21). Las fuentes exógenas que contribuyen a la formación de ROS son la contaminación, el humo de los cigarrillos, los metales pesados, los metales de transición, los disolventes industriales, los pesticidas, los insecticidas, ciertos fármacos y la radiación UV (22).

En los que respecta la cavidad oral, las ERO pueden producirse durante la inflamación periodontal, pero varias bebidas, como el té verde y el negro, y especialmente el café instantáneo, pueden contener H₂O₂. Por otra parte, las bacterias orales también producen H₂O₂ (23). Otras fuentes de ROS en la cavidad oral pueden ser los xenobióticos (etanol, humo de tabaco, fármacos), los alimentos (dieta rica en grasas, dieta rica en proteínas, acroleína), el tratamiento dental (ozono, ultrasonidos, plasma no térmico, luz láser, luz ultravioleta) y los materiales dentales (fluoruros, composites dentales, aparatos de ortodoncia fijos y fijaciones de titanio) (24).

Las reacciones químicas involucradas en la generación de procesos de estrés oxidativo llevan irreversiblemente a la alteración estructural de los componentes con los cuales interactúan las especies reactivas, favoreciendo mutagénesis y carcinogénesis (25). La descompensación del equilibrio redox provoca daños por oxidación en las moléculas del organismo (como lípidos, proteínas y ADN), y a veces, incluso la misma muerte celular (10, 1). Estas reacciones tóxicas que causan daños oxidativos llevan a las moléculas a perder sus propiedades biológicas y fisiológicas, deteriorando su viabilidad, estructura y función. Además que inducir la lisis de sus propias células. Esta cadena de consecuencias tóxicas tiene como resultado final la producción de daños irreversibles a los tejidos involucrados (2, 4).

Por esta razón, el aumento anormal de especies reactivas ha sido identificado como el factor causante de múltiples enfermedades sistémicas, síndromes y patologías tales como el diabetes mellitus, cáncer, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, síndrome de Behçet, aterosclerosis, liquen plano, procesos inflamatorios, enfermedades neurológicas y neurodegenerativas y el envejecimiento (3, 16, 22, 26, 27). Igualmente, se

ha visto la existencia de una potencial asociación entre el metabolismo de radicales libres y enfermedades inflamatorias, tal como la RAS, en la que los factores etiopatogénicos pueden acelerar la formación de radicales libres (3, 28).

El organismo contrarresta el daño inducido por las ERO con una amplia variedad de defensas antioxidantes. Este sistema antioxidante endógeno incluye antioxidantes de pequeño peso molecular (vitamina E, melatonina, glutatión (GSH), ácido úrico, etc.), enzimas antioxidantes clásicas (superóxido dismutasa (SOD), catalasa y glutatión peroxidasa (GPx)), otras enzimas antioxidantes (peroxiredoxinas (PRX), tioredoxinas (TRX)), enzimas detoxificadoras de fase II (isozimas de la glutatión-S-transferasa (GST), NADP(H), quinona oxidoreductasa (NQO1), etc.), proteínas de respuesta al estrés (hemo oxigenasa (HO)-1, ferritina, etc.), mucinas y proteínas de unión a metales (lactoferrina, transferrina, metalotioneína, etc). El factor nuclear eritroide 2 relacionado con el factor 2 (NRF2) induce la expresión de la mayoría de las enzimas antioxidantes y desintoxicantes, lo que hace que este factor sea esencial para activar el sistema de defensa antioxidante (23, 19).

La presencia de estrés oxidativo en los individuos, puede ser debida tanto al aumento en los niveles de oxidantes, a la no compensación por parte de los antioxidantes, o bien a un déficit propio de estos antioxidantes. En algunos estudios, se describe como estos déficits pueden resultar de una ingesta disminuida de vitaminas antioxidantes (Vitamina E y C), por un aumento en la utilización de las moléculas antioxidantes, y/o por un déficit en la síntesis de enzimas como SOD y GPx (13). Además, la disminución en la disponibilidad de antioxidantes puede ser debida a una incorrecta síntesis enzimática que, a su vez, deriva de una ingesta inapropiada de micronutrientes como magnesio, zinc, selenio. Por lo que, una dieta rica en micronutrientes antioxidantes puede jugar un papel central en la prevención y contraste de enfermedades asociadas a niveles excesivos de estrés oxidativo (13).

Los antioxidantes están presentes en todos los fluidos corporales, incluida la saliva. La saliva contiene varios antioxidantes que pueden ser tanto enzimáticos (por ejemplo, SOD, catalasa, peroxidasa) como no enzimáticos (por ejemplo, ácido ascórbico (vitamina C), albúmina, GSH, lactoferrina, vitaminas y ácido úrico) (29). La cavidad oral y la saliva constituyen la primera línea de defensa contra el estrés oxidativo, proporcionando así efectos protectores contra microorganismos, toxinas y oxidantes (30, 31, 32).

Muchos de los antioxidantes son utilizados como marcadores de estrés oxidativo. Los marcadores más importantes y reportados en los diferentes estudios son numerosos y cada uno desarrolla un rol diferente.

La enzima SOD es uno de los antioxidantes endógenos más potentes del cuerpo humano y representa un factor clave en la protección y contraste frente al propio superóxido. Este representa la primera línea de defensa frente a los radicales libres, protegiendo al organismo de eventuales daños tisulares observados en los procesos inflamatorios (17). Para ejercer su acción, la SOD requiere también la acción de sus cofactores enzimáticos, tales como GP y catalasa, que también forman parte del sistema de defensa antioxidante. De hecho la acción de la SOD empieza con la transformación del superóxido $O_2^{\bullet-}$ (especie reactiva de oxígeno) en peróxido de hidrogeno H_2O_2 y, sobre este último, actuarán la enzima peroxidasa junto a la catalasa, para transformarlo en agua H_2O (33).

La enzima mieloperoxidasa (MPO) es una enzima oxidorreductasa, identificada como un marcador prooxidante, almacenada en los gránulos de los neutrófilos polimorfonucleados y que se libera durante la degranulación de estos últimos. Se pueden encontrar, niveles aumentados de MPO en procesos inflamatorios. En los neutrófilos, el oxígeno emplea la MPO para clorar el H_2O_2 , produciendo entonces ácido hipocloroso (HClO). En situaciones patológicas, en las cuales se rompe el equilibrio redox, casi la mitad del H_2O_2 se convierte a hipoclorito (ClO) y el 60% restante forma radicales hidroxilos ($\bullet OH$) (33, 34).

Otro de los marcadores utilizado para determinar los niveles de estrés oxidativo es la GPx, encargada de prevenir e inhibir la peroxidación lipídica, mantener la homeostasis intracelular y, por lo tanto, mantener el equilibrio redox. La GPx es uno de los más importantes selenoenzimas antioxidantes se encarga de la desintoxicación de los peróxidos de hidrógeno e hidroxilos (35).

No solo los antioxidantes enzimáticos son utilizados como marcadores de estrés oxidativo, sino que también se emplean marcadores no enzimáticos. Un ejemplo de marcador no enzimático muy importante y altamente utilizado es el GSH. Esta molécula es reconocida como el principal antioxidante presente en todas las células que las protege de los tóxicos en general y, además, se encarga de contrarrestar las especies reactivas. En el ambiente celular el glutatión se encuentra en su estado reducido (GSH), o bien en

su estado oxidado (GSSG). La GPx se encarga de catalizar los procesos químicos que permiten al GSH reaccionar con los peróxidos para transformarlos. Durante este procedimiento, el GSH es oxidado a GSSG y posteriormente, gracias a la acción de la enzima glutatión reductasa, regresará a su estado original (35). En varios estudios, la síntesis de glutatión se ha demostrado esencial para llevar a cabo los procesos fisiológicos del organismo en los cuales está involucrado. Para medir los niveles de estrés oxidativo mediante estos biomarcadores, se suele utilizar la ratio GSH/GSSG. En los casos en los cuales esta proporción se ve alterada, la célula sufre problemas de estrés oxidativo, de consecuencia la ratio GSH/GSSG disminuye (4).

El ácido úrico (AU) es otro de los marcadores antioxidantes no enzimáticos secuestradores de ERO. Esto significa que el ácido úrico inhibe y contrarresta tanto la reacción, como la propagación, de ERO. Este antioxidante, identificado como uno de los más importantes y esenciales de la saliva, capaz de atrapar radicales como las ERO (33). El AU representa más del 85% de la capacidad antioxidante total de la saliva humana no estimulada y estimulada (36). La correlación entre el nivel de ácido úrico en la saliva y el nivel en el plasma demuestra que el ácido úrico proceder del plasma (25).

Los antioxidantes nutricionales también son componentes del sistema de defensa antioxidante y sus niveles también son estudiados en análisis del estrés oxidativo.. Entre los otros, los antioxidantes nutricionales más importantes son el selenio, vitaminas E y C y el ácido fólico. Estos antioxidantes nutricionales ayudan a neutralizar los radicales libres, reduciendo así su toxicidad y protegiendo a las células del daño oxidativo que pueden causar (29, 37, 38). Todos actúan como cofactores de las enzimas antioxidantes y algunos como atrapadores de ERO. Por ejemplo, la ingesta de Selenio se ha demostrado esencial y necesaria para la fisiología humana, en cuanto asegura el correcto funcionamiento de la enzima antioxidante GPx (13). El ácido ascórbico (vitamina C) también es un micronutriente esencial para el ser humano. Poco después de su descubrimiento, la vitamina C se encontró en la saliva (39).

A pesar de que la mayoría de los marcadores de estrés oxidativo son componentes del sistema antioxidante, también pueden medirse los propios niveles de las ERO o productos de reacciones oxidantes. El malondialdehído (MDA) es uno de los productos finales de la peroxidación lipídica, la principal producción endógena de MDA surge de la oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados. Un aumento de los radicales libres

provoca una producción excesiva de MDA, que por supuesto expresará el grado de peroxidación lipídica y el daño oxidativo mediado por los mismos radicales. Por esta razón, el MDA se ha utilizado como biomarcador del estrés oxidativo (25, 40)

1.1.5.1.1 RELACIÓN ENTRE ESTRÉS OXIDATIVO Y RAS

Se ha sugerido que el estrés oxidativo puede desempeñar un papel en el desarrollo de la RAS. La etiología del RAS aún es desconocida, aunque se sospecha que la respuesta inmune exagerada y el estrés oxidativo están relacionados con el desarrollo de la enfermedad (28). Esta hipótesis se basa en el hecho de que las úlceras bucales están asociadas con un aumento en los niveles de radicales libres, mientras que los niveles de antioxidantes disminuyen. Esto lleva a un desequilibrio en el que los radicales libres se acumulan y causan daño a células y tejidos y dan como resultado, la inflamación y la formación de úlceras. Aunque el estrés oxidativo parece jugar un papel en el desarrollo del RAS, todavía hay mucho que aprender sobre esta condición (11, 41).

En uno de los estudios más recientes sobre el estrés oxidativo, se ha visto como la vía de acción de los radicales libres permanece oculta durante las primeras fases y solo se hace evidente cuando el cuadro clínico ya es grave. Datos de la literatura reportan una asociación directa entre niveles de radicales libres, estrés oxidativo y estadios inflamatorios (25, 10, 14). Por supuesto, la patogénesis de la RAS se atribuye a la liberación de citoquinas e infiltrado de linfocitos y, entonces, a la alteración de la inmunidad humoral y celular. El proceso celular que aparece en pacientes afectados por RAS, tiene origen en la estimulación de los queratinocitos de la mucosa bucal mediante un antígeno causante aún desconocido, que lleva a una liberación y activación de citoquinas, interleucinas (IL) y linfocitos T. La infiltración de linfocitos y células inflamatorias parece ser responsable en la inducción y producción de radicales libres mediante la acción de enzimas del sistema oxidativo (14). Por esta razón, varios estudios han analizado la presencia de ERO, antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos y sus asociación con la estomatitis aftosa.

Para evaluar la posible alteración en los niveles de estrés oxidativo en pacientes con RAS, se analizaron los siguientes parámetros que incluyen marcadores de oxidantes y antioxidantes como la SOD, GP, CAT, GSHP, UA, NO[•], MPO, MDA, vitamina E, Selenio, poder antioxidante (AOP), GSH, GSSG. Además, para poder derivar índices globales en

la medición del estrés oxidativo se calculó el estado oxidante total (TOS), el estado antioxidante total (TAS), la capacidad antioxidante total (TAC), el índice de estrés oxidativo (OSI), que corresponde a la ratio TOS/TAC, y la ratio GSH/GSSG. En algunos estudios se incluyeron también los valores séricos de IL-2, IL-4, IL-5 y IL-10 y TNF- α .

El estrés oxidativo parece jugar un papel importante en el desarrollo y mantenimiento de la RAS. Por lo tanto, los tratamientos para reducir el estrés oxidativo pueden ser una estrategia eficaz para prevenir y tratar la enfermedad.

2. JUSTIFICACIÓN E HIPOTESÍS

2.1 JUSTIFICACIÓN

La presencia de estrés oxidativo en múltiples enfermedades sistémicas, inmunológicas, malignas, premalignas y sobretodo inflamatorias es una realidad bien conocida (25, 42). Al respecto de la posible asociación entre RAS y estrés oxidativo, la presente revisión sistemática constituye un estudio relevante ya que contribuye a explicar los nexos entre etiopatogenia del RAS y mecanismos inmunológicos involucrados.

Sin embargo, en las últimas décadas no se han encontrado nuevas perspectivas con respecto al conocimiento de la etiología, diagnóstico y tratamiento del RAS (4). Esto representa el principal motivo por el cual los expertos y profesionales de salud siguen intentando comprender mejor los procesos involucrados en esta patología bucal. Por estas razones, se cree conveniente realizar este tipo de revisión ya que constituye una actualización y contextualización sobre el tema y favorece posteriores investigaciones que aún son necesarias para entender, detener y prevenir la aparición de estrés oxidativo en pacientes con RAS. Actualmente, no existen revisiones sistemáticas sobre este tema que incluyan en su investigación muestras salivares y sanguíneas y, por lo tanto, nunca han sido evaluados los efectos del estrés oxidativo sobre el RAS tanto a nivel local como a nivel sistémico en el mismo estudio. Además, en la literatura existen investigaciones realizadas únicamente en pacientes afectados por RAS, sin tener en cuenta datos de comparación con pacientes controles sanos.

A propósito de lo anteriormente expuesto, esta revisión propone la medición mediante marcadores oxidantes y antioxidantes incluyendo pacientes casos y sujetos controles. Por estas razones, el presente trabajo puede ayudar en la realización de ulteriores estudios sobre nuevas terapias, ya que los marcadores de estrés oxidativo junto a elementos de la barrera antioxidante, podrían utilizarse como marcadores diagnóstico en un futuro, y como objetivo terapéutico directo o indirecto en la práctica clínica (25). Teniendo esto en cuenta, es importante realizar estudios que tengan como objetivo determinar cómo se podría cambiar el equilibrio oxidativo hacia el lado antioxidante y como mantener y potenciar este mecanismo de defensa (1).

Por lo anteriormente mencionado, se creyó necesario y justificado realizar una revisión sistemática de la literatura que evaluara los efectos del estrés oxidativo en

pacientes afectados por RAS comparados con sujetos sanos, y que analice su acción a nivel sistémico y local.

2.2 HIPÓTESIS

A pesar de que el estrés oxidativo no se conoce universalmente como uno de los factores causantes y desencadenantes de la RAS, basándose en los estudios realizados previamente en pacientes con esta enfermedad y los marcadores de estrés oxidativo, se propone la siguiente hipótesis: existe una asociación entre el estrés oxidativo (niveles de oxidantes y antioxidantes), en sangre y saliva, y la enfermedad estomatitis aftosa recurrente.

3. OBJETIVOS

Este trabajo tiene como objetivo proporcionar datos suficientes para que, no solo haya una evidencia científica comprobada de la presencia de estrés oxidativo en pacientes con RAS, sino que se pueda reforzar la investigación en términos de acciones terapéuticas miradas para la prevención y contraste del estrés oxidativo.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la presencia de estrés oxidativo mediante la medición de sus marcadores en pacientes afectados por estomatitis aftosa recurrente en comparación con los pacientes controles sanos.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Evaluar el incremento de marcadores oxidantes en pacientes con RAS en muestras de saliva y sangre
2. Evaluar la disminución de las defensas antioxidantes en pacientes con RAS en muestras de saliva y sangre

4. MATERIAL Y MÉTODO

La presente revisión sistemática se llevó a cabo siguiendo la declaración de la Guía PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analysis) (43).

Además, se registró el trabajo sobre el registro prospectivo internacional de revisiones sistemáticas PROSPERO, con el número de registro CRD42023428946.

4.1 IDENTIFICACIÓN DE LA PREGUNTA PICO

Para la realizar la búsqueda de los artículos indexados sobre la existencia del estrés oxidativo en pacientes con RAS, publicados desde el año 2000 hasta el año 2022, se utilizaron las bases de datos indicadas a continuación: Medline-PubMed (United States National Library of Medicine), Scopus y Web of Science.

Mediante las fuentes de información seleccionadas se intentó responder a la siguiente pregunta de investigación: ¿Existe una asociación entre las variaciones en los niveles de oxidantes y antioxidantes, en sangre y saliva, y la enfermedad estomatitis aftosa recurrente?

Esta pregunta de estudio se estableció de acuerdo con la pregunta estructurada PICO.

Basándose en el objetivo de la presente revisión sistemática, la pregunta de investigación formulada se centró en los siguientes componentes:

- **P** (población): pacientes afectados por estomatitis aftosa recurrente
- **I** (intervención): medición de marcadores oxidantes y antioxidantes en muestras de sangre y saliva
- **C** (comparación): Pacientes controles sanos
- **O** (outcome/resultados): concentraciones de marcadores de estrés oxidativo en muestras salivares y sanguíneas de pacientes con estomatitis aftosa recurrente y controles sanos

4.2 CRITERIOS DE ELEGIBILIDAD

Los criterios de inclusión fueron:

- Tipo de Estudio: ensayos clínicos aleatorizados controlados, estudios de cohortes prospectivos y retrospectivos, estudios casos-contróles; publicaciones en inglés, español, italiano; artículos publicados desde el año 2000 hasta el año 2022.
- Tipo de Paciente: pacientes con episodios de RAS repetidos al menos tres veces durante 1 año, estudios sobre humanos adultos, número de participantes mayor o igual a 5 e inferior a 70, pacientes enfermos y pacientes sanos.
- Tipo de Intervención: medición del estrés oxidativo mediante sus principales marcadores en muestras de sangre y saliva, con un seguimiento mínimo que corresponde al periodo de afectación por RAS.
- Tipo de Variables de Resultados: estudios que proporcionan datos relacionados con la medición de los biomarcadores, oxidantes y antioxidantes; asociación entre estrés oxidativo y RAS; estrés oxidativo como factor etiopatogénico del RAS.

Los criterios de exclusión fueron:

- Respecto a los estudios: estudios duplicados, estudios que tratan el RAS como signo clínico de enfermedades sistémicas subyacentes (VIH, síndrome de Behçet, enfermedad celíaca, trasplantados)
- Respecto a los pacientes: cualquier tipo de paciente que padezcan enfermedades sistémicas, pacientes que recibieron tratamientos terapéuticos para el RAS, pacientes que recibieron tratamientos a nivel sistémico para cualquier enfermedad, pacientes que tomaban suplementos vitamínicos. Pacientes con antecedentes de traumatismos, mujeres durante el periodo de embarazo o lactancia, pacientes con enfermedad periodontal y pacientes con hábito tabáquico.

4.3 FUENTES DE INFORMACIÓN Y ESTRATEGIA DE LA BÚSQUEDA DE DATOS

Se llevó a cabo una búsqueda automatizada en las tres bases de datos anteriormente citadas (PubMed, Scopus y Web of Science) con las siguientes palabras clave: “recurrent aphthous stomatitis”, “aphthous stomatitis”, “recurrent aphthous ulcer”, “recurrent aphthous ulceration”, “recurrent aphthous ulcer”, “oral ulcer”, “oxidative stress”, “oxidant markers”, “nitrosative stress”, “ROS”, “RNS”, “antioxidant levels”, “antioxidant status”, “antioxidante markers”. Las palabras claves fueron combinadas con los

operadores booleanos AND y OR, así como los términos controlados (“MeSH” para PubMed) en un intento de obtener los mejores y más amplios resultados de búsqueda.

La búsqueda en PubMed fue la siguiente: ("Stomatitis, Aphthous"[MeSH Terms] OR recurrent aphthous stomatitis OR "oral ulcer"[MeSH Terms] OR recurrent aphthous ulceration OR recurrent aphthous ulcer OR Aphthous Ulcer) AND ("oxidative stress"[MeSH terms] OR antioxidant markers OR oxidant markers OR antioxidant status OR antioxidant levels OR ROS OR RNS OR nitrosative stress) Filters: Humans, English, Italian, Spanish, from 2000 - 2022

La búsqueda en Scopus fue la siguiente: ("recurrent aphthous stomatitis" OR "oral ulcer" OR "recurrent aphthous ulceration" OR "aphthous stomatitis" OR "recurrent aphthous ulcer") AND ("oxidative stress" OR "antioxidant markers" OR "oxidant markers" OR "antioxidant level" OR "antioxidant status" OR ROS OR RNS OR "nitrosative stress") AND (LIMIT-TO (DOCTYPE, "ar")) AND (LIMIT-TO (LANGUAGE, "English")) OR (LIMIT-TO (LANGUAGE, "Spanish")) OR (LIMIT-TO (LANGUAGE, "Italian")) AND (LIMIT-TO (EXACTKEYWORD, "Human") OR LIMIT-TO (EXACTKEYWORD, "Humans")).

La búsqueda en Web of Science fue la siguiente: (ALL=((("recurrent aphthous stomatitis" OR "oral ulcer" OR "recurrent aphthous ulceration" OR "aphthous stomatitis" OR "recurrent aphthous ulcer"))) AND ALL=((("oxidative stress" OR "antioxidant markers" OR "oxidant markers" OR "antioxidant level" OR "antioxidant status" OR ROS OR RNS OR "nitrosative stress")))

Con el fin de identificar cualquier estudio elegible que la búsqueda inicial podría haber perdido, se completó la búsqueda con una revisión de las referencias proporcionadas en la bibliografía de cada uno de los estudios. Por otra parte se llevó a cabo una búsqueda manual de artículos científicos de las revistas indicadas a continuación: Oral Diseases, Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology, International Journal of Dermatology, Clin Oral Invest, Brazilian Journal of Medical and Biological Research, Exogenous SOD: Therapy Against Oxidative Stress, Revista Argentina De Cardiología, Fundación Clínica Médica Sur.

Por último, se realizó una búsqueda cruzada de artículos potencialmente interesantes para el análisis. Para la adquisición de los artículos que no estaban

disponibles en las bases de datos con texto completo, se contactó con los autores de los mismos o se accedió a través de la institución. Los estudios duplicados fueron eliminados de la revisión.

En la Tabla 1, incluida en apartado de anexos, se muestra el resumen de las búsquedas de cada una de las bases de datos consultadas.

4.4 PROCESO DE SELECCIÓN DE LOS ESTUDIOS

Se seleccionaron los estudios a utilizar en la presente revisión según un proceso dividido en tres etapas. La selección de los estudios ha sido realizada por dos revisores (GR, CEN). En la primera etapa se eligieron los artículos según el título de publicación, con el fin de eliminar todas aquellas publicaciones irrelevantes para nuestro trabajo. En la segunda etapa se filtraron los estudios mediante la lectura de los resúmenes, seleccionados según el tipo de estudio, tipo y número de pacientes, tipo de mediciones de marcadores oxidativos, tipo de intervención, tipo de muestras evaluadas y variables de resultado. En la tercera etapa se seleccionaron los artículos válidos para nuestra revisión mediante la lectura completa de los mismos y se procedió a la extracción de los datos usando para ello un formulario de recogida de datos previamente elaborado para confirmar la elegibilidad de los estudios. No han surgido desacuerdos entre los revisores en cada una de estas fases.

4.5 EXTRACCIÓN DE DATOS

Una vez identificados los estudios disponibles, fue extraída de ellos la siguiente información relevante: nombre de los autores, fecha de publicación; tipo de estudio, tipo de muestras, pacientes no menores de 20 años y no mayores de 60 años, n° participantes; parámetros oxidativos; variables de OSI, media de los niveles de biomarcadores oxidantes y antioxidantes en saliva y en sangre de los grupos RAS y control. Se resumieron y analizaron los datos de referencia, en cuanto a los ajustes por factores relacionados con RAS y la evaluación para el diagnóstico de RAS.

Variable general

- Estrés oxidativo: la cantidad de niveles de estrés oxidativo en pacientes con estomatitis aftosa recurrente cuando se compara con pacientes saludables que no han sufrido

ataques por RAS en los últimos tres meses, siempre que sea reportada la medición tramite muestras de sangre y/o saliva, de forma clínica y con valores expresados como media \pm desviación estándar.

Variables específicas

- Marcadores oxidantes: se recogieron todos aquellos marcadores principales y característicos del estrés oxidativo para medir la presencia de este ultimo en individuos con/sin RAS (NO^{*}, MPO, MDA, TOS, OSI).
- Marcadores antioxidantes: se recogieron todos aquellos marcadores principales y característicos del sistema de defensa antioxidante, esenciales para revelar la presencia de estrés oxidativo (SOD, GP, CAT, GSHP, UA, vitamina E, Selenio, AOP, GSH, GSSG, GSH/GSSG, TAS, TAC)

4.6 VALORACIÓN DE LA CALIDAD

La valoración del riesgo de sesgo fue evaluada por dos revisores (GR, CEN) con el objetivo de analizar la calidad metodológica de los artículos incluidos.

Para la evaluación de la calidad de los estudios observacionales, tipo caso-control, se utilizó la guía Newcastle-Ottawa (44); las publicaciones fueron consideradas de “bajo riesgo de sesgo” cuando cumplían una puntuación de estrellas >6 y “alto riesgo de sesgo” en el caso de una puntuación ≤ 6 .

4.7 SÍNTESIS DE DATOS

En el presente estudio, los datos de las variables específicas se trataron de forma independiente y se recogieron en tablas con sus respectivos valores, agrupados según el grupo de estudio, controles sanos o pacientes con RAS.

En este caso, no se realizó ninguna clase de media o prueba estadística para la comparación entre grupos debido a la heterogeneidad de las variables específicas analizadas. Se utilizó, sin embargo, para la comparación entre los grupos control y pacientes con RAS la variable general de estrés oxidativo, obtenida a través de las variables específicas.

5. RESULTADOS

5.1 SELECCIÓN DE LOS ESTUDIOS. FLOW CHART

Se obtuvieron un total de 165 artículos en el proceso de la búsqueda inicial: Medline-PubMed (n=44), SCOPUS (n=53) y la Web of Science (n=64). Además, se obtuvo 1 estudio adicional a través de la búsqueda manual. De esta publicaciones, 57 fueron duplicadas y 22 fueron consideradas potencialmente elegibles mediante el cribado de títulos y resúmenes. Se obtuvieron los artículos de texto completo y se evaluaron para su elegibilidad. De estos, solo 14 artículos cumplieron con los criterios de inclusión y fueron incluidos en la presente revisión sistemática (Figura 2).

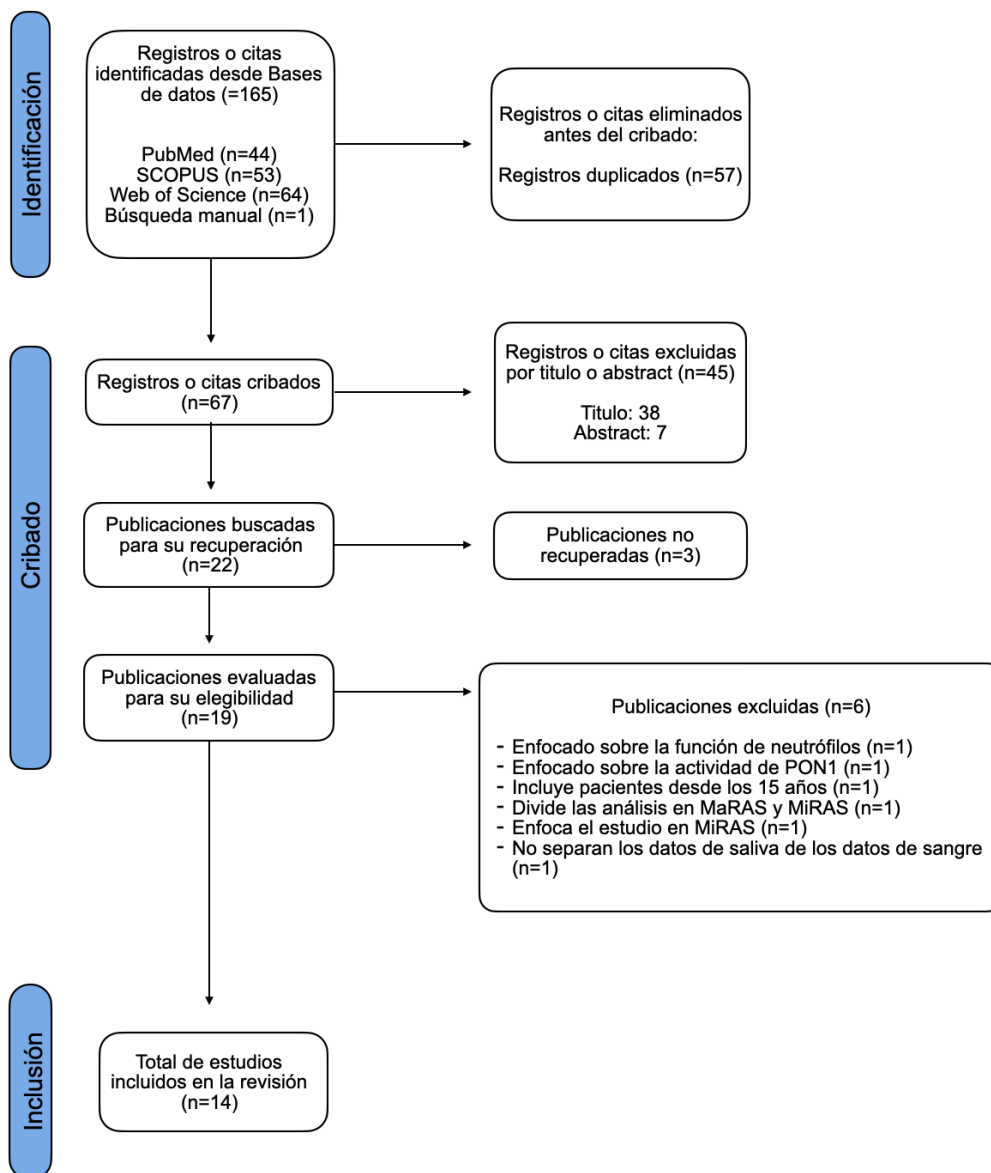


Figura 2. Diagrama de flujo de búsqueda y proceso de selección de títulos durante la revisión sistemática.

El valor k para el acuerdo interexaminador sobre la inclusión de los estudios fue de 0,92 (títulos y resúmenes) y 1,0 (textos completos) lo que indica un acuerdo “bueno” y “completo”, respectivamente, según los criterios de Landis y Koch (45).

La información relacionada con los artículos excluidos, de los los 19 evaluables para su elegibilidad, y su razón de exclusión se presenta en la Tabla 2.

Tabla 2. Artículos excluidos y su razón de exclusión

Autor. Año	Publicación	Motivo de exclusión
Altinyazar.2006 (46)	Turkish Journal of Medical Sciences	Enfocado sobre la función de los neutrofilos
Bilgili.2013 (47)	International Journal of Dermatology	Enfocado sobre la actividad de PON1
Gupta.2014 (48)	Enzyme Research	Pacientes desde 15 años
Jesija.2017 (49)	Journal of Clinical and Diagnostic Research	Diferencia entre MaRAS y MiRAS
Li X.2016 (50)	Journal of Dental Science	Enfocado sobre MiRAS
Momen-Beitollahi.2010 (51)	Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal	No divide los valores entre muestras de saliva y de sangre

5.2 ANÁLISIS DE LAS CARACTERÍSTICAS DE LOS ESTUDIOS REVISADOS

Los 14 artículos seleccionados son estudios observacionales, tipo caso-control, donde se comparan valores de estrés oxidativo entre pacientes con lesión de RAS activa y pacientes sanos.

Los artículos seleccionados miden el estrés oxidativo mediante varios marcadores oxidativos que pueden estar presentes en sangre y/o en saliva. En la Tabla 3, se agruparon los principales marcadores oxidativos encontrados en los estudios seleccionados para analizar las características de los estudios revisados.

Se trataron un total de 795 pacientes, equitativamente divididos entre grupos RAS y grupos control y se analizaron un total de 17 marcadores oxidativos (GPx, CAT, MDA, AOP, PON1, OSI, prolidasa, TOS, TAS o TAC, MPO, GSH, GSGG, NO, Se, Vitaminas, AU, daño oxidativo en ADN).

Tabla 3. Características de los estudios revisados

Características de las variables de los estudios		GSH/ GPx	SOD	MDA	TOS	TAS	OSI
Tipo de estudio	Casos y controles	6	3	7	4	4	4
N° Pacientes (min-max)		45-80	45-80	46-60	50-81	50-90	50-81
Muestra	Saliva	1	1	2	1	0	1
	Sangre	4	1	4	3	4	3
	Saliva y sangre	1	1	1	0	0	0

GSH: glutatión; GPx: glutatión peroxidasa; SOD: superóxido dismutasa; MDA: malondialdeído; TOS: estado oxidante total; TAS: estado antioxidante total; OSI: índice de estrés oxidativo.

El marcador oxidativo GSH fue analizado en 2 estudios (4,10), en uno de ellos, además, se analizó también GSSG (4). En uno de estos estudios, además de otro, se evaluaron los valores de NO (10, 52). Sin embargo un solo estudio se centró en analizar, entre los otros, el rol de NOS (óxido nítrico sintasa) (52).

GPx se estudió en 5 artículos (13, 41, 53, 54, 55), de los cuales en uno se evaluó también Selenio y Vit. E (13), 4 estudios analizaron también SOD (41, 53, 54, 55), en 3 de estos estudios se analizó AU (41, 54, 55) y CAT (53, 54, 55); otro estudio evaluó también los niveles de AOP (53).

El marcador oxidativo MDA fue analizado en 7 estudios (4, 10, 13, 41, 53, 56, 57), de los cuales en uno se evaluó el efecto de las vitaminas (Vit. A, Vit. E, Vit. C, Vit. B12) sobre el estrés oxidativo (57).

La enzima antioxidante MPO fue analizada en un solo estudio sobre muestras de sangre y saliva (3), por otro lado, el marcador antioxidante TOS fue evaluado en 4 estudios (1, 3, 5, 10) y TAS en 4 estudios (1, 5, 10, 52); además se analizaron los niveles de TAC en 3 estudios (3, 56, 58) y los niveles de OSI en 4 estudios (1, 3, 5, 10).

Finalmente, algunos autores decidieron estudiar también PON1 (paraxonasa) y prolidasa (5) y otros incluyeron también el estudio del probable daño oxidativo sobre el ADN (1).

La forma de medición de las variables específicas de cada uno de los estudios se describe en la Tabla 4.

Tabla 4. Método de medición para analizar los niveles de estrés oxidativo, mediante marcadores oxidantes y antioxidantes.

Autores (Año)	Tipo de muestra	Método de Medición del estado oxidativo
<p>(1) Tugrul y cols (2016)</p>	<p>Sangre</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Daño en el ADN: Comet assay (ensayo de electroforesis en gel de una sola célula) en el que se analizan las roturas de cadena del ADN en células eucariotas - TOS: método colorimétrico automático de Erel (basado en la oxidación del ion ferroso a ion férrico en presencia de varias especies oxidantes y la medición del ion férrico mediante el naranja de xilenol) (59) - TAS (TAC): método colorimétrico automático de Erel (basado en la inhibición de las reacciones de radicales libres iniciadas por la producción del radical hidroxilo) (60) - OSI: ratio TOS/TAS
<p>(3) Çaglayan y cols (2008)</p>	<p>Saliva</p>	<ul style="list-style-type: none"> - TAS (o TAC), TOS: métodos colorimétricos automáticos de Erel (descritos anteriormente) (59, 60) - OSI: ratio TOS/TAS - MPO: método descrito por Wei y Frenkel (1993) para el ensayo de la actividad de MPO tisular (basado en la medición de los cambios colorimétricos al reaccionar con peróxido de hidrógeno (H₂O₂)) (61)

<p>(4) Bagan y cols (2014)</p>	<p>Sangre</p>	<ul style="list-style-type: none"> - GSH: método descrito por Akerboom y Sies (1981) basado en un ensayo de glutatión-S-transferasa y la reacción con ácido 5,5'-ditiobis(2-nitrobenzoico) (DTNB) (62) - GSSG: las muestras se trataron con netilmaleimida y ácido disulfónico de bafofenantrolina, se extrajeron y se sometieron a cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) - MDA: se utilizó un método similar al empleado para medir GSSG mediante HPLC
<p>(5) Ekinci y cols (2020)</p>	<p>Sangre</p>	<ul style="list-style-type: none"> - TAS (o TAC), TOS: métodos colorimétricos automáticos de Erel (descritos anteriormente) (59, 60) - OSI: ratio TOS/TAS - PON1: se empleó un kit comercial basado en la descomposición por parte de la enzima PON1 del paraoxano en p-nitrofenole y la medición de su capacidad de absorción - Prolidasa: mediante técnica ELISA, ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas
<p>(10) Avci y cols (2014)</p>	<p>Sangre</p>	<ul style="list-style-type: none"> - MDA: mediante la conversión del MDA en una sonda fluorescente y el uso del sistema HPLC con detector de fluorescencia - GSH: se utilizó un método similar al empleado para medir MDA mediante HPLC con detector de fluorescencia - NO: los valores de NO se expresaron como la suma de nitrito y nitrato, productos finales estables de la NO. Los niveles de nitrato se determinaron espectrofotométricamente partir de la reducción de nitrato a nitrito por el $VaCl_3$. Los niveles de nitrito se midieron mediante la reacción de Griess - MPO: la actividad MPO se evaluó midiendo la oxidación dependiente de H_2O_2 de la o-dianisidina por espectrofotometría - TNF-α, IL-2, IL-10, IL-12: método ELISA - TAS (o TAC), TOS: métodos colorimétricos automáticos de Erel (mencionados anteriormente) (59, 60) - OSI: ratio TOS/TAS

<p>(13) Arikan y cols (2009)</p>	<p>Sangre</p>	<ul style="list-style-type: none"> - MDA: método espectrofotométrico de Beuge y Aust (1978) basado en la reacción del MDA con el ácido tiobarbitúrico para dar una especie roja que absorbe a 535 nm (63) - GPx: método espectrofotométrico de Paglia y Valentine (1967) en el que la actividad enzimática es proporcional a la velocidad de oxidación del NADPH en presencia de H₂O₂ como sustrato a 340nM (64) - Selenio: utilizando la espectrometría de absorción atómica por generación de hidruros - Vit. E: método de Quaiife y Nevn (1949) basado en la medición por espectrofotometría de la reacción colorimétrica generada tras la adición de reactivo de cloruro férrico (65)
<p>(41) Ziaudeen y Ravindran (2017)</p>	<p>Saliva</p>	<ul style="list-style-type: none"> - SOD: método espectrofotométrico de Misra y Fridovich (1977) basado en la fotooxidación aeróbica de la dianisidina, sensibilizada por la riboflavina (66) - MDA: método de Ohkawa, Ohishi y Yagi (1979) basado en la reacción del MDA con el ácido tiobarbitúrico para dar una especie roja que absorbe a 532 nm (67) - GPx: método espectrofotométrico basado en la medición de la oxidación del NADPH en presencia de H₂O₂ a 340nM - AU: método espectrofotométrico de Fossati y cols (1980) basado en la conversión del AU por la uricasa en alantoina y H₂O₂, el cual se oxida a un cromogeno de color rojo medible por absorbancia (68)
<p>(52) Zhang y cols (2019)</p>	<p>Sangre</p>	<ul style="list-style-type: none"> - TAS (o TAC): método colorimétrico automático de Erel (descrito anteriormente) (59, 60) - NO: los valores de NO se expresaron como la suma de nitrito y nitrato - NOS: la actividad de la NOS se calculó en función de los niveles séricos de NO

<p>(53) Çimen y cols (2003)</p>	<p>Sangre</p>	<ul style="list-style-type: none"> - SOD: método espectrofotométrico basado en la inhibición de la reducción del nitroazul de tetrazolio - GPx: método espectrofotométrico basado en la medición de la oxidación del NADPH en presencia de H₂O₂ a 340nM - CAT: método espectrofotométrico basado en la medición de la disminución de la absorbancia debida al consumo de H₂O₂ a 240 nm - MDA: método espectrofotométrico basado en la reacción del MDA con el ácido tiobarbitúrico para dar una especie roja que absorbe a 532 nm. - POA: método basado en la determinación de los niveles de MDA antes y después de la exposición a radicales superóxido (O²⁻) producidos por el sistema xantina/xantina oxidasa.
<p>(54) Karıncaoglu y cols (2005)</p>	<p>Sangre y saliva</p>	<ul style="list-style-type: none"> - GPx: método espectrofotométrico basado en la medición de la oxidación del NADPH en presencia de H₂O₂ a 340Nm - SOD: método espectrofotométrico de McCord y Fridovich(1969) basado en la inhibición de la reducción del citocromo C (69) - CAT: método espectrofotométrico basado en la medición de la disminución de la absorbancia debida al consumo de H₂O₂ a 240 nm - AU: método espectrofotométrico de Fossati y cols (1980) (descrito anteriormente) (68)
<p>(55) Saxena (2011)</p>	<p>Sangre y saliva</p>	<ul style="list-style-type: none"> - GPx: método espectrofotométrico basado en la medición de la oxidación del NADPH en presencia de H₂O₂ a 340Nm - SOD: método espectrofotométrico de McCord y Fridovich(1969) basado en la inhibición de la reducción del citocromo C (69) - CAT: método espectrofotométrico basado en la medición de la disminución de la absorbancia debida al consumo de H₂O₂ a 240 nm - AU: método espectrofotométrico de Fossati y cols (1980) (descrito anteriormente) (68)

<p>(56) Babae y cols (2015)</p>	<p>Sangre y saliva</p>	<ul style="list-style-type: none"> - MDA: método espectrofotométrico basado en la reacción del MDA con el ácido tiobarbitúrico para dar una especie roja que absorbe a 532 nm - TAS (o TAC): método espectrofotométrico FRAP (ferric reducing antioxidant power) en el que se mide el poder antioxidante en la reducción del ion ferroso a férrico.
<p>(57) Saral y cols (2005)</p>	<p>Sangre y saliva</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Vit A: método basado en la medición de las concentraciones de retinol y beta caroteno mediante HPLC - Vit.E: método basado en la medición de las concentraciones de alfa-tocoferol mediante HPLC - Vit. C y MDA: método basado en HPLC
<p>(58) Rezaei y cols (2018)</p>	<p>Saliva</p>	<ul style="list-style-type: none"> - TAS (o TAC): método espectrofotométrico FRAP (ferric reducing antioxidant power) en el que se mide el poder antioxidante en la reducción del ion ferroso a férrico.

5.3 EVALUACIÓN DE LA CALIDAD METODOLÓGICA Y RIESGO DE SESGO

Para los estudios observaciones no randomizados, casi todos fueron considerados de bajo riesgo de sesgo y todos obtuvieron una puntuación desde 7 hasta 9 (puntuación máxima). Solo uno de estos estudios fue considerado de alto riesgo de sesgo y obtuve una puntuación de 6 (Tabla 5).

El valor k (Cohen kappa test) sobre el acuerdo entre los revisores de la calidad metodológica fue 1,0 según la escala de Landis & Koch (45).

Tabla 5. Medición del riesgo de sesgo de los estudio observacionales no randomizados con la escala Newcastle-Ottawa – estudios observacionales con grupo control no randomizado (44).

	Definición de los casos	Representatividad	Selección de los controles	Definición de los controles	Comparabilidad (más importante)	Comparabilidad (otras variables)	Comprobación de la exposición	Mismo método en ambos grupos	Tasa de abandonos	Total
Tuguri y cols (1) 2016	★	★	-	★	★	-	★	★	★	7
Çaglayan y cols (3) 2008	★	★	-	★	★	-	★	★	★	7
Bagan y cols (4) 2014	★	★	★	★	★	★	★	★	★	9
Ekinci y cols (5) 2020	★	★	★	★	★	★	★	★	★	9
Avci y cols (10) 2014	★	★	★	★	★	-	★	★	★	8
Arikan y cols (13) 2009	★	★	★	★	★	-	★	★	★	8
ZiauDeen y cols (41) 2017	★	★	★	★	★	★	★	★	★	9
Zhang y cols (52) 2019	★	★	★	★	★	★	★	★	★	9
Çimen y cols (53) 2003	★	★	★	★	★	★	★	★	★	9
Karincaoglu y cols (54) 2005	★	-	-	★	★	-	★	★	★	6
Saxena (55) 2011	★	★	★	★	★	-	★	★	★	8
Babae y cols (56) 2016	★	★	★	★	★	-	★	★	★	8
Saral y cols (57) 2005	★	★	★	★	★	-	★	★	★	8
Rezaei y cols (58) 2018	★	★	★	★	★	★	★	★	★	9

5.4 SÍNTESIS DE RESULTADOS

5.4.1 ANÁLISIS DE MARCADORES OXIDATIVOS

En relación a la presencia de estrés oxidativo en pacientes afectados por RAS, se analizaron un total de 14 estudios tipo caso-control. En los artículos se evaluaron múltiples marcadores oxidantes y antioxidantes, de los cuales algunos fueron comunes para varios estudios, tal y como TOS, TAS, OSI, MDA, GSH, NO, GPx para los que analizaron muestras de sangre (1, 5, 10, 13, 52, 53); TAC y MDA para los que analizaron muestras de saliva (3, 41, 56, 58); SOD, CAT, GPx, AU para los que analizaron muestras de sangre y saliva simultáneamente (54, 55).

En todas las comparaciones y correlaciones, fue establecido un Valor $P < 0,05$ como estadísticamente significativo para considerar niveles aumentados de estrés oxidativo.

5.4.2 ANÁLISIS REALIZADOS EN MUESTRAS SANGUÍNEAS

En cuanto a los estudios realizados en muestras sanguíneas, se observaron unos mayores niveles de estrés oxidativo, correspondiente a unos niveles elevados de los marcadores oxidantes estudiados y unos menores niveles de las defensas antioxidantes analizadas.

La unidad de medida utilizada en las análisis del marcador TOS fue $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{l}$ y sus valores medios fueron de $10,69 \pm 1,43$ (1), $5,19 \pm 8,26$ (5) y $3,97 \pm 1,34$ (10) en los grupos casos, mientras que en los grupos control el valor medio de TOS fue de $2,90 \pm 6,06$ (1), $2,90 \pm 6,06$ (5), $3,54 \pm 0,67$ (10). Los valores P obtenidos de la comparación del marcador TOS entre pacientes con RAS y controles se encontraban en un rango de 0,01 (1) a 0,04 (5), lo que supone que las diferencias entre ambos grupos para este marcador son significativas. Sin embargo, un estudio obtuvo un valor P mayor que 0,005, por lo que en este caso no se pueden confirmar diferencias significativas entre controles y pacientes (10).

La unidad de medida utilizada en las análisis del marcador antioxidante TAS fue $\mu\text{mol Trolox/l}$. Para los grupos casos, TAS reveló valores medios de $2,19 \pm 0,38$ (1), $1,14 \pm 0,19$ (5), $2,05 \pm 0,38$ (10) y $2,61 \pm 0,78$ (52). Sin embargo, los valores medios asociados a los grupos controles fueron $3,07 \pm 0,53$ (1), $1,09 \pm 0,17$ (5), $2,15 \pm 0,32$ (10), $3,08 \pm 0,49$ (52). El valor P resultante del análisis estadístico estaba comprendido en un rango

entre $<0,03$ (52) y $0,035$ (1), por lo que las diferencias entre ambos grupos se consideraron estadísticamente significativas, con valores mayores en el grupo de controles. Sin embargo, los análisis de otros dos estudios obtuvieron valores P desde $0,343$ (5) hasta $>0,05$ (10), por lo que las diferencias no fueron consideradas estadísticamente significativas.

Para la medición del marcador OSI se utilizaron unidades de medida arbitrarias. Los valores medios obtenidos para este marcador, fueron $4,88 \pm 1,43$ (1), $0,48 \pm 0,81$ (5) y $0,019 \pm 0,03$ (10) para los grupos de pacientes con RAS y $1,73 \pm 0,76$ (1), $0,28 \pm 0,63$ (5) y $0,016 \pm 0,01$ (10) para los grupos controles. En todos los estudios analizados, el valor P de OSI indicó diferencias significativas entre los grupos casos y controles, con valores superiores en los pacientes con RAS ($0,003$ (1), $0,018$ (5) y $P<0,05$ (10)).

Solo uno de los seis artículos que analizaron muestras de sangre se centró en evaluar el posible daño causado por el estrés oxidativo sobre el ADN. Su medición se realizó a través de unidades arbitrarias y su valor medio en el grupo caso fue de $27,47 \pm 9,57$, mientras que en el grupo control fue de $13,73 \pm 7,28$ (1). El valor P asociado al daño oxidativo sobre el ADN fue de $0,001$ (1), por lo que el daño oxidativo sobre el ADN en el grupo de los pacientes fue significativamente mayor que en el caso de los controles.

Para la medición de los valores del marcador oxidante MDA se utilizó la unidad de medida $\mu\text{mol/L}$. Sus valores medios en los grupos casos fueron $1,49 \pm 0,46$ (4), $1,20 \pm 0,78$ (10), $0,97 \pm 0,33$ (13) y $3,89 \pm 1,34$ (53). Además, un estudio evaluó también la presencia de MDA en eritrocitos, en el que se obtuvo un valor medio de $6,90 \pm 1,79$ en el grupo de los pacientes (53). Los valores para el marcador MDA en los grupos control fueron $0,17 \pm 0,06$ (4), $0,76 \pm 0,20$ (10), $0,54 \pm 0,23$ (13) y $2,67 \pm 1,13$ (53). El valor medio obtenido en los análisis sobre eritrocitos del grupo control fue $6,82 \pm 0,78$ (53). En tres de los cuatro estudios que analizaron el MDA, el valor P asociado fue menor a $0,05$ en la comparación entre pacientes con RAS y grupo control ($<0,01$ (4), $0,000$ (13) y $<0,005$ (53)), por lo que los niveles de MDA eran significativamente mayores en los pacientes con RAS. En el artículo restante, las diferencias no resultaron significativas, así como en los análisis realizados sobre eritrocitos, siendo el valor $P>0,05$ (10, 53).

Para la medición de los valores de GSH se utilizó la misma unidad de medida del precedente marcador, $\mu\text{mol/L}$. Los valores medios para este marcador en grupos casos fueron $5,95 \pm 2,77$ (4) y $864,26 \pm 102,04$ (10). Sin embargo en los grupos controles, estos valores fueron $21,00 \pm 3,44$ (4) y $684,20 \pm 63,60$ (10). En ambos estudios, el análisis estadístico mostró diferencias singificativas (valor P, $<0,01$ (4) y $<0,05$ (10)). Sin embargo, se observa que en el caso de estudio realizado por Bagans y cols (4) los valores de GSH

eran mayores en el grupo control, mientras que en el caso del estudio llevado a cabo por Avci y cols (10), los valores del marcador eran mayores en los pacientes con RAS.

De la misma forma que MDA y GSH, la unidad de medida de GSSG fue también $\mu\text{mol/L}$. Se observó que el valor medio era mayor en los pacientes con RAS ($7,85 \pm 2,23$) que en los controles ($0,23 \pm 0,03$), el análisis estadístico, además, mostró que estas diferencias eran significativas (valor P, $<0,01$) (4).

En el estudio realizado por Ekinci y cols (5) se analizaron los valores de las proteínas PON1 y prolidasa, utilizando para sus mediciones respectivamente units/mol y mU/mL como unidades de medida. Los valores medios, obtenidos de las análisis en los grupos casos, fueron $326,47 \pm 254,19$ para el marcador PON1 y $219,79 \pm 43,58$ para el marcador prolidasa. En los grupos controles, resultaron valores medios iguales a $381,00 \pm 236,32$ para PON1 y $219,26 \pm 32,53$ para prolidasa. En ningún caso, las diferencias entre los grupos controles y casos resultaron significativas (5).

Las unidades de medidas utilizadas en los análisis de los marcadores MPO y NO fueron respectivamente U/mg protein (10) y $\mu\text{mol/L}$ (10, 52). Los valores obtenidos en el grupo de los pacientes con RAS fueron $18,74 \pm 3,66$ para MPO (10) y $16,41 \pm 2,32$ (10) y $60,08 \pm 23,75$ (52) para NO. En los grupos controles se obtuvieron los siguientes valores $17,51 \pm 3,88$ para MPO (10) y $19,84 \pm 4,96$ (10) y $46,45 \pm 13,01$ (52) para NO. Los análisis estadísticos determinaron que en el caso del estudio llevado a cabo por Avci y cols (10), las diferencias entre grupos controles y casos no eran significativas para los marcadores MPO y NO (valor $P > 0,05$). Sin embargo, en el estudio realizado por Zhang y cols (52) si que se observaron diferencias significativas entre grupos controles y casos para el marcador NO (valor $P < 0,03$), en cuanto los pacientes con RAS mostraban mayores niveles del marcador NO.

En dos de los artículos evaluados, se emplearon dos unidades diferentes para medir el marcador GPx, $\text{U g}^{-1} \text{Hb}$ (13) y IU/mL (53). Según los análisis realizados en los grupos casos, los valores medios de GPx fueron $20,4 \pm 2,68$ (13) y $14,24 \pm 3,49$ (53). En cambio, los grupos controles obtuvieron valores medios iguales a $25,9 \pm 2,55$ (13) y $18,04 \pm 7,25$ (53). En ambos artículos, se encontraron diferencias significativas entre los grupos controles y los grupos casos, con niveles mayores de GPx en el caso de los controles (valor P, $0,000$ (13) y $<0,05$ (53)).

En uno de esto dos artículos se evaluaron también los valores de Vit E, tomando como unidad de medida mg dl^{-1} (13). Los valores medios obtenidos fueron $0,74 \pm 0,88$ en los pacientes con RAS y $0,99 \pm 0,02$ en los controles. Se observó que los controles tenían

mayores niveles de Vit E y que esta diferencia era estadísticamente significativa (valor P 0,000) (13).

Finalmente, en otro estudio se evaluaron los marcadores SOD, CAT y AOP y sus unidades de medida fueron U/mL, IU/mL y nmol/ml/h, respectivamente (53). Este artículo realizó dos tipos de análisis distintos: uno en plasma y otro en eritrocitos aislados. Los valores obtenidos en los ensayos con plasma para los grupos casos fueron $4,88 \pm 1,37$ para SOD y $0,058 \pm 0,02$ para AOP. Los valores relativos a los grupos controles fueron $5,37 \pm 1,76$ para SOD y $0,085 \pm 0,04$ para AOP (53). Por otro lado, los valores obtenidos en los ensayos realizados con eritrocitos para los grupos casos fueron $7,64 \pm 1,58$ para SOD, $30\,428 \pm 6616$ para CAT y $0,0085 \pm 0,013$ para AOP. En cambio, los valores relativos a los grupos controles fueron $6,98 \pm 1,24$ para SOD, $34\,420 \pm 6562$ para CAT y $0,0135 \pm 0,002$ para AOP (53). Se observó que los niveles del marcador CAT eran mayores en los pacientes con RAS que en los controles, mientras que en el caso del marcador AOP, eran los controles quienes presentaron mayores niveles de poder antioxidante. En ambos casos, los análisis mostraron diferencias estadísticamente significativas, con rangos de valor P comprendidos entre $<0,005$ y $<0,05$. Para ambos ensayos, SOD fue el único marcador para el que no se obtuvieron diferencias significativas entre los dos grupos, siendo el valor P $>0,05$ (53).

Los resultados de los análisis de los marcadores oxidativos sobre muestras sanguíneas se presentan en la Tabla 6, Tabla 7 y Tabla 8.

Tabla 6. Resultados de los análisis sobre muestras sanguíneas asociados a los respectivos marcadores oxidativos.

Autores	Grupo	TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{l}$)	TAS ($\mu\text{mol Trolox/l}$)	OSI (UA)	Daño ADN (UA)	MDA ($\mu\text{mol/L}$)
Tugrul y cols (1) 2016	Valor P	0,001*	0,035*	0,003*	0,001*	-
Caso	42	10,69 \pm 1,43	2,19 \pm 0,38	4,88 \pm 1,43	27,47 \pm 9,57	-
Control	39	5,3 \pm 0,76	3,07 \pm 0,53	1,73 \pm 0,76	13,73 \pm 7,28	-
Bagan y cols (4) 2014	Valor P	-	-	-	-	<0,01*
Caso	28	-	-	-	-	1,49 \pm 0,46
Control	29	-	-	-	-	0,17 \pm 0,06
Ekinci y cols (5) 2020	Valor P	0,04 *	0,343	0,018*	-	-
Caso	34	5,19 \pm 8,26	1,14 \pm 0,19	0,48 \pm 0,81	-	-
Control	34	2,90 \pm 6,06	1,09 \pm 0,17	0,28 \pm 0,63	-	-
Avci y cols (10) 2014	Valor P	>0,05	>0,05	<0,05*	-	>0,05
Caso	25	3,97 \pm 1,34	2,05 \pm 0,38	0,019 \pm 0,03	-	1,20 \pm 0,78
Control	25	3,54 \pm 0,67	2,15 \pm 0,32	0,016 \pm 0,01	-	0,76 \pm 0,20
Arikan y cols (13) 2009	Valor P	-	-	-	-	0,000*
Caso	26	-	-	-	-	0,97 \pm 0,33
Control	20	-	-	-	-	0,54 \pm 0,23
Zhang y cols (52) 2019	Valor P	-	<0,03*	-	-	-
Caso	90	-	2,61 \pm 0,78	-	-	-
Control	90	-	3,08 \pm 0,49	-	-	-

Autores	Grupo	TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{l}$)	TAS ($\mu\text{mol Trolox/l}$)	OSI (UA)	Daño ADN (UA)	MDA ($\mu\text{mol/L}$)
Çimen y cols (53) 2003						
Plasma	Valor P	-	-	-	-	<0,005*
Caso	22	-	-	-	-	3,89 ± 1,34
Control	23	-	-	-	-	2,67 ± 1,13
Eritrocitos	Valor P	-	-	-	-	>0,05
Caso	22	-	-	-	-	6,90 ± 1,79
Control	23	-	-	-	-	6,82 ± 0,78

TOS: estado oxidante total; TAS: estado antioxidante total; OSI: índice de estrés oxidativo; MDA: malondialdehído.

Tabla 7. Resultados de los análisis sobre muestras sanguíneas asociados a los respectivos marcadores oxidativos.

Autores	Grupo	GSH ($\mu\text{mol/L}$)	GSSG (nmole/g)	PON1 (units/mol)	PROLIDAS A (mU/ mL)	MPO (U/mg protein)	NO ($\mu\text{mol/L}$)
Tugrul y cols (1) 2016	Valor P	-	-	-	-	-	-
Caso	42	-	-	-	-	-	-
Control	39	-	-	-	-	-	-
Bagan y cols (4) 2014	Valor P	<0,01*	<0,01*	-	-	-	-
Caso	28	5,95 \pm 2,77	7,85 \pm 2,23	-	-	-	-
Control	29	21,00 \pm 3,44	0,23 \pm 0,03	-	-	-	-
Ekinci y cols (5) 2020	Valor P	-	-	0,218	0,955	-	-
Caso	34	-	-	326,47 \pm 254,19	219,79 \pm 43,58	-	-
Control	34	-	-	381,00 \pm 236,32	219,26 \pm 32,53	-	-
Avci y cols (10) 2014	Valor P	<0,05*	-	-	-	>0,05	>0,05
Caso	25	864,26 \pm 102,04	-	-	-	18,74 \pm 3,66	16,41 \pm 2,32
Control	25	684,20 \pm 63,60	-	-	-	17,51 \pm 3,88	19,84 \pm 4,96
Arikan y cols (13) 2009	Valor P	-	-	-	-	-	-
Caso	26	-	-	-	-	-	-
Control	20	-	-	-	-	-	-

Autores	Grupo	GSH ($\mu\text{mol/L}$)	GSSG (nmole/g)	PON1 (units/ mol)	PROLIDASA (mU/mL)	MPO (U/mg protein)	NO ($\mu\text{mol/L}$)
Zhang y cols (52) 2019	Valor P	-	-	-	-	-	<0,03*
Caso	90	-	-	-	-	-	60,08 \pm 23,75
Control	90	-	-	-	-	-	46,45 \pm 13,01
Çimen y cols (53)							
Plasma	Valor P	-	-	-	-	-	-
Caso	22	-	-	-	-	-	-
Control	23	-	-	-	-	-	-
Eritrocitos	Valor P	-	-	-	-	-	-
Caso	22	-	-	-	-	-	-
Control	23	-	-	-	-	-	-

GSH: glutati3n; GSSG: glutati3n disulfuro; PON1: paraxonasa; MPO: mieloperoxidasa; NO: 3xido n3trico.

Tabla 8. Resultados de los análisis sobre muestras sanguíneas asociados a los respectivos marcadores oxidativos.

Autores	Grupo	GPx	Vit E (mg dl⁻¹)	SOD (U/mL)	CAT (IU/mL)	AOP (nmol/ml/h)
Tugrul y cols (1) 2016	Valor P	-	-	-	-	-
Caso	42	-	-	-	-	-
Control	39	-	-	-	-	-
Bagan y cols (4) 2014	Valor P	-	-	-	-	-
Caso	28	-	-	-	-	-
Control	29	-	-	-	-	-
Ekinci y cols (5) 2020	Valor P	-	-	-	-	-
Caso	34	-	-	-	-	-
Control	34	-	-	-	-	-
Avci y cols (10) 2014	Valor P	-	-	-	-	-
Caso	25	-	-	-	-	-
Control	25	-	-	-	-	-
Arikan y cols (13) 2009	Valor P	0,000*	0,000*	-	-	-
Caso	26	20,4 ± 2,68 (U g ⁻¹ Hb)	0,74 ± 0,88	-	-	-
Control	20	25,9 ± 2,55 (U g ⁻¹ Hb)	0,99 ± 0,02	-	-	-
Zhang y cols (52) 2019	Valor P	-	-	-	-	-
Caso	90	-	-	-	-	-
Control	90	-	-	-	-	-

Autores	Grupo	GPx	Vit E (mg dl⁻¹)	SOD (U/mL)	CAT (IU/mL)	AOP (nmol/ml/h)
Çimen y cols (53) 2003						
Plasma	Valor P	-	-	>0,05	-	<0,005*
Caso	22	-	-	4,88 ± 1,37	-	0,058 ± 0,02
Control	23	-	-	5,37 ± 1,76	-	0,085 ± 0,04
Eritrocitos	Valor P	<0,05*	-	>0,05	<0,05*	<0,05*
Caso	22	14,24 ± 3,49 (IU/mL)	-	7,64 ± 1,58	30 428 ± 6616	0,0085 ± 0,013
Control	23	18,04 ± 7,25 (IU/mL)	-	6,98 ± 1,24	34 420 ± 6562	0,0135 ± 0,002

GPx: glutatión peroxidasa; Vit E: vitamina E; SOD: superóxido dismutasa; CAT: catalasa; AOP: poder antioxidante.

5.4.3 ANÁLISIS REALIZADOS EN MUESTRAS SALIVARES

En relación a los estudios observacionales sobre muestras salivares, se observaron niveles elevados de estrés oxidativo en los pacientes con RAS, a excepción de un solo estudio en el que no se obtuvieron resultados estadísticamente relevantes (3).

Las unidades de medidas utilizadas para analizar los valores de TOS, TAS, OSI, MDA y SOD fueron las mismas que se utilizaron en los estudios realizados a partir de muestras sanguíneas.

Un solo estudio de los seleccionados analizó los niveles del marcador oxidativo TOS. Los valores medios obtenidos en el grupo casos fueron de $4,11 \pm 0,86$, mientras que en el grupo control fueron $4,31 \pm 0,78$ (3).

Tres artículos evaluaron los niveles del marcador antioxidante TAS, cuyos valores medios en los pacientes con RAS fueron $41,47 \pm 16,24$ (3), $0,18 \pm 0,12$ (56) y $0,26 \pm 0,16$ (58). Por otro lado, los valores medios relativos a los grupos control fueron $43,62 \pm 8,23$ (3), $0,26 \pm 0,14$ (56) y $0,24 \pm 0,13$ (58).

Se evaluaron también los niveles de los marcadores OSI y MPO, cuya unidad de medida fue $U\ g^{-1}\ Hb$. Los valores medios obtenidos en los grupos casos fueron $0,11 \pm 3,23$ para OSI y $19,22 \pm 18,97$ para MPO (3). Por otro lado, los valores medios reportados por los grupos controles fueron de $0,10 \pm 1,55$ para OSI y $21,36 \pm 14,73$ para MPO (3).

En el estudio realizado por Çaglayan y cols (3), los análisis estadísticos realizados no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre grupos casos y controles para ninguno de los marcadores estudiados, TOS, TAS, OSI y MPO, obteniendo para todos ellos un valor $P > 0,05$ (3). Sin embargo, sí que se observaron diferencias estadísticamente significativas para el marcador TAS en dos de los estudios revisados (56, 58). En estos estudios se observó que los sujetos controles presentaban mayores niveles del marcador antioxidante TAS respecto a los pacientes con RAS, con valores P de $0,034$ (58) y $P < 0,042$ (56).

En dos estudios, se analizó el marcador oxidativo MDA, cuyos resultados resultaron estadísticamente significativos; los grupos casos obtuvieron valores de $1,45 \pm 0,55$ (41) y $1,16 \pm 0,86$ (56) y los grupos controles obtuvieron valores de $0,95 \pm 0,28$ (41) y $0,47 \pm 0,53$ (56). Se observó que los niveles de MDA estaban aumentados en los pacientes con RAS respecto a los sujetos control, con valores P significativos ($0,000$ (41) y $< 0,001$ (56)).

Por último, otro artículo evaluó tres marcadores oxidativos: GPx y AU, cuyas unidades de medida fueron IU/mL y mg/dl, respectivamente, y SOD. Los valores obtenidos en el grupo casos fueron $1,60 \pm 0,39$ para GPx, $3,99 \pm 1,59$ para AU y $1,27 \pm 0,48$ para SOD (41). En cambio, en el grupo control los valores fueron $2,19 \pm 0,62$ para GPx, $5,79 \pm 1,61$ para AU y $0,72 \pm 0,41$ para SOD (41). En este caso, los niveles de los marcadores GPx y AU estaban disminuidos en los pacientes con RAS, mientras que los niveles de SOD eran mayores en el caso de los pacientes con RAS. Para los tres marcadores, las diferencias resultaron estadísticamente significativas con un valor P de 0,000 (41).

Los resultados de los análisis de los marcadores oxidativos sobre muestras salivares se presentan en la Tabla 9 y Tabla 10.

Tabla 9. Resultados de los análisis sobre muestras salivares asociados a los respectivos marcadores oxidativos.

Autores	Grupo	TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{l}$)	TAS ($\mu\text{mol Trolox/l}$)	OSI (UA)	MPO ($\text{U g}^{-1}\text{Hb}$)
Çaglayan y cols (3) 2008	Valor P	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
Caso	50	4,11 ± 0,86	41,47 ± 16,24	0,11 ± 3,23	19,22 ± 18,97
Control	25	4,31 ± 0,78	43,62 ± 8,23	0,10 ± 1,55	21,36 ± 14,73
ZiauDeen y cols (41) 2017	Valor P	-	-	-	-
Caso	30	-	-	-	-
Control	30	-	-	-	-
Babae y cols (56) 2016	Valor P	-	<0,042*	-	-
Caso	28	-	0,18 ± 0,12	-	-
Control	28	-	0,26 ± 0,14	-	-
Rezaei y cols (58) 2018	Valor P	-	0,034*	-	-
Caso	27	-	0,26 ± 0,16	-	-
Fase de curación	27	-	0,43 ± 0,41	-	-
Control	28	-	0,24 ± 0,13	-	-

TOS: estado oxidante total; TAS: estado antioxidante total; OSI: índice de estrés oxidativo; MPO: mieloperoxidasa.

Tabla 10. Resultados de los análisis sobre muestras salivares asociados a los respectivos marcadores oxidativos.

Autores	Grupo	MDA (μmol/L)	SOD (U/mL)	GPx (IU/mL)	AU (mg/dl)
Çaglayan y cols (3) 2008	Valor P	-	-	-	-
Caso	50	-	-	-	-
Control	25	-	-	-	-
ZiauDeen y cols (41) 2017	Valor P	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
Caso	30	1,45 \pm 0,55	1,27 \pm 0,48	1,60 \pm 0,39	3,99 \pm 1,59
Control	30	0,95 \pm 0,28	0,72 \pm 0,41	2,19 \pm 0,62	5,79 \pm 1,61
Babae y cols (56) 2016	Valor P	<0,001*	-	-	-
Caso	28	1,16 \pm 0,86	-	-	-
Control	28	0,47 \pm 0,53	-	-	-
Rezaei y cols (58) 2018	Valor P	-	-	-	-
Caso	27	-	-	-	-
Fase de curación	27	-	-	-	-
Control	28	-	-	-	-

MDA: malondialdehído; SOD: superóxido dismutasa; GPx: glutatión peroxidasa; AU: ácido úrico.

5.4.4 ANÁLISIS REALIZADOS EN MUESTRAS SANGUÍNEAS Y SALIVARES

Finalmente, en la presente revisión sistemática, se eligieron 3 estudios en los que se evaluaron los marcadores de estrés oxidativo sobre muestras de sangre y de saliva simultáneamente. Todos los valores P de los marcadores analizados, excepto uno, resultaron estadísticamente significativos, tanto en saliva como en sangre, por lo que se consideró que habían unos mayores niveles de estrés oxidativo en los pacientes RAS respecto a los sujetos sanos.

Para la medición de los valores correspondientes a los marcadores SOD, GPx y CAT se utilizó la misma unidad de medida, U/mg de proteína. Los valores obtenidos en los ensayos realizados en muestras de sangre para el marcador SOD en pacientes con RAS fueron $1347,33 \pm 22,16$ (54) y $1325,27 \pm 15,74$ (55). Por otro lado, en los grupos control se obtuvieron valores de $1567,31 \pm 37,51$ (54) y $1597,24 \pm 11,51$ (55). Los ensayos en muestras salivares del mismo marcador en los grupos casos, mostraron valores iguales a $0,86 \pm 0,04$ (54) y $1,40 \pm 0,09$ (55); mientras que en los grupos control estos valores fueron $0,56 \pm 0,11$ (54) y $0,73 \pm 0,05$ (55).

Los análisis en muestras sanguíneas del marcador GPx realizados en los grupos casos, obtuvieron valores de $24,62 \pm 1,27$ (54) y $20,31 \pm 0,61$ (55). En cambio, en los grupos control se obtuvieron valores de $19,01 \pm 0,67$ (54) y $17,33 \pm 0,74$ (55). Los análisis en muestras salivares del mismo marcador en los grupos casos, obtuvieron valores iguales a $1,70 \pm 0,14$ (54) y $1,55 \pm 0,03$ (55); mientras que en los grupos control estos valores fueron $2,88 \pm 0,18$ (54) y $2,36 \pm 0,04$ (55). Para este marcador, también existen discrepancias entre las muestras sanguíneas y salivares. Como se puede observar, los niveles de GPx están aumentados en los pacientes con RAS en muestras sanguíneas, sin embargo, estos niveles están disminuidos en muestras de saliva de estos mismos pacientes.

En los análisis de muestras sanguíneas, en el caso del marcador CAT, se obtuvieron valores de $208,81 \pm 6,91$ (54) y $201,11 \pm 1,86$ (55) para los grupos casos. En cambio, en los grupos controles se obtuvieron valores de $227,11 \pm 4,62$ (54) y $224,01 \pm 1,27$ (55). En muestras de saliva, por otro lado, los valores en los grupos caso fueron $0,90 \pm 0,04$ (54) y $0,96 \pm 0,05$ (55); mientras que en los grupos control fueron $0,78 \pm 0,03$ (54) y $0,76 \pm 0,03$ (55). En este caso, se observó una situación similar a la del marcador SOD, en la que las muestras sanguíneas presentaban niveles superiores del marcador en sujetos sanos respecto a los pacientes con RAS, mientras que las muestras salivares de los pacientes con RAS presentaban niveles aumentados del marcador.

Para la evaluación de los valores relativos a AU, se utilizó la unidad de medida mg/dl. Un solo estudio analizó los niveles de este marcador. En las muestras sanguíneas se obtuvo un valor medio de $3,66 \pm 0,59$ para el grupo caso, y un valor medio de $6,35 \pm 0,86$ para el grupo control (55). En este caso, los pacientes con RAS mostraron valores menores del marcador AU. Por otro lado, los análisis llevados a cabo en muestras salivares de AU en los grupos casos, revelaron valores iguales a $6,31 \pm 3,29$ (54) y $6,58 \pm 0,72$ (55); mientras que en los grupos controles estos valores fueron de $5,26 \pm 2,87462$ (54) y $6,28 \pm 0,57$ (55). Aquí, sin embargo, se puede observar como son los pacientes con RAS los que tienen mayores niveles del marcador AU.

Los dos estudios revisados en los que se analizan los niveles de SOD, GPx y CAT, mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos controles y los pacientes con RAS. Con valores $P < 0,001$ (54, 55) en el caso de SOD y GPx; y con valores P de $< 0,001$ (55) y $< 0,05$ (54) para el marcador CAT.

Sin embargo, en el caso del marcador AU, no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en todos los estudios revisados. En uno de estos, los análisis estadísticos mostraron diferencias significativas entre los dos grupos tanto en muestras salivares y muestras sanguíneas (valor $P < 0,05$ en saliva y $< 0,001$ en sangre) (55). Por otro lado, en el otro estudio revisado no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en muestras de salivas (valor $P 0,05$) (54).

Por último, en otro estudio, se evaluaron cinco marcadores oxidativos: MDA, cuya unidad de medida fue nmol/mL; Vit A, Vit C y Vit E, cuyas mediciones se realizaron con la misma unidad de medida $\mu\text{g/ml}$; y Vit B, cuya unidad de medida fue pg/ml . En los análisis realizados en muestras sanguíneas realizados en el grupo casos, se obtuvieron valores medios de $3,31 \pm 0,70$ para MDA, $0,60 \pm 0,13$ para Vit A, $7,68 \pm 1,43$ para Vit C, $6,92 \pm 1,30$ para Vit E y $229,2 \pm 22,2$ para VitB12 (57). En cambio, los mismos análisis realizados en el grupo control presentaron valores medios de $1,68 \pm 0,44$ para MDA, $0,72 \pm 0,14$ para Vit A, $8,95 \pm 1,66$ para Vit C, $8,27 \pm 1,60$ para Vit E y $339,8 \pm 31,4$ para Vit B12 (57). Se realizaron también análisis en muestras salivares de todos estos marcadores, excepto el marcador VitB12. En el grupo casos, se obtuvieron valores iguales a $0,48 \pm 0,16$ para MDA, $16,80 \pm 5,08$ para Vit A, $0,83 \pm 0,26$ para Vit C y $0,26 \pm 0,10$ para Vit E. Respecto a los grupos control, estos valores fueron de $0,28 \pm 0,12$ para MDA, $28,5 \pm 0,21$ para Vit A, $1,04 \pm 0,11$ para Vit C y $0,40 \pm 0,11$ para Vit E (57). En los análisis de ambos tipos de muestras se observó como los niveles de MDA eran mayores en los pacientes con RAS, mientras que los niveles de vitaminas eran todos menores en el caso de estos pacientes.

Todos los marcadores analizados, y en ambos tipos de muestras, obtuvieron valores P estadísticamente significativos en la comparación entre grupos con RAS y grupos sin RAS. Este valor, en el caso de los marcadores MDA, Vit A y Vit E fue de $<0,005$; mientras que el valor P asociado a Vit C fue de $<0,05$ (57). Por otro lado, en los análisis realizados únicamente en muestras de sangre del marcador Vit B12 se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre grupos control y pacientes con RAS (valor P $<0,003$) (57).

Los resultados de los análisis de los marcadores oxidativos sobre muestras sanguíneas y salivares se presentan en la Tabla 11 y Tabla 12.

Tabla 11. Resultados de los análisis sobre muestras sanguíneas y salivares asociados a los respectivos marcadores oxidativos.

Autores	Grupo	SOD (U/mg protein)	CAT (U/mg protein)	GPx (U/mg protein)	AU (mg /dl)
Karıncaoglu y cols (54) 2005					
Sangre	Valor P	<0,001*	<0,05*	<0,001*	-
Caso	32	1347,33 ± 22,16	208,81 ± 6,91	24,62 ± 1,27	-
Control	30	1567,31 ± 37,51	227,11 ± 4,62	19,01 ± 0,67	-
Saliva	Valor P	<0,001*	<0,05*	<0,001*	>0,05
Caso	27	0,86 ± 0,04	0,90 ± 0,04	1,70 ± 0,14	6,31 ± 3,29
Control	23	0,56 ± 0,11	0,78 ± 0,03	2,88 ± 0,18	5,26 ± 2,87462
Saxena (55) 2011					
Sangre	Valor P	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*
Caso	40	1325,27 ± 15,74	201,11 ± 1,86	20,31 ± 0,61	3,66 ± 0,59
Control	40	1597,24 ± 11,51	224,01 ± 1,27	17,33 ± 0,74	6,35 ± 0,86
Saliva	Valor P	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,05*
Caso	40	1,40 ± 0,09	0,96 ± 0,05	1,55 ± 0,03	6,58 ± 0,72
Control	40	0,73 ± 0,05	0,76 ± 0,03	2,36 ± 0,04	6,28 ± 0,57
Saral y cols (57) 2005					
Sangre	Valor P	-	-	-	-
Caso	30	-	-	-	-
Control	20	-	-	-	-
Saliva	Valor P	-	-	-	-
Caso	30	-	-	-	-
Control	20	-	-	-	-

SOD: superóxido dismutasa; CAT: catalasa; GPx: glutatión peroxidasa; AU: ácido úrico.

Tabla 12. Resultados de los análisis sobre muestras sanguíneas y salivares asociados a los respectivos marcadores oxidativos.

Autores	Grupo	MDA (nmol/mL)	Vit A (µg/ml)	Vit C (µg/ml)	Vit E (µg/ml)	Vit B12 (pg/ml)	
Karıncaoglu y cols (54) 2005	Sangre	Valor P	-	-	-	-	
	Caso	32	-	-	-	-	
	Control	30	-	-	-	-	
	Saliva	Valor P	-	-	-	-	
	Caso	27	-	-	-	-	
	Control	23	-	-	-	-	
Saxena (55) 2011	Sangre	Valor P	-	-	-	-	
	Caso	40	-	-	-	-	
	Control	40	-	-	-	-	
	Saliva	Valor P	-	-	-	-	
	Caso	40	-	-	-	-	
	Control	40	-	-	-	-	
Saral y cols (57) 2005	Sangre	Valor P	<0,005*	<0,005*	<0,05*	<0,005*	
	Caso	30	3,31 ± 0,70	0,60 ± 0,13	7,68 ± 1,43	6,92 ± 1,30	229,2 ± 22,2
	Control	20	1,68 ± 0,44	0,72 ± 0,14	8,95 ± 1,66	8,27 ± 1,60	339,8 ± 31,4
	Saliva	Valor P	<0,005*	<0,005*	<0,05*	<0,005*	-
	Caso	30	0,48 ± 0,16	16,80 ± 5,08	0,83 ± 0,26	0,26 ± 0,10	-
	Control	20	0,28 ± 0,12	28,5 ± 0,21	1,04 ± 0,11	0,40 ± 0,11	-

MDA: malondialdehído; Vit A: vitamina A; Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; VitB12: vitamina B12.

6. DISCUSIÓN

En la presente revisión sistemática, se proporciona la información relevante de las mejores evidencias científicas de los últimos veinte años sobre la posible presencia de estrés oxidativo en pacientes con RAS. Para poder realizar este trabajo, se seleccionaron los estudios centrados en analizar la presencia/ausencia de biomarcadores oxidantes y antioxidantes en los grupos casos y en los grupos controles. Los artículos se centraron en evaluar principalmente marcadores tales como: SOD, GPx, UA, NO, MPO, MDA, GSH, GSSG; como marcadores de índices totales tomaron en cuenta TOS, TAS, OSI y la ratio GSH/GSSG. La totalidad de los estudios incluidos controlan diferentes factores relacionados que pudieran influir en los niveles de estrés oxidativo como presencia de enfermedades sistémicas, tabaquismo, embarazo o lactancia, alcohol, toma de suplementos vitamínicos, historia reciente de tratamiento terapéutico para el RAS o uso de fármacos sistémicos, y emparejaron los grupos de casos y controles en relación con el sexo y la edad, todos los sujetos eran mayores de 20 años y menores de 60 años. El objetivo general de este trabajo, ha sido evaluar la presencia de estrés oxidativo mediante el incremento o la disminución de sus diferentes marcadores. De forma secundaria, este trabajo permite interpretar el papel del estrés oxidativo como otro factor etiopatogénico del RAS. Varios factores de riesgo de esta enfermedad (hábitos personales, estilo de vida, alergias, influencias hormonales, estrés emocional, déficit vitamínico) parecen influir de forma directa o indirecta en el equilibrio del sistema oxidante/antioxidante, causando un mayor incremento o descenso de sus marcadores (57). La mayoría de los estudios evalúan el estrés oxidativo como un potencial factor etiopatogénico para el desarrollo de las úlceras orales, en ausencia de otras enfermedades sistémicas subyacentes. A pesar de que hasta ahora se desconoce la etiología exacta de estas lesiones, se ha visto que todos los pacientes afectados tienen una historia familiar positiva, lo que implica una importante predisposición genética (70).

Hasta ahora, se desconoce el mecanismo de acción de los radicales libres en esta enfermedad, ya que las alteraciones en los marcadores de estrés oxidativo son solo detectables cuando el cuadro clínico es avanzado. Asimismo, muchos estudios reportan una asociación directa entre estrés oxidativo y un estado inflamatorio del organismo (4, 25, 53). Algunos resultados revelan que los valores disminuidos de AOP no solo corresponden a un descenso de la actividad enzimática antioxidante, sino que demuestran una alteración del sistema de defensa total (53). Efectivamente, a pesar de que los signos clínicos del RAS se manifiestan a nivel oral, es ampliamente reconocido

que esta enfermedad tiene repercusiones tanto a nivel local, como sistémico. Por supuesto, la alteración de los parámetros sanguíneos en pacientes afectados, ha sido señalado como uno de los factores mas relevantes en la aparición del RAS (57). Además, los valores disminuidos de AOP están estrechamente relacionados con el incremento de MDA, el cual muestra un aumento de las reacciones de peroxidación que tienen libre desarrollo a causa del sistema inmune ya fuertemente debilitado (4, 10, 13, 41, 53, 56, 57). Estas reacciones se consideran un importante indicio del estrés oxidativo derivado de la inflamación. El incremento del marcador MDA está relacionado también con el descenso de la ratio GSH/GSSG y con el aumento de los niveles de GSH, que a su vez justifica el incremento de TOS en pacientes con RAS (4, 10).

Varios estudios aportan niveles aumentados de TOS y OSI en muestras sanguíneas, lo que sugiere un incremento del estado oxidativo total del organismo (1, 5, 10). Contrariamente, en otro estudio, los mismos marcadores en análisis salivares aparecen inalterados (3). Efectivamente, las concentraciones de TOS y MDA siempre suelen ser inferiores en análisis sobre saliva, y asimismo estos dos marcadores parecen tener una estrecha relación, lo que hace que al variar los valores de MDA, también varían los niveles de TOS (71). Este fenómeno tiene su explicación en cuanto MDA es uno de los más importantes productos de la peroxidación lipídica, y de hecho las mediciones de estrés oxidativo se basan en la estimación de los productos del daño lipídico, proteico y sobre ADN (71). El estudio realizado por Tuguri y cols, fue el único que evaluó la posible presencia de daño genético causado por los radicales libres (1). Los valores relativo al daño del ADN resultan significativamente aumentados en pacientes con RAS, lo que confirma que hay una seria correlación entre estrés oxidativo y daño genético. Varias publicaciones sostienen esta teoría, afirmando que la razón primaria y subyacente de numerosas patologías tiene su origen en el daño provocado al ADN (72, 73). El daño del ADN está estrechamente relacionado con la detección de valores aumentados de TOS y OSI, Efectivamente, los resultados sugieren que los pacientes con RAS presentan un desequilibrio sistémico en la relación oxidante-antioxidante que favorece el daño oxidativo (1).

Otro marcador a destacar es el TAS, que obtuvo resultados contradictorios. En cuatro estudios, dos sobre sangre y dos sobre saliva, se observaron valores disminuidos de TAS, lo que supone una alteración de estrés oxidativo (1, 52, 56, 58). Particularmente, en el estudio de Rezaei y cols, los pacientes con RAS presentan un aumento significativo en los niveles de TAS solo en la fase de curación de la úlcera oral (58). Se supone que para contrastar la evolución del RAS, el organismo envíe una mayor cantidad de defensas

antioxidantes directamente a la parte afectada (54). En este sentido, el incremento en las concentraciones de TAS podrían ser considerados como un mecanismo de defensa frente a los procesos inflamatorios del RAS. Además, se ha visto que, durante el periodo activo de la lesión ulcerativa, los pacientes suelen consumir más comidas líquidas a causa del dolor (74). Estas comidas suelen contener más vitaminas y antioxidantes naturales que podrían favorecer el aumento de TAS a nivel salival. En cambio, en otros tres estudios, dos sobre sangre y uno sobre saliva, los valores relativo a TAS se mostraron ligeramente disminuidos o inalterados y por esto no se consideraron significativos (3, 5, 10). Estos mismos resultados se confirman indirectamente en otro estudio, donde se busca explicación a los niveles inalterados de AU salivar (54). Efectivamente, el AU es la mayor molécula antioxidante que compone la saliva y también forma el 70-80% de TAS (75). Como consecuencia, al ser los niveles de AU estables, el valor de TAS también se encuentra invariado (54). Además, especialmente en uno de estos estudios, la disminución de los niveles de GSH podría sugerir una tendencia a la disminución de TAS (10). Por otro lado, una razón válida que puede explicar las discrepancias entre los distintos resultados, es que la medición directa de agentes antioxidantes es muy difícil debido a su corta vida media, lo que obliga a analizar estos niveles mediante métodos indirectos que supone la determinación de productos terminales de la acción oxidante sobre biomoléculas, como por ejemplo a través la medición de MDA (76). El TAS también podría estar afectado de manera diferente según el sexo de los pacientes, ya que el TAS salival es menor en las mujeres (77).

Tanto en saliva como en sangre, el marcador oxidativo MPO no parece mostrar niveles significativamente aumentados o disminuidos para justificar la presencia de estrés oxidativo en sujetos enfermos (3, 10). El MPO constituye del 2-5 % de las proteínas de los neutrófilos y el incremento en la actividad de este marcador se considera fuertemente relacionado con un incremento proporcional de riesgo de estrés oxidativo (78). Efectivamente, estas variaciones son las que caracterizan, entre otras, las enfermedades inflamatorias e infecciosas, al ser el incremento de MPO proporcional también al número de neutrófilos infiltrados en los tejidos (79 - 81). Sin embargo, al no tener niveles suficientemente alterados de MPO, no podemos considerar este marcador como involucrado en el proceso fisiopatológico del RAS.

Por otro lado, el NO revela resultados contradictorios sobre muestras de sangre: en un artículo, este no manifiesta valores significativamente alterados (10); contrariamente, en otro artículo, se observan niveles significativamente aumentados de este marcador oxidativo en pacientes con RAS (52). De todas formas, NO parece tener un rol relevante

en la formación de RAS: puede crear peroxinitritos tóxicos, y así dañar directamente los endotelios; puede inhibir la agregación y adhesión plaquetaria e influir en la capacidad de las células inmunitarias para ejercer su acción; tiene efectos perjudiciales contra diferentes células y, más concretamente, contra el ADN, lo que a la larga provoca la muerte celular, lesiones tisulares y fallos orgánicos (25, 82, 83).

En la presente revisión, se incluye el primer estudio en la literatura que investigó sobre los marcadores prolidasa y PON1 (5). Se asume que el déficit de la enzima prolidasa es responsable de la aparición de múltiples patologías, por lo que ha sido estudiada antes en otros trastornos, pero nunca antes en relación al RAS (84, 85). Además, se descubrió la importancia de esta enzima en las fases de cicatrización de la heridas, ya que la prolidasa está involucrada en procesos inflamatorios que regulan la degradación y renovación de la matriz (84). No obstante su relevancia a nivel biológico, en este estudio no se observan datos relevantes en la comparación entre grupo caso y grupo control (5). Siendo que los niveles de TOS y OSI están significativamente alterados, se piensa que la prolidasa y el PON1 muestran niveles normales debido al proceso de curación acelerado en el RAS (5).

Los marcadores antioxidantes GPx, SOD y CAT constituyen la línea de defensa primaria del organismo frente a la formación de radicales libres. El GPx protege a las células del daño oxidativo producido por el (O_2^-), liberando de esta manera H_2O_2 , mientras que SOD y CAT protegen a las células del peróxido de hidrógeno formado por GPx (25, 35). En todos los estudios evaluados, los niveles tanto de GPx (13, 41, 53 - 55) como de CAT (53 - 55) resultan significativamente disminuidos. Por tanto, al ser estos valores significativamente alterados, se asume una mayor actividad enzimática causada por un aumento de radicales libres, o bien la inhibición de estas enzimas provocada por sustancias inhibitoras contenidas en la sangre de pacientes con RAS (13, 41, 53 - 55). Los valores de SOD resultan similares entre pacientes enfermos y pacientes sanos (41, 53 - 55) aunque, en el caso de las muestras sanguíneas, los niveles de SOD son mayores en los sujetos sanos que en los pacientes con RAS (53 - 55); sin embargo, en las muestras salivares, los niveles de este marcador están aumentados en los pacientes con RAS (41). Este fenómeno, muy similar a lo encontrado para el marcador TAS, se podría explicar por el hecho de que, al ser que el RAS origina procesos inflamatorios, en este momento los mecanismos de defensa de la saliva hacen que todo el organismo envíe los antioxidantes almacenados a la zona requerida mediante la saliva (54).

Todos los estudios que analizan los niveles de vitaminas en sangre y en saliva, aportan resultados similares que concuerdan sobre la disminución significativa de los

valores de antioxidantes no enzimáticos como Vit E, Vit A, Vit C, Vit B12 en pacientes con RAS (13, 57). Este fenómeno provoca un incremento del marcador MDA y, por lo tanto, un aumento también en los niveles de estrés oxidativo (13, 57). Esta es una indicación del aparente déficit nutricional como factor etiológico del RAS, aunque algunas de estas deficiencias nutricionales pueden deberse a otras enfermedades como el síndrome de mala absorción o a la enfermedad celiaca (86). Es importante destacar que concentraciones alteradas de estos factores, pueden modificar la susceptibilidad individual a determinadas enfermedades como el RAS e incluso modificar la evolución o el curso clínico de la enfermedad, actuando como factores precipitantes o protectores. El déficit nutricional de microelementos como vitaminas y minerales, más que un factor causal en sí del RAS, debería ser considerado como un factor favorecedor en el desarrollo del RAS por el importante papel que tienen estos microelementos en el metabolismo normal del organismo en general y en particular de la cavidad bucal y en protección de la mucosa (87).

Finalmente, dos de los tres estudios que analizaron AU presentaron resultados análogos. El AU forma parte del proceso metabólico final de las purinas y es responsable de la inhibición de la peroxidación lipídica, mediante la cual elimina las ERO (88). Este importante marcador antioxidante resultó significativamente disminuido, tanto en sangre como en saliva en pacientes con RAS (41, 55). Se asume que la infiltración de células inmunitarias a la zona de la lesión ulcerativa provoca un considerable incremento del estrés oxidativo y de consecuencia disminuyeron los valores asociados a los factores antioxidantes, como el AU. En cambio, otro estudio reportó niveles ligeramente aumentados de este marcador en muestras salivares de pacientes con RAS (54). Exactamente como se ha visto para TAS y SOD, se supone que este incremento se debe a las moléculas antioxidantes del plasma, que se concentraron en el sitio afectado para poder ejercer mejor sus funciones de defensa (54).

Indudablemente, los datos obtenidos de los 14 estudios seleccionados reflejan que existe relación entre el estrés oxidativo y RAS, lo que influye en la etiopatogénia de esta. En la mayoría de los pacientes enfermos, en comparación con los pacientes sanos, se encontró una presencia elevada de moléculas oxidantes, por lo que el sistema antioxidante se ha visto afectado. Sin embargo, tal como se ha mencionado en este mismo trabajo existen resultados contradictorios entre varios de los estudios revisados, especialmente entre muestras de sangre y saliva. Estas contradicciones podrían deberse a varias razones. Una de ellas es que la RAS es una enfermedad compleja con múltiples

factores subyacentes, por lo que los mecanismos específicos de estrés oxidativo pueden variar entre los pacientes. Además, los niveles de antioxidantes y moléculas oxidantes pueden verse afectados por diversos factores, como la dieta, el estilo de vida, el sexo, la edad, la genética, entre otros, lo que puede dificultar la interpretación de los resultados. Al día de hoy, no se ha demostrado si un estado oxidativo alterado se puede realmente aceptar como causa principal y primaria de la aparición de RAS. Sino que se plantean dos posibles escenarios: el primero, según el cual el RAS desencadenaría las reacciones oxidativas; el segundo, según el cual los radicales libres serían los responsables de la origen y desarrollo del RAS, siempre y cuando haya un desequilibrio entre oxidantes y antioxidantes.

Este hallazgo podría ser considerado un punto de partida para las futuras investigaciones que permitan aclarar las causas y la etiopatogénesis de esta enfermedad. En este sentido, con esta revisión se añaden nuevas evidencias científicas que podrían cambiar la modalidad de diagnóstico del RAS y, como consecuencia directa, se identificarían mejores opciones de prevención y tratamiento con respecto a las terapias disponibles en la actualidad.

6.1 POSIBLES MEDIDAS DE PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO

Como se ha visto a lo largo del presente trabajo, el RAS tiene una etiopatogénia incierta pero seguramente multifactorial, por lo que carece de un verdadero tratamiento curativo y se apoya en terapias paliativas, cuyos objetivos principales son acelerar la curación de la lesión, disminuir la frecuencia de sus recidivas y aliviar el dolor. Actualmente, el tratamiento tradicional de estas lesiones es de tipo sintomático, mediante el suministro de tratamientos tópicos o sistémicos, dependiendo prevalentemente de la cantidad y tamaño de las úlceras y de las frecuencias de recidiva de los brotes (88).

El tratamiento tópico se basa especialmente en la aplicación de corticoides, entre los cuales se destacan el acetato de prednisolona, proprionato de clobetasol y acetónido de triamcinolona (7). Para lograr un mejor control del dolor de forma transitoria en las lesiones más extensas, se suministran también anestésicos tópicos, como lidocaína, mepivacaína, benzocaína, y antisépticos tópicos tales como el gluconato de clorhexidina para todas aquellas lesiones extensas que dificultan la correcta higiene bucal, con el fin de evitar la sobreinfección bacteriana (7).

El uso de estos medicamentos tópicos suele ser efectivo a la hora de tratar el RAS, pero en situaciones más graves podría ser necesario el suministro de inmunosupresores sistémicos, tales como azatioprina y metotrexato, durante breves periodos de tiempo. Sin embargo, los tratamientos sistémicos se apoyan también en el uso de inmunomoduladores, como la talidomida. Este fármaco desempeña un papel importante, en cuanto inhibe y disminuye la producción de TNF- α , que parece ser implicado en la patogénesis del RAS, intentando bloquear así los procesos inflamatorios que este conlleva (70, 7).

De todas formas, en los últimos años, se han valorado otras soluciones preventivas y terapéuticas que pudiesen contrarrestar, en primer lugar, los radicales libres y su mecanismo de acción implicado en el desarrollo del RAS.

Los últimos avances sugieren el uso de una terapia y de una dieta rica en antioxidantes para prevenir y disminuir el deterioro celular provocado por las ERO (33, 89, 90). Los elementos más relevantes empleados en dichas terapias suelen ser el selenio, ácido ascórbico, betacaroteno, vitamina C y la enzima SOD.

El selenio es un micronutriente esencial, contenido en muchos de los alimentos habituales, como lentejas y derivados lácteos, fundamental para la actividad de la GPx y para la fisiología humana. Además, se descubrió la eficacia de este elemento antioxidante

frente a la reducción de las ERO, mediante la producción de selenoproteínas (91, 92). Según algunos estudios, el suplemento de selenio en asociación con el ácido ascórbico puede reforzar las defensas antioxidantes sanguíneas y proporcionar una mayor eficacia terapéutica efectiva para pacientes con RAS (91, 93, 94). Efectivamente, en el estudio de Arikan y cols, se encuentran niveles disminuidos de selenio en sangre, lo que deja pensar que una eventual suplementación con factores antioxidantes, pueda reforzar la defensa antioxidante sanguínea y proporcionar una mayor eficacia terapéutica beneficiosa para el RAS (13).

La vitamina C y el betacaroteno, el cual se transforma en dos moléculas de vitamina A, reducen el daño oxidativo celular y por esto se le atribuyen capacidades anticarcinogénicas (33, 90). Esta propiedad protectora destaca la importancia de estos dos antioxidantes, siendo a menudo capaces de recuperar el daño oxidativo en el ADN antes de que este se convierta en peligroso e irreparable, permitiendo la recuperación en individuos con RAS (1).

Otros estudios reportan una gran capacidad protectora asociada a la enzima SOD después de la administración, por lo que fue utilizada en varios estudios terapéuticos con resultados prometedores (95). El suplemento de esta enzima parece aliviar no solo enfermedades inflamatorias como el RAS, sino también enfermedades infecciosas, respiratorias, metabólicas y cardiovasculares, así como trastornos genitourinarios y de la fertilidad, lo que plantea un papel fundamental en cuanto a su mecanismo de acción en estas diversas situaciones (95). La inducción de una defensa antioxidante endógena como la SOD, podría representar un nuevo tratamiento potencial para disminuir los niveles de estrés oxidativo y, consecuentemente, de inflamación producidos en la enfermedad RAS (17).

Teniendo en cuenta esta información, sería recomendable un suplemento diario modesto y a corto plazo formado por una mezcla de antioxidantes, para poder mejorar la capacidad antioxidante total del organismo y reducir los productos de la peroxidación lipídica en el RAS. Este refuerzo no solo obtendría un efecto beneficioso sobre el daño celular, sino que podría prevenir también la frecuencia en las recidivas del RAS (13).

Actualmente, en algunos estudios se utilizan como medicina alternativa tratamientos entre los cuales se encuentran la acupuntura, digitopuntura, auriculopuntura, láserterapia y ozonoterapia (96 - 98). No obstante los últimos avances clínicos sobre este

tema, aún se necesita más investigación para entender que individuos podrían beneficiar de estas terapias y su real efectividad.

A pesar de la evidencia científica presente hasta el momento sobre los beneficios de los antioxidantes, sus funciones son muchos más complejas que la simple función de atrapar radicales libres y un suplemento dietético podría, por otro lado, perturbar el equilibrio natural del sistema redox. Por esta razón, todavía quedan interrogantes y se necesitan aún más investigaciones sobre las nuevas técnicas terapéuticas dirigidas a contrarrestar las ERO. Actualmente, parece ser beneficiosa una integración adecuada de estos suplementos antioxidantes, aunque no están claras las dosis óptimas y el tiempo de administración más eficaz. Sin embargo, es importante mantener un buen funcionamiento del sistema antioxidante para impedir el establecimiento del estrés oxidativo y de sus efectos nocivos sobre el organismo. Para ello, se recomienda un estilo de vida sano, una alimentación adecuada, evitando los excesos, mientras que el uso de suplementos antioxidantes debería quedar bajo supervisión médica (33).

6.2 LIMITACIONES DEL ESTUDIO

La presente revisión sistemática se basa en los análisis realizados sobre numerosos marcadores oxidativos, lo que se puede considerar una fortaleza por un lado, pero también un límite, ya que el análisis de tal variedad de marcadores podrían llevar a errores y malas interpretaciones ya que no todos han sido evaluados por la totalidad de los estudios. Esto requiere una interpretación de algunos resultados con cautela al no existir análisis comparativas entre estudios para algunos de estos marcadores.

A la luz de los resultados obtenidos, la realización de los análisis únicamente en el periodo activo de la lesión, no permite obtener los suficientes resultados para discernir si el estrés oxidativo forma parte del origen o de las consecuencias del RAS. Para aclarar este punto, sería necesario también realizar los análisis justo en el periodo precedente la aparición de la lesión y en sus fases de curación. Esta metodología se llevó a cabo relativamente en un único estudio realizado por Rezaei y cols, donde se analizaron también pacientes con RAS en fase de curación (58). Sin embargo, existen claras dificultades para poder realizar los análisis con este tipo de metodología, especialmente porque es prácticamente imposible detectar el desarrollo del RAS antes que la lesión aparezca en la cavidad bucal. Por esta razón, se consideran científicamente efectivos los estudios realizados hasta el momento.

En el presente trabajo, se observaron varios resultados contradictorios a la hora de comparar diferentes estudios que analizaron los mismos marcadores oxidativos. Estas controversias pueden estar asociadas a numerosos factores como las variaciones del tamaño de las muestras, la aplicación de diversos métodos y la divergencia genética de cada población. Además, los diferentes macros y micronutrientes metabolizados a través de la dieta, son diferentes en cada individuo y esto podría explicar también la variación de la composición y capacidad antioxidante de los individuos.

Por último, la mayoría de los estudios evaluados no tuvieron en cuenta varios factores subyacentes del RAS, como los hábitos orales, la duración del sueño, las condiciones de higiene bucal, las fluctuaciones hormonales en las mujeres y el estado psicológico de los pacientes. Únicamente el estudio realizado por Ziaudeen y Ravindrán consideró el índice de estrés emocional reportado por los pacientes, que resultó significativamente aumentado (41).

Sería deseable también incluir y examinar estos factores en futuros estudios, para poder analizar el desarrollo del RAS de manera completa.

7. CONCLUSIONES

CONCLUSIONES GENERALES

Los pacientes afectados por RAS presentan mayores niveles de estrés oxidativos en comparación a los pacientes controles sanos.

CONCLUSIONES ESPECIFICAS

1. Existe un incremento significativo en los valores de marcadores oxidantes en pacientes con RAS en muestras de saliva y sangre
2. Existe una disminución significativa en los valores de las defensas antioxidantes en pacientes con RAS en muestras de saliva y sangre

5. BIBLIOGRAFÍA

- (1) S Tugrul, A Kocyigit, R Dogan, S Baki Eren, E Senturk, O Ozturan, O Faruk Ozar. Total antioxidant status and oxidative stress in recurrent aphthous stomatitis. *International Journal of Dermatology* 2016;55:130–35.
- (2) A Gurel, HC Altinyazar, M Unalacak, F Armutcu, R Koca. Purine catabolic enzymes and nitric oxide in patients with recurrent aphthous ulceration. *Oral Diseases* 2007;13, 570–74.
- (3) F Çaglayan, O Miloglu, O Altun, O Erel, AB Yilmaz. Oxidative stress and myeloperoxidase levels in saliva of patients with recurrent aphthous stomatitis. *Oral Diseases* 2008; 700–04.
- (4) J Bagan, G Saez, C Tormos, C Gavalda, JM Sanchis, L Bagan, C Scully. Oxidative stress and recurrent aphthous stomatitis. *Clin Oral Invest* 2014.
- (5) A Ekinci, E Demir, H Ekinci. Serum prolidase and oxidative stress levels in patients with recurrent aphthous stomatitis: a prospective, controlled study. *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology* 2020;86:18-23.
- (6) A Eguía, R Saldón, JM Aguirre. La Estomatitis Aftosa Recurrente (I): Epidemiología, etiopatogenia y aspectos clínicopatológicos. *Gac Med Bilbao* 2003; 100: 51-55.
- (7) I Hitz Lindenmüller, SK Fistarol. Aftas y enfermedades aftosas de la cavidad oral. *Quintessenz*. 2010;61(3):259-67.
- (8) EA Field, RB Allan. Review article: oral ulceration aetiopathogenesis, clinical diagnosis and management in the gastrointestinal clinic. *Aliment Pharmacol Ther* 2003;18:949-62.
- (9) C Rivera, A Muñoz, C Puentes, E Aguayo. Risk Factors for Recurrent Aphthous Stomatitis: A Systematic Review. *Int. J. Morphol.* 2021; 39(4):1102-08.

- (10) E Avci, ZZ Akarlan, H Erten, S Coskun-Cevher. Oxidative stress and cellular immunity in patients with recurrent aphthous ulcers. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 2014;47(5): 355-60.
- (11) Z Wang, H Cao, J Xiong, Y Lu, Y Deng, H Nan, S Zheng, H Ye, Z Cao. Recent advances in the aetiology of recurrent aphthous stomatitis (RAS). *Postgrad Med J* 2022;98:57–66.
- (12) G Barros, Estomatite aftosa recorrente. En G. Barros & E. Ferreira (Eds.), *Estomatites: diagnóstico e tratamento* 2019; 77-90.
- (13) S Arikan, C Durusoy, N Akalin, A Haberal, D Seckin. Oxidant/antioxidant status in recurrent aphthous stomatitis. *Oral Diseases* 2009;15, 512–15.
- (14) AL Guimarães, JF Correia-Silva, AR De Sá, JM Netto Victória, M Gonçalves Diniz, F Oliveira Costa, RS Gomez. Investigation of functional gene polymorphisms IL-1 β , IL-6, IL-10 and TNF- α in individuals with recurrent aphthous stomatitis. *Arch Oral Biol* 2007; 52:268-72.
- (15) BE McCartan, PJ Lamey, AM Wallace. Salivary cortisol and anxiety in recurrent aphthous stomatitis. *J Oral Pathol Med* 1996;25: 357-59.
- (16) M Feelisch, MM Cortese-Krott, J Santolini, SA Wootton, AA Jackson. Systems redox biology in health and disease. *EXCLI J.* 2022;21:623–46.
- (17) J Carillon, J Rouanet, J Cristol, R Brion. Superoxide Dismutase Administration, A Potential Therapy Against Oxidative Stress Related Diseases: Several Routes of Supplementation and Proposal of an Original Mechanism of Action. *Pharm Res* 2013;30:2718–28.
- (18) B Čižmárová, V Tomečková, B Hubková, A Hurajtová, J Ohlasová, A Birková. Salivary Redox Homeostasis in Human Health and Disease. *Int J Mol Sci.* 2022.

- (19) B Marengo, M Nitti, AL Furfaro, R Colla, C De Ciucis, UM Marinari, MA Pronzato, N Traverso, C Domenicotti. Redox Homeostasis and Cellular Antioxidant Systems: Crucial Players in Cancer Growth and Therapy. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2016;2016:1–16.
- (20) C Scholtes, V Giguère. Transcriptional Regulation of ROS Homeostasis by the ERR Subfamily of Nuclear Receptors. *Antioxidants.* 2021;10:437.
- (21) SK Bardaweel, M Gul, M Alzweiri, A Ishaqat, HA ALSalamat, RM Bashatwah. Reactive Oxygen Species: The Dual Role in Physiological and Pathological Conditions of the Human Body. *Eurasian J. Med.* 2018;50:193–01.
- (22) A Phaniendra, DB Jestadi, L Periyasamy. Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian J. Clin. Biochem.* 2015;30:11–26.
- (23) B Halliwell, MV Clement, LH Long. Hydrogen peroxide in the human body. *FEBS Lett.* 2000;486:10–13.
- (24) P Żukowski, M Maciejczyk, D Waszkiel. Sources of free radicals and oxidative stress in the oral cavity. *Arch. Oral Biol.* 2018;92:8–17.
- (25) N Sardaro, F Della Vella, M Incalza, D Di Stasio, A Lucchese, M Contaldo, C Laudadio, M Petrucci. Oxidative Stress and Oral Mucosal Diseases: An Overview. *In Vivo* 2019; 33:289-96.
- (26) M Sharifi-Rad, NV Anil Kumar, P Zucca, EM Varoni, L Dini, E Panzarini, J Rajkovic, PV Tsouh Fokou, E Azzini, I Peluso, AP Mishra, M Nigam, Y El Rayess, M El Beyrouthy, L Polito, M Iriti, N Martins, M Martorell, AO Docea, WN Setzer, D Calina, WC Cho, J Sharifi-Rad. Lifestyle, Oxidative Stress, and Antioxidants: Back and Forth in the Pathophysiology of Chronic Diseases. *Front. Physiol.* 2020;11:694.
- (27) EB Kurutas. The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: Current state. *Nutr. J.* 2016;15:71.

- (28) S Shahbaz, M Khazaei, N KhoshkholghSimi, S Jahandideh. The role of oxidative stress in recurrent aphthous stomatitis (RAS): A review. *Current Problems in Dermatology* 2018; 49, 1–7.
- (29) M Knaś, M Maciejczyk, D Waszkiel, A Zalewska. Oxidative stress and salivary antioxidants. *Dent. Med. Probl.* 2013;50:461–66.
- (30) M Maciejczyk, A Skutnik-Radziszewska, I Zieniewska, J Matczuk, E Domel, D Waszkiel, M Żendzian-Piotrowska, I Szarmach, A Zalewska. Antioxidant Defense, Oxidative Modification, and Salivary Gland Function in an Early Phase of Cerulein Pancreatitis. *Oxidative Med. Cell. Longev.* 2019.
- (31) AM Hegde, K Rai, V Padmanabhan. Total Antioxidant Capacity of Saliva and its Relation with Early Childhood Caries and Rampant Caries. *J. Clin. Pediatr. Dent.* 2009;33:231–34.
- (32) Z Vahabzadeh, ZM Hashemi, B Nouri, F Zamani, F Shafiee. Salivary enzymatic antioxidant activity and dental caries: A cross-sectional study. *Dent. Med. Probl.* 2020;57:385–91.
- (33) V Sánchez-Valle, N Méndez-Sánchez. Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad. *RevInvestMedSurMex* 2013;20(3):161-68.
- (34) ML Garagiola, M Tarán, MP Scribano, A Balceda, E García, I Fonseca, M Moya, MC Baez. Mieloperoxidasa como indicador de estrés oxidativo en el síndrome metabólico. *Revista Argentina De Cardiología* 2016;84:538-42.
- (35) MC González-Torres, M Betancourt-Rule, R Ortiz-Muñiz. Daño Oxidativo y Antioxidantes. *Bioquímica* 2000;25:3-9.
- (36) M Battino, MS Ferreiro, I Gallardo, HN Newman Bullon. The antioxidant capacity of saliva. *J. Clin. Periodontol.* 2002;29:189–94.
- (37) J Vina, J Sastre, FV Pallardó. Antioxidant defense mechanisms and their relationship to redox signaling. *Free Radical Biology and Medicine* 2007; 43(6), 784-01.

- (38) I Minic. Antioxidant Role of Saliva. *J. Otolaryngol. Res.* 2019;2:124.
- (39) LW Evans, ST Omaye. Use of Saliva Biomarkers to Monitor Efficacy of Vitamin C in Exercise-Induced Oxidative Stress. *Antioxidants.* 2017;6:5.
- (40) P Muñiz, MJ Coma, J Terán. Estrés oxidativo y daño vascular en procesos de hipoxia. Malondialdehido (MDA) como biomarcador de daño oxidativo. *Rev Electron Biomed / Electron J Biomed* 2014;2:46-49.
- (41) S ZiaUDeen, R RavinDran. Assessment of Oxidant-Antioxidant Status and Stress Factor in Recurrent Aphthous Stomatitis Patients- Case Control Study. *Journal of Clinical and Diagnostic Research.* 2017;Vol-11(3): ZC01-04.
- (42) K Dhama, SK Latheef, M Dadar, HASamad, A Munjal, R Khandia, K Karthik, R Tiwari, MI Yattoo, P Bhatt, S Chakraborty, K Pal Singh, HMN Iqba, W. Chaicumpa, SK Joshi. Biomarkers in Stress Related Diseases/Disorders: Diagnostic, Prognostic, and Therapeutic Values. *Frontiers in Molecular Biosciences.* 2019;6:91.
- (43) D Moher, A Liberati, J Tetzlaff, DG Altman. PRISMA Group. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *Int J Surg.* 2010;8:336–41.
- (44) A Stang. Critical evaluation of the Newcastle-Ottawa scale for the assessment of the quality of nonrandomized studies in meta-analyses. *European Journal of Epidemiology.* 2010;25:603–05.
- (45) JR Landis, GG Koch. An application of hierarchical kappa-type statistics in the assessment of majority agreement among multiple observers. *Biometrics.* 1977;33:363–74.
- (46) HC Altinyazar, A Gürel, R Koca, F Armutçu, M Ünalacak. The status of oxidants and antioxidants in the neutrophils of patients with recurrent aphthous stomatitis. *Turkish Journal of Medical Sciences.* 2006;36:87-91.

- (47) SG Bilgili, H Ozkol, Z Takci, HU Ozkol, AS Karadag, M Aslan. Assessment of the serum paraoxonase activity and oxidant/antioxidant status in patients with recurrent aphthous stomatitis. *International Journal of Dermatology*. 2013;52:1259-64.
- (48) I Gupta, A Shetti, V Keluskar, A Bagewadi. Assessment of serum enzymatic antioxidant levels in patients with recurrent aphthous stomatitis: A case control study. *Enzyme Research*. 2014;2014.
- (49) JS Jesija, S Gopal, HP Skiel. Recurrent aphthous stomatitis: An assessment of antioxidant levels in plasma and saliva. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2017;11:ZC64-67.
- (50) X Li, Z Zhang. Assessment of serum malondialdehyde, uric acid, and vitamins C and E levels in patients with recurrent aphthous stomatitis. *Journal of Dental Science*. 2016;11:401-04.
- (51) J Momen-Beitollahi, A Mansourian, F Momen-Heravi, M Amanlou, S Obradov, M Sahebamee. Assessment of salivary and serum antioxidant status in patients with recurrent aphthous stomatitis. *Medicina Oral, Patologia Oral y Cirugia Bucal*. 2010;15:e-557-61.
- (52) Z Zhang, Q Zhang, Y Xue, G Chen, Z Wu, H Fang. Serum levels of total antioxidant status, nitric oxide and nitric oxide synthase in minor recurrent aphthous stomatitis patients. *Medicine*. 2019;98:e-14039.
- (53) MYB Çimen, TI Kaya, G Eskandari, U Tursen, G Ikizoglu, U Atik. Oxidant/antioxidant status in patients with recurrent aphthous stomatitis. *Clinical and Experimental Dermatology*. 2003;28:647-50.
- (54) Y Karıncaoglu, K Batcioglu, T Erdem, M Esrefoglu, M Genc. The levels of plasma and salivary antioxidants in the patient with recurrent aphthous stomatitis. *J Oral Pathol Med*. 2005;34:7–12.
- (55) S Saxena. Assessment of plasma and salivary antioxidant status in patients with recurrent aphthous stomatitis. *Revista Sul-Brasileira de Odontologia*. 2011;8:261-65.

- (56) N Babae, H Hosseinkazemi, M Pouramir, O Khakbaz Baboli, M Salehi, F Khadir, A Bijani, M Mehryari. Salivary oxidant/ antioxidant status and hematological parameters in patients with recurrent aphthous stomatitis. *Caspian J Intern Med.* 2016;7(1):13-18.
- (57) Y Saral, B Kandi Coskun, P Ozturk, F Karatas, A Ayar. Assessment of salivary and serum antioxidant vitamins and lipid peroxidation in patients with recurrent aphthous ulceration. *Tohoku J. Exp. Med.* 2005;206:305-12.
- (58) F Rezaei, T Soltani. Evaluation and Comparison of Total Antioxidant Capacity of Saliva Between Patients with Recurrent Aphthous Stomatitis and Healthy Subjects. *The Open Dentistry Journal.* 2018;12:303-09.
- (59) O Erel. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry.* 2005;38:1103-11.
- (60) O Erel. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry.* 2004;37:277-85.
- (61) PF Wei, KY Ho, YP Ho, YM Wu, YH Yang, CC Tsai. The investigation of glutathione peroxidase, lactoferrin, myeloperoxidase and interleukin-1 β in gingival crevicular fluid: implications for oxidative stress in human periodontal diseases. *Journal of Periodontal Research.* 2004; 39:287-93.
- (62) TPM Akerboom, H Sies. Assay of glutathione, glutathione disulfide, and glutathione mixed disulfides in biological samples. *Methods in Enzymology.* 1981;77:373-82.
- (63) JA Buege, SD Aust. Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology.* 1978;52:302-10.
- (64) DE Paglia, WN Valentine. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine.* 1967;70:158-69.

- (65) ML Quaife, NS Scrimshaw, OH Lowry. A micromethod for assay of total tocopherols in blood serum. *Journal of Biological Chemistry*. 1949;180:1229-35.
- (66) HP Misra, I Fridovich. Superoxide dismutase: A photochemical augmentation assay. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1977;181:308-12.
- (67) H Ohkawa, N Ohishi, K Yagi. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*. 1979;95:351-58.
- (68) P Fossati, L Prencipe, G Berti. Use of 3,5-dichloro-2-hydroxybenzenesulfonic acid/4-aminophenazone chromogenic system in direct enzymic assay of uric acid in serum and urine. *Clinical Chemistry*. 1980;26:227-31.
- (69) JM McCord, I Fridovich. Superoxide Dismutase: an enzymic function for erythrocyte hemoglobin. *Journal of Biological Chemistry*. 1969;244:6049-55.
- (70) S Jurge, R Kuffer, C Scully, SR Porter. Recurrent aphthous stomatitis. *Oral Disease*. 2006;12:1-21.
- (71) FA Akalin, E Baltacioglu, A Alver, E Karabulut. Lipid peroxidation levels and total oxidant status in serum, saliva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis. *Journal of Clinic Periodontology*. 2007;34:558–65.
- (72) S Loft, HE Poulsen. Markers of oxidative damage to DNA: antioxidants and molecular damage. *Methods Enzymol*. 1999;300:166-84.
- (73) BN Ames, MK Shigenaga, TM Hagen. Oxidants antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1993;90:7915-22.
- (74) Mejean C, Morzel M, Neyraud E, Issanchou S, Martin C, Bozonnet S, et al. Salivary composition is associated with liking and usual nutrient intake. *PLoS One* 2015; 10(9): e0137473.
- (75) M Battino, MS Ferreiro, I Gallardo, HN Newman, P Bullon. The antioxidant capacity of saliva. *J Clin Periodontol*. 2002;29:189–94.

- (76) J Martínez Abreu, T Peña Ruiz, E Llanes, L María Ilzarbe. Papel de los metabolitos reactivos del oxígeno en los periodontopatías. *Rev méd electrón.* 2007; 29:5.
- (77) DV Sculley, SC Langley-Evans. Periodontal disease is associated with lower antioxidant capacity in whole saliva and evidence of increased protein oxidation. *Clin. Sci.* 2003;105:167–72.
- (78) LA Márquez, HB Dunford, HV Wart. Kinetic studies on the reaction of compound II of myeloperoxidase with ascorbic acid. Role of ascorbic acid in myeloperoxidase function. *J Biol Chem* 1990;265(10):5666-70
- (79) OH García Morales, N Pereira Roche, RM Flores Sánchez. Enzimas generadoras de especies reactivas del oxígeno: mieloperoxidasa. *Rev Cubana Invest Bioméd.* 1998;17(3).
- (80) C Over, N Yamalik, E Yavuzyilmaz, F Ersoy, K Eratalay. Mieloperoxidase activity in peripheral blood, neutrophil crevicular fluid and whole saliva of patients with periodontal disease. *J Nihon Univ Sch Dent* 1993;35(4):235-40.
- (81) H Komatsu, A Koo, E Ghadishah, H Zeng, JF Kuhlenkamp, M Inova. Neutrophil accumulation in ischemic reperfused rat liver evidence for a role of superoxide free radicals. *Am J Physiol* 1992;262(4):6669-76.
- (82) M Yildirim, V Baysal, HS Inaloz. The significance of serum nitric oxide levels in Behçet's disease and recurrent aphthous stomatitis. *J Dermatol.* 2004;31:983–88.
- (83) M Ohashi, M Iwase, M Nagumo. Elevated production of salivary nitric oxide in oral mucosal diseases. *J Oral Pathol Med.* 1999;28:355–59.
- (84) R Dunn, G Varigos, I Winship. A photographic essay of prolidase deficiency. *Clin Dysmorphol.* 2011;20:194-99.
- (85) M Bozkurt, H Yüksel, S Em, P Oktayoglu, M Yildiz, D Akdeniz, K Nas. Serum prolidase enzyme activity and oxidative status in patients with Behçet's disease. *Redox Rep.* 2014;19:59-64.

- (86) Z Slebioda, E Szponar, A Kowalska. Etiopathogenesis of Recurrent Aphthous Stomatitis and the Role of Immunologic Aspects: Literature Review. *Arch Immunol Ther Exp.* 2014;62(3):205-15.
- (87) SO Akintoye, MS Greenberg. Recurrent Aphthous Stomatitis. *Dent Clin North Am.* 2014;58(2):281-97.
- (88) A Altenburg, MB Abdel-Naser, H Seeber, M Abdallah, CC Zouboulis. Practical aspects of management of recurrent aphthous stomatitis. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2007;21:1019-26.
- (89) B Halliwell. Free radicals and antioxidants: updating a personal view. *Nutr Rev.* 2012;70:257-65.
- (90) JK Willcox, SL Ash, GL Catignani. Antioxidants and prevention of chronic disease. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2004;44:275-95.
- (91) E Delilbasi, B Turan, E Yucel, R Sasmaz. Selenium and Behçet's disease. *Biol Trace Elem Res.* 1991;28:21–25.
- (92) F Guo, N Monsefi, A Moritz, A Beiras-Fernandez. Selenium and cardiovascular surgery: an overview. *Curr Drug Saf.* 2012;7:321-27.
- (93) PJ Leggott, PB Robertson, RA Jacob. Effects of ascorbic acid depletion and supplementation on periodontal health and subgingival microflora in humans. *J Dent Res.* 1991;70:1531–36.
- (94) AG Veretinskaia, N Kosorukova, RV Ya Kazakova. Corrective effect of ascorbic acid on the status of the sympathoadrenal system in patients with chronic recurrent aphthous stomatitis. *Stomatologija.* 1983;62: 20–2.
- (95) R Nordmann, C Ribière. Superoxyde dismutases: rôle biologique; espoir thérapeutique? *Cah Nutr Diét.* 1991;26(6):398–02.

(96) MI Garrigo, V Zaldivar. Efectos biológicos de la radiación láser de baja potencia en los procesos inflamatorios. Rev Cubana de Estomatología. 2000;31(2):53-56.

(97) VS Pérez Morales, OL Fernández González, RS Delgado, Y García Martínez, M Ávila García, L Giance Paz. Láser de baja potencia en el tratamiento de la estomatitis aftosa recurrente. MEDICIEGO. 2016;22(4).

(98) MM Bornstein, VG Suter, E Stauffer, D Buser. The CO2 laser in stomatology: Part 2. Schweiz Monatsschr. Zahnmed. 2003; 113(7):766-85.

6. ANEXOS

Tabla 1. Resumen de las búsquedas de las bases de datos consultadas (PubMed, Scopus, Web of Science)

Base de datos	Búsqueda	Número de artículos	Fecha
PubMed	("Stomatitis, Aphthous"[MeSH Terms] OR recurrent aphthous stomatitis OR "oral ulcer"[MeSH Terms] OR recurrent aphthous ulceration OR recurrent aphthous ulcer OR Aphthous Ulcer) AND ("oxidative stress"[MeSH terms] OR antioxidant markers OR oxidant markers OR antioxidant status OR antioxidant levels OR ROS OR RNS OR nitrosative stress) Filters: Humans, English, Italian, Spanish, from 2000 - 2022	44	07.12.2022
Scopus	("recurrent aphthous stomatitis" OR "oral ulcer" OR "recurrent aphthous ulceration" OR "aphthous stomatitis" OR "recurrent aphthous ulcer") AND ("oxidative stress" OR "antioxidant markers" OR "oxidant markers" OR "antioxidant level" OR "antioxidant status" OR ROS OR RNS OR "nitrosative stress")	53	07.12.2022
Web of Science	(ALL=(("recurrent aphthous stomatitis" OR "oral ulcer" OR "recurrent aphthous ulceration" OR "aphthous stomatitis" OR "recurrent aphthous ulcer"))) AND ALL=("oxidative stress" OR "antioxidant markers" OR "oxidant markers" OR "antioxidant level" OR "antioxidant status" OR ROS OR RNS OR "nitrosative stress"))	64	09.12.2022

Guía PRISMA

Section and Topic	Item #	Checklist item	Location where item is reported
TITLE			
Title	1	Identify the report as a systematic review.	Portada
ABSTRACT			
Abstract	2	See the PRISMA 2020 for Abstracts checklist.	8, 10
INTRODUCTION			
Rationale	3	Describe the rationale for the review in the context of existing knowledge.	30, 31
Objectives	4	Provide an explicit statement of the objective(s) or question(s) the review addresses.	33
METHODS			35
Eligibility criteria	5	Specify the inclusion and exclusion criteria for the review and how studies were grouped for the syntheses.	36
Information sources	6	Specify all databases, registers, websites, organisations, reference lists and other sources searched or consulted to identify studies. Specify the date when each source was last searched or consulted.	36-38
Search strategy	7	Present the full search strategies for all databases, registers and websites, including any filters and limits used.	36-38
Selection process	8	Specify the methods used to decide whether a study met the inclusion criteria of the review, including how many reviewers screened each record and each report retrieved, whether they worked independently, and if applicable, details of automation tools used in the process.	38

Section and Topic	Item #	Checklist item	Location where item is reported
Data collection process	9	Specify the methods used to collect data from reports, including how many reviewers collected data from each report, whether they worked independently, any processes for obtaining or confirming data from study investigators, and if applicable, details of automation tools used in the process.	38, 39
Data items	10a	List and define all outcomes for which data were sought. Specify whether all results that were compatible with each outcome domain in each study were sought (e.g. for all measures, time points, analyses), and if not, the methods used to decide which results to collect.	36
	10b	List and define all other variables for which data were sought (e.g. participant and intervention characteristics, funding sources). Describe any assumptions made about any missing or unclear information.	
Study risk of bias assessment	11	Specify the methods used to assess risk of bias in the included studies, including details of the tool(s) used, how many reviewers assessed each study and whether they worked independently, and if applicable, details of automation tools used in the process.	
Effect measures	12	Specify for each outcome the effect measure(s) (e.g. risk ratio, mean difference) used in the synthesis or presentation of results.	39
Synthesis methods	13a	Describe the processes used to decide which studies were eligible for each synthesis (e.g. tabulating the study intervention characteristics and comparing against the planned groups for each synthesis (item #5)).	36

Section and Topic	Item #	Checklist item	Location where item is reported
	13b	Describe any methods required to prepare the data for presentation or synthesis, such as handling of missing summary statistics, or data conversions.	
	13c	Describe any methods used to tabulate or visually display results of individual studies and syntheses.	
	13d	Describe any methods used to synthesize results and provide a rationale for the choice(s). If meta-analysis was performed, describe the model(s), method(s) to identify the presence and extent of statistical heterogeneity, and software package(s) used.	44
	13e	Describe any methods used to explore possible causes of heterogeneity among study results (e.g. subgroup analysis, meta-regression).	
	13f	Describe any sensitivity analyses conducted to assess robustness of the synthesized results.	
Reporting bias assessment	14	Describe any methods used to assess risk of bias due to missing results in a synthesis (arising from reporting biases).	
Certainty assessment	15	Describe any methods used to assess certainty (or confidence) in the body of evidence for an outcome.	
RESULTS			41
Study selection	16a	Describe the results of the search and selection process, from the number of records identified in the search to the number of studies included in the review, ideally using a flow diagram.	41
	16b	Cite studies that might appear to meet the inclusion criteria, but which were excluded, and explain why they were excluded.	42
Study characteristics	17	Cite each included study and present its characteristics.	42

Section and Topic	Item #	Checklist item	Location where item is reported
Risk of bias in studies	18	Present assessments of risk of bias for each included study.	48, 49
Results of individual studies	19	For all outcomes, present, for each study: (a) summary statistics for each group (where appropriate) and (b) an effect estimate and its precision (e.g. confidence/credible interval), ideally using structured tables or plots.	50-68
Results of syntheses	20a	For each synthesis, briefly summarise the characteristics and risk of bias among contributing studies.	
	20b	Present results of all statistical syntheses conducted. If meta-analysis was done, present for each the summary estimate and its precision (e.g. confidence/credible interval) and measures of statistical heterogeneity. If comparing groups, describe the direction of the effect.	
	20c	Present results of all investigations of possible causes of heterogeneity among study results.	
	20d	Present results of all sensitivity analyses conducted to assess the robustness of the synthesized results.	
Reporting biases	21	Present assessments of risk of bias due to missing results (arising from reporting biases) for each synthesis assessed.	
Certainty of evidence	22	Present assessments of certainty (or confidence) in the body of evidence for each outcome assessed.	
DISCUSSION			70
Discussion	23a	Provide a general interpretation of the results in the context of other evidence.	70-75
	23b	Discuss any limitations of the evidence included in the review.	79
	23c	Discuss any limitations of the review processes used.	79

Section and Topic	Item #	Checklist item	Location where item is reported
	23d	Discuss implications of the results for practice, policy, and future research.	76-78
OTHER INFORMATION			
Registration and protocol	24a	Provide registration information for the review, including register name and registration number, or state that the review was not registered.	35
	24b	Indicate where the review protocol can be accessed, or state that a protocol was not prepared.	35
	24c	Describe and explain any amendments to information provided at registration or in the protocol.	
Support	25	Describe sources of financial or non-financial support for the review, and the role of the funders or sponsors in the review.	
Competing interests	26	Declare any competing interests of review authors.	
Availability of data, code and other materials	27	Report which of the following are publicly available and where they can be found: template data collection forms; data extracted from included studies; data used for all analyses; analytic code; any other materials used in the review.	

Systemic and local effect of oxidative stress on recurrent aphthous stomatitis.

Systematic Review.

Giulia Rinaldi, Cristina Estornut Navarro

Degree in Dentistry at the European University of Valencia.

Abstract

Introduction: Recurrent aphthous stomatitis (RAS) is a chronic and recurrent inflammatory disease of the mouth. It is characterised by the appearance of painful ulcers in the oral mucosa. RAS is believed to be a multifactorial disease with genetic predisposition, environmental factors and alterations in the immune system. Oxidative stress, caused by an imbalance between free radicals and the antioxidant system, also appears to be involved in the pathogenesis of RAS. Several risk factors, such as smoking, iron and vitamin deficiency, and anxiety, may contribute to the development of the disease. Understanding the underlying mechanisms may help in the prevention and treatment of RAS.

Materials and methods: We searched PubMed, Scopus and Web of Science for articles on oxidative stress in patients with RAS from 2000 to 2022. Studies analysing oxidant and antioxidant levels in blood and saliva of RAS patients and healthy controls were selected.

Results: Of 165 potentially eligible articles, 14 met the inclusion criteria: 7 studies on blood samples, 3 on salivary samples and 4 on both blood and salivary samples. Multiple oxidative and antioxidant markers were assessed in blood and saliva samples. Overall, statistically significant differences were found between case and control groups for most markers, assuming a P-value <0.05 as statistically significant to consider increased levels of oxidative stress. In addition, increased oxidative DNA damage was observed in patients with RAS.

Conclusion: Patients with RAS show increased levels of oxidative stress compared to healthy controls, with a significant increase in oxidative markers and a significant decrease in antioxidant defences in saliva and blood samples.

Keywords: recurrent aphthous stomatitis, recurrent aphthous ulcer, oxidative stress, oxidative markers, antioxidant markers, oxidative status.

Introduction

Recurrent aphthous stomatitis (RAS) is a chronic, recurrent inflammatory disease characterised by painful oral ulcers. Although its exact aetiology is still unknown, multiple factors, such as genetic predisposition, immunological factors, nutritional deficiencies and lifestyle factors, are thought to contribute to the development of the disease. In recent years, it has been suggested that oxidative stress may play a role in the development of SAR. Oxidative stress is characterised by an imbalance between free radicals and antioxidants in the body, leading to cell damage and inflammatory processes (1, 2).

Figure 1 graphically depicts the process of inflammatory response to an antigen, which stimulates the production of reactive oxygen.

The presence of oxidative stress in multiple systemic, immunological, malignant, premalignant and especially inflammatory diseases is a well-known reality (3). Several studies have evaluated the relationship between oxidative stress and RAS, reporting alterations in oxidant and antioxidant levels in patients with RAS (3, 4, 2).

In the last decades, no new insights into the aetiology, diagnosis and treatment of RAS have been found (5). This represents the main reason why experts and health professionals are still trying to better understand the processes involved in this oral pathology. For these reasons, this review is considered appropriate, as it provides an update and contextualisation of the topic and favours further research that is still needed to understand, stop and prevent the occurrence of oxidative stress in patients with RAS.

The general aim of this scientific article is to evaluate the presence of oxidative stress by measuring its markers in patients affected by RAS in comparison with healthy control patients, in salivary and blood samples.

Materials and methods

The present systematic review was conducted following the PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analysis) guideline statement (6).

In addition, the work was registered on the PROSPERO international prospective registry of systematic reviews, registration number CRD42023428946.

Based on the objective of the present systematic review, we sought to answer the following research question: Is there an association between variations in oxidant and antioxidant levels in blood and saliva and recurrent aphthous stomatitis disease? This study question was established according to a population, intervention, comparison and outcome (PICO) study design, where P corresponds to patients affected by recurrent aphthous stomatitis; I to the measurement of oxidant and antioxidant markers in blood and saliva samples; C to healthy control patients; O to the concentrations of oxidative stress markers in saliva and blood samples of patients with recurrent aphthous stomatitis and healthy controls.

An automated search of the three aforementioned databases was conducted using combinations of the following Medical Subject Heading (MeSH) terms and text words: ("Stomatitis, Aphthous"[MeSH Terms] OR recurrent aphthous stomatitis OR "oral ulcer"[MeSH Terms] OR recurrent aphthous ulceration OR recurrent aphthous ulcer OR Aphthous Ulcer) AND ("oxidative stress"[MeSH terms] OR antioxidant markers OR oxidant markers OR antioxidant status OR antioxidant levels OR ROS OR RNS OR nitrosative stress) Filters: Humans, English, Italian, Spanish, from 2000 - 2022. In order to identify any eligible studies that the initial search might have missed, bibliographic references of selected studies were reviewed and specific scientific journals were handsearched.

The inclusion criteria used in this review comprise different aspects related to the type of study, type of patient, type of intervention and type of outcome variables. In terms of study type, randomised controlled clinical trials, prospective and retrospective cohort studies, and case-control studies were considered. In addition, publications in English, Spanish and Italian were included, and were limited to articles published from 2000 to 2022.

Regarding the type of patient, those with recurrent aphthous stomatitis (RAS) episodes repeated at least three times during one year were selected. The studies had to focus on adult patients, with a number of participants greater than or equal to 5 and less than 70. Both sick and healthy patients were considered for comparison of results. The required intervention consisted of measuring oxidative stress by its main markers in blood and saliva samples. In addition, the required intervention consisted of measuring oxidative stress by its main markers in blood and saliva samples. In addition, a minimum follow-up corresponding to the period of RAS involvement was requested to ensure the relevance of the results. Regarding outcome variables, we sought studies that provided data related to

the measurement of oxidative and antioxidant biomarkers, the association between oxidative stress and RAS, and oxidative stress as an aetiopathogenic factor of RAS.

On the other hand, exclusion criteria were established to avoid the inclusion of duplicate studies and those that treated RAS as a clinical sign of underlying systemic diseases. Patients with systemic diseases, those receiving therapeutic or systemic treatments, and those taking vitamin supplements were also excluded. Other exclusion criteria were patients with a history of trauma, women during pregnancy or lactation, patients with periodontal disease and patients with smoking.

The selection of studies was divided into three stages, where selection criteria were used according to the title, abstract and full reading of the articles. Two reviewers (GR, CEN) carried out this selection, and there was no disagreement between them.

The assessment of the risk of bias was evaluated by the two reviewers (GR, CEN) with the aim of analysing the methodological quality of the included articles.

The Newcastle-Ottawa guidelines were used to assess the quality of the observational case-control studies, where the following criteria were taken into account: case definition, representativeness, selection of controls, definition of controls, compatibility, exposure testing, same method for both groups and dropout rate (7). All but one of the studies were considered at low risk of bias and scored from 7 to 9 (maximum score) (Table 1).

Results

A total of 165 articles were obtained in the initial search process and 1 additional study was obtained through the manual search. Of these publications, 57 were duplicated and 22 were considered potentially eligible by screening titles and abstracts. Of these, only 14 articles met the inclusion criteria and were included in the present systematic review (Figure 2). The k-value for inter-examiner agreement on the inclusion of studies was 0.92 (titles and abstracts) and 1.0 (full texts) indicating "good" and "complete" agreement, respectively, according to Landis and Koch's criteria (45).

A total of 795 patients, equally divided between RAS and control groups, were treated and a total of 17 oxidative markers (GPx, CAT, MDA, AOP, PON1, OSI, prolidase, TOS, TAS or TAC, MPO, GSH, GSGG, NO, Se, Vitamins, AU, oxidative DNA damage) were analysed.

During the process of methodological quality and risk of bias assessment, almost all articles were considered low risk of bias and all scored from 7 to 9 (maximum score). Only one was considered high risk of bias and scored 6.

Regarding the presence of oxidative stress in patients affected by RAS, in all comparisons and correlations, a P-value <0.05 was established as statistically significant to consider increased levels of oxidative stress.

Several studies analysed the levels of oxidative stress markers in blood samples only.

The values obtained from the TOS analysis were 3.97 ± 1.34 (4), 10.69 ± 1.43 (8), 5.19 ± 8.26 (9) in the case groups and 3.54 ± 0.67 (4), 2.90 ± 6.06 (8), 2.90 ± 6.06 (9) in the control groups, with significant differences in two of the studies (8, 9) and non-significant in another (4).

For the case groups, TAS revealed mean values of 2.05 ± 0.38 (4), 2.19 ± 0.38 (8), 1.14 ± 0.19 (9) and 2.61 ± 0.78 (10), and 2.15 ± 0.32 (4), 3.07 ± 0.53 (8), 1.09 ± 0.17 (9), 3.08 ± 0.49 (10) for the control groups. Significant differences were obtained in all studies, with higher values in the control group. The mean values obtained for the OSI marker in the case group were 0.019 ± 0.03 (4), 4.88 ± 1.43 (8), 0.48 ± 0.81 (9), and 0.016 ± 0.01 (4), 1.73 ± 0.76 (8), 0.28 ± 0.63 (9) for the control groups, obtaining significant differences in all studies, with higher values in patients with RAS.

Analyses focused on assessing the possible damage caused by oxidative stress on DNA reported a mean value in the case group of 27.47 ± 9.57 , while in the control group it was 13.73 ± 7.28 (8). Oxidative DNA damage in the patient group was significantly higher than in the control group.

The mean values obtained from MDA analysis in the case groups were 1.20 ± 0.78 (4), 1.49 ± 0.46 (5), 0.97 ± 0.33 (11) and 3.89 ± 1.34 (12), and 0.76 ± 0.20 (4), 0.17 ± 0.06 (5), 0.54 ± 0.23 (11) and 2.67 ± 1.13 (12) in the control groups. The presence of MDA in erythrocytes was also assessed, with a mean value of 6.90 ± 1.79 in the patient group and 6.82 ± 0.78 in the control group (12).

Significant differences were found in all studies (5, 11, 12), with significantly higher MDA levels in patients with RAS. In the remaining article, the differences were not significant, as well as in the erythrocyte analyses (4, 12).

Mean values for GSH in case groups were 864.26 ± 102.04 (4) and 5.95 ± 2.77 (5), and 684.20 ± 63.60 (4) and 21.00 ± 3.44 (5) for control groups. Statistical analysis showed significant differences, with higher values in the control group in one study (5) while, in the other, marker values were higher in patients with RAS (4).

The values obtained from the measurement of GSSG were higher in patients with RAS (7.85 ± 2.23) compared to control cases (0.23 ± 0.03), and statistical analysis showed that these differences were significant (5).

As for the analyses on other markers, the values obtained in the group of patients with RAS were 18.74 ± 3.66 for MPO (4), while NO was 16.41 ± 2.32 (4) and 60.08 ± 23.75 (10). In the control groups the following values were obtained: 17.51 ± 3.88 for MPO (4), and 19.84 ± 4.96 (4) and 46.45 ± 13.01 (10) for NO. Only in the study by Zhang et al (10) were significant differences observed between case and control groups, with patients with RAS showing higher levels of the NO marker.

According to the analyses performed in the case groups, the mean GPx values were 20.4 ± 2.68 (11) and 14.24 ± 3.49 (12), while in the control groups, mean values were 25.9 ± 2.55 (11) and 18.04 ± 7.25 (12). In both articles, significant differences were found, with higher GPx levels in the case of the controls (11, 12).

Vit E values were also assessed and the mean values obtained were 0.74 ± 0.88 in patients with RAS and 0.99 ± 0.02 in controls (11). The control groups had higher Vit E levels and this difference was statistically significant (11). Finally, another study evaluated CAT and AOP markers in both plasma and isolated erythrocytes (12). The values relative to the plasma assays for the case group were 0.058 ± 0.02 for AOP, while the values relative to the control groups were 0.085 ± 0.04 for AOP (12). On the other hand, the values obtained in the erythrocyte assays for the case groups were $30\,428 \pm 6616$ for CAT and 0.0085 ± 0.013 for AOP; the values for the control groups were $34\,420 \pm 6562$ for CAT and 0.0135 ± 0.002 for AOP (12). In all cases, the analyses showed statistically significant differences.

The results of the oxidative marker analyses on blood samples are presented in Table 2.

Another series of studies analysed markers of oxidative stress in saliva samples only. Elevated levels of oxidative stress were observed in patients with RAS, with the exception of a single study in which no statistically relevant results were obtained (1).

TAS values were also analysed in two other studies and resulted in values of 0.18 ± 0.12 (13) and 0.26 ± 0.16 (14) in patients with RAS and 0.26 ± 0.14 (13) and 0.24 ± 0.13 (14) in the control groups. In this case, statistically significant differences were observed, resulting in higher levels of the antioxidant marker TAS in controls compared to patients with RAS.

The results for MDA were statistically significant: the case groups obtained values of 1.16 ± 0.86 (13) and 1.45 ± 0.55 (15), and the control groups obtained values of 0.47 ± 0.53

(13) and 0.95 ± 0.28 (15). Statistically significant differences were observed, with increased MDA levels in patients with RAS compared to control subjects.

Finally, the values obtained in the case group were 1.60 ± 0.39 for GPx, 3.99 ± 1.59 for AU and 1.27 ± 0.48 for SOD; in the control group the values were 2.19 ± 0.62 for GPx, 5.79 ± 1.61 for AU and 0.72 ± 0.41 for SOD (15). For all three markers, the differences were statistically significant, with decreased levels of GPx and AU markers in patients with RAS, while SOD levels were higher in patients with RAS.

The results of the oxidative marker analyses on salivary samples are presented in Table 3.

Finally, three of the selected studies analysed markers in both blood and salivary samples. All but one of the P-values of the analysed markers were statistically significant, and therefore it was considered that there were higher levels of oxidative stress in RAS patients than in healthy subjects.

As for the analysis of blood samples, the values obtained were: for the SOD marker of 1347.33 ± 22.16 (16) and 1325.27 ± 15.74 (17) in the case groups, while in the control groups they were 1567.31 ± 37.51 (16) and 1597.24 ± 11.51 (17); GPx values were 24.62 ± 1.27 (16) and 20.31 ± 0.61 (17) in the case groups and 19.01 ± 0.67 (16) and 17.33 ± 0.74 (17) in the control groups; CAT values in the case groups were 208.81 ± 6.91 (16) and 201.11 ± 1.86 (17), while in the control groups they were 227.11 ± 4.62 (16) and 224.01 ± 1.27 (17); for the AU marker, a mean value of 3.66 ± 0.59 was obtained for the case group and a mean value of 6.35 ± 0.86 for the control group (17). Finally, in the case groups, mean values of 3.31 ± 0.70 for MDA, 0.60 ± 0.13 for Vit A, 7.68 ± 1.43 for Vit C, 6.92 ± 1.30 for Vit E and 229.2 ± 22.2 for VitB12 were obtained; the same analyses in the control group showed mean values of $1,68 \pm 0,44$ for MDA, $0,72 \pm 0,14$ for Vit A, $8,95 \pm 1,66$ for Vit C, $8,27 \pm 1,60$ for Vit E and $339,8 \pm 31,4$ for Vit B12 (14).

As for the analysis of salivary samples, the values obtained were: for the SOD marker of 0.86 ± 0.04 (16) and 1.40 ± 0.09 (17) in the case groups, while in the control groups they were 0.56 ± 0.11 (16) and 0.73 ± 0.05 (17); GPx values were 1.70 ± 0.14 (16) and 1.55 ± 0.03 (17) for the case groups and 2.88 ± 0.18 (16) and 2.36 ± 0.04 (17) in the control groups; the values for CAT in the case groups were 0.90 ± 0.04 (16) and 0.96 ± 0.05 (17), while for the control groups they were 0.78 ± 0.03 (16) and 0.76 ± 0.03 (17); for the AU marker, values of 6.31 ± 3.29 (16) and 6.58 ± 0.72 (17) were obtained in the case groups and 5.26 ± 2.87462 (16) and 6.28 ± 0.57 (17) in the control groups. Finally, in the case groups, values equal to 0.48 ± 0.16 for MDA, 16.80 ± 5.08 for Vit A, 0.83 ± 0.26 for Vit C

and 0.26 ± 0.10 for Vit E were obtained; for the control groups, these values were 0.28 ± 0.12 for MDA, 28.5 ± 0.21 for Vit A, 1.04 ± 0.11 for Vit C and 0.40 ± 0.11 for Vit E (14).

The two reviewed studies analysing SOD, GPx and CAT levels showed statistically significant differences, with some divergences: in the case of SOD and CAT, blood samples showed higher levels of the markers in healthy subjects compared to RAS patients, while saliva samples showed increased levels in RAS patients (16, 17). In the case of GPx, increased levels were obtained in RAS patients in blood samples, however, these levels were decreased in saliva samples from these same patients (17).

In the case of AU, patients with RAS showed lower values of the marker in blood analyses (17), while in studies on salivary samples, it is patients with RAS who have higher levels of the AU marker (16, 17).

Moreover, in analyses of both types of samples, MDA levels were found to be higher in patients with RAS, while vitamin levels were all lower in patients with RAS (14).

The results of the oxidative marker analyses on blood and salivary samples are presented in Table 4.

Discussion

The general objective of this study was to evaluate the presence of oxidative stress by means of the increase or decrease of its different markers. Secondly, this work allows us to interpret the role of oxidative stress as another aetiopathogenic factor in RAS. Until now, the mechanism of action of free radicals in this disease is unknown, since alterations in oxidative stress markers are only detectable when the clinical picture is advanced. Furthermore, many studies report a direct association between oxidative stress and an inflammatory state of the organism (3, 5, 12). Indeed, although the clinical signs of RAS manifest themselves at the oral level, it is widely recognised that the disease has both local and systemic repercussions. Of course, altered blood parameters in affected patients have been identified as one of the most relevant factors in the occurrence of RAS (14).

Several studies report increased levels of TOS and OSI in blood samples, suggesting an increase in the total oxidative status of the organism (4, 8, 9). From this, it is also assumed that unaltered levels of PON1 and prolidase do not indicate no oxidative stress, but rather that the accelerated healing process in RAS does not allow for significant alterations to be detected (9). On the other hand, the increase in the MDA marker is closely related to the decrease in AOP, the GSH/GSSG ratio and the increase in GSH levels, which in turn justifies the increase in TOS in patients with RAS (4, 5, 12). Of course, MDA is one of the

most important products of lipid peroxidation and, in fact, oxidative stress measurements are based on the estimation of the products of lipid, protein and DNA damage (19). Such damage is also closely related to the detection of increased TOS and OSI values and, in the study by Tuguri et al, DNA damage values are significantly increased in patients with RAS (8). The TAS marker obtained contradictory results and, particularly in the study by Rezaei et al, patients with RAS show a significant increase in TAS levels only in the healing phase of the oral ulcer (14). It is assumed that in order to counteract the evolution of RAS, the body sends an increased amount of antioxidant defences directly to the affected part (16). In this sense, increased TAS concentrations could be considered as a defence mechanism against the inflammatory processes of RAS.

In parallel, the same phenomenon is detected for SOD and AU in salivary sample results (15, 16). Therefore, the increase in salivary concentrations of TAS, SOD and AU could be considered as a defence mechanism against RAS inflammatory processes. In contrast, in other blood samples (12 - 17), and also in saliva for UA (15), the concentrations of these markers are decreased in patients with RAS. It is assumed that the infiltration of immune cells to the area of the ulcerative lesion causes a considerable increase in oxidative stress and consequently decreased values associated with antioxidant factors.

In both saliva and blood, the oxidative marker MPO does not appear to show significantly altered levels to justify the presence of oxidative stress in diseased subjects (1, 4). MPO constitutes 2-5 % of neutrophil proteins and therefore, in inflammatory and infectious diseases, the increase in MPO is always proportional to the number of neutrophils infiltrating the tissues (20). However, in the absence of sufficiently altered MPO levels, we cannot consider this marker as being involved in the pathophysiological process of RAS.

In all the studies evaluated, both GPx (11, 12 - 17) and CAT (12 - 17) values are significantly decreased. Therefore, as these values are significantly altered, increased enzyme activity caused by an increase in free radicals or inhibition of these enzymes by inhibitory substances contained in the blood of RAS patients is assumed (11, 12 - 17).

Finally, articles that analyse the levels of vitamins in blood and saliva provide similar results that agree on the significant decrease in the values of non-enzymatic antioxidants such as Vit E, Vit A, Vit C, Vit B12 in patients with RAS (11, 14). It is important to note that altered concentrations of these factors can modify individual susceptibility to certain diseases such as RAS and even modify the evolution or clinical course of the disease, acting as precipitating or protective factors (21).

Undoubtedly, in most of the diseased patients compared to healthy patients, an elevated presence of oxidative molecules was found, so that the antioxidant system has been

affected. Therefore, reducing oxidative stress could be an effective strategy to prevent and treat SAR. However, as mentioned in this paper, there are contradictory results between several of the studies reviewed, especially between blood and saliva samples.

These controversies may be associated with numerous factors such as variations in sample size, application of various methods, genetic divergence of each population, oral habits, sleep duration, oral hygiene conditions, hormonal fluctuations in women and the psychological state of the patients. Only the study by ZiaUDeen and RavinDran considered the emotional stress index reported by patients, which was significantly increased (15). In addition, the different macronutrients and micronutrients metabolised through the diet are different in each individual and this could also explain the variation in the composition and antioxidant capacity of individuals.

To date, it has not been demonstrated whether an altered oxidative status can really be accepted as the main and primary cause for the occurrence of RAS. Instead, two possible scenarios have been put forward: the first, according to which RAS would trigger oxidative reactions; the second, according to which free radicals would be responsible for the origin and development of RAS, provided that there is an imbalance between oxidants and antioxidants.

Possible prevention and treatment measures

As has been seen throughout this paper, the aetiopathogenesis of RAS is uncertain but probably multifactorial, so there is no real curative treatment and it relies on palliative therapies, whose main objectives are to accelerate the healing of the lesion, reduce the frequency of recurrences and alleviate pain. Currently, the traditional treatment of these lesions is symptomatic, using topical or systemic treatments, depending mainly on the number and size of the ulcers and the frequency of recurrence of outbreaks (22).

In recent years, other preventive and therapeutic solutions that could counteract, in the first place, free radicals and their mechanism of action involved in the development of RAS have been evaluated. The implementation of therapy and a diet rich in antioxidants is recommended to prevent and reduce cell deterioration caused by ROS (23). Indeed, according to some studies, selenium supplementation in association with ascorbic acid may boost blood antioxidant defences and provide greater effective therapeutic efficacy for patients with RAS (24). Indeed, in the study by Arikan et al, decreased blood selenium levels were found, suggesting that possible supplementation with antioxidant factors may enhance blood antioxidant defence and provide greater therapeutic efficacy beneficial for

RAS (11). Vitamin C and beta-carotene, which is converted into two vitamin A molecules, reduce cellular oxidative damage and are therefore attributed with anti-carcinogenic capacities, often being able to restore oxidative damage to DNA (8, 23). Furthermore, supplementation of the enzyme SOD appears to alleviate, among other things, inflammatory diseases such as RAS (25). The induction of an endogenous antioxidant defence such as SOD could represent a new potential treatment to reduce the levels of oxidative stress and, consequently, inflammation produced in this disease (25).

Despite the scientific evidence so far on the benefits of antioxidants, their functions are much more complex than simply trapping free radicals and dietary supplementation could, on the other hand, disrupt the natural balance of the redox system. For this reason, questions remain and more research is still needed on new therapeutic techniques aimed at counteracting ROS.

Acknowledgements

This study was supported by the European University of Valencia.

Funding

This research has not received any specific grants from funding bodies in the public, commercial or non-profit sectors.

Conflict of interest

The authors have no conflicts of interest to declare.

References

- (1) F Çaglayan, O Miloglu, O Altun, O Erel, AB Yilmaz. Oxidative stress and myeloperoxidase levels in saliva of patients with recurrent aphthous stomatitis. *Oral Diseases* 2008; 700–04.
- (2) AL Guimarães, JF Correia-Silva, AR De Sá, JM Netto Victória, M Gonçalves Diniz, F Oliveira Costa, RS Gomez. Investigation of functional gene polymorphisms IL-1 β , IL-6, IL-10 and TNF- α in individuals with recurrent aphthous stomatitis. *Arch Oral Biol* 2007; 52:268-72.

- (3) N Sardaro, F Della Vella, M Incalza, D Di Stasio, A Lucchese, M Contaldo, C Laudadio, M Petruzzi. Oxidative Stress and Oral Mucosal Diseases: An Overview. *In Vivo* 2019; 33:289-96.
- (4) E Avci, ZZ Akarlan, H Erten, S Coskun-Cevher. Oxidative stress and cellular immunity in patients with recurrent aphthous ulcers. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 2014;47(5): 355-60.
- (5) J Bagan, G Saez, C Tormos, C Gavalda, JM Sanchis, L Bagan, C Scully. Oxidative stress and recurrent aphthous stomatitis. *Clin Oral Invest* 2014
- (6) D Moher, A Liberati, J Tetzlaff, DG Altman. PRISMA Group. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *Int J Surg.* 2010;8:336–41.
- (7) A Stang. Critical evaluation of the Newcastle-Ottawa scale for the assessment of the quality of nonrandomized studies in meta-analyses. *European Journal of Epidemiology.* 2010;25:603–05.
- (8) S Tugrul, A Kocyigit, R Dogan, S Baki Eren, E Senturk, O Ozturan, O Faruk Ozar. Total antioxidant status and oxidative stress in recurrent aphthous stomatitis. *International Journal of Dermatology* 2016;55:130–35.
- (9) A Ekinçi, E Demir, H Ekinçi. Serum prolidase and oxidative stress levels in patients with recurrent aphthous stomatitis: a prospective, controlled study. *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology* 2020;86:18-23.
- (10) Z Zhang, Q Zhang, Y Xue, G Chen, Z Wu, H Fang. Serum levels of total antioxidant status, nitric oxide and nitric oxide synthase in minor recurrent aphthous stomatitis patients. *Medicine.* 2019;98:e-14039.
- (11) S Arıkan, C Durusoy, N Akalin, A Haberal, D Seckin. Oxidant/antioxidant status in recurrent aphthous stomatitis. *Oral Diseases* 2009;15, 512–15.
- (12) MYB Çimen, TI Kaya, G Eskandari, U Tursen, G Ikizoglu, U Atik. Oxidant/antioxidant status in patients with recurrent aphthous stomatitis. *Clinical and Experimental Dermatology.* 2003;28:647-50.
- (13) N Babae, H Hosseinkazemi, M Pouramir, O Khakbaz Baboli, M Salehi, F Khadir, A Bijani, M Mehryari. Salivary oxidant/ antioxidant status and hematological parameters in patients with recurrent aphthous stomatitis. *Caspian J Intern Med.* 2016;7(1):13-18.
- (14) F Rezaei, T Soltani. Evaluation and Comparison of Total Antioxidant Capacity of Saliva Between Patients with Recurrent Aphthous Stomatitis and Healthy Subjects. *The Open Dentistry Journal.* 2018;12:303-09.

- (15) S ZiauDeen, R RavinDran. Assessment of Oxidant-Antioxidant Status and Stress Factor in Recurrent Aphthous Stomatitis Patients- Case Control Study. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2017;Vol-11(3): ZC01-04.
- (16) Y Karıncaoglu, K Batcıoglu, T Erdem, M Esrefoglu, M Genc. The levels of plasma and salivary antioxidants in the patient with recurrent aphthous stomatitis. *J Oral Pathol Med*. 2005;34:7–12.
- (17) S Saxena. Assessment of plasma and salivary antioxidant status in patients with recurrent aphthous stomatitis. *Revista Sul-Brasileira de Odontologia*. 2011;8:261-65.
- (18) Y Saral, B Kandi Coskun, P Ozturk, F Karatas, A Ayar. Assessment of salivary and serum antioxidant vitamins and lipid peroxidation in patients with recurrent aphthous ulceration. *Tohoku J. Exp. Med*. 2005;206:305-12.
- (19) FA Akalin, E Baltacıoglu, A Alver, E Karabulut. Lipid peroxidation levels and total oxidant status in serum, saliva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis. *Journal of Clinic Periodontology*. 2007;34:558–65.
- (20) OH García Morales, N Pereira Roche, RM Flores Sánchez. Enzimas generadoras de especies reactivas del oxígeno: mieloperoxidasa. *Rev Cubana Invest Bioméd*. 1998;17(3).
- (21) SO Akintoye, MS Greenberg. Recurrent Aphthous Stomatitis. *Dent Clin North Am*. 2014;58(2):281-97.
- (22) A Altenburg, MB Abdel-Naser, H Seeber, M Abdallah, CC Zouboulis. Practical aspects of management of recurrent aphthous stomatitis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2007;21:1019-26.
- (23) JK Willcox, SL Ash, GL Catignani. Antioxidants and prevention of chronic disease. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2004;44:275-95.
- (24) E Delilbasi, B Turan, E Yucel, R Sasmaz. Selenium and Behçet's disease. *Biol Trace Elem Res*. 1991;28:21–25.
- (25) J Carillon, J Rouanet, J Cristol, R Brion. Superoxide Dismutase Administration, A Potential Therapy Against Oxidative Stress Related Diseases: Several Routes of Supplementation and Proposal of an Original Mechanism of Action. *Pharm Res* 2013;30:2718–28.

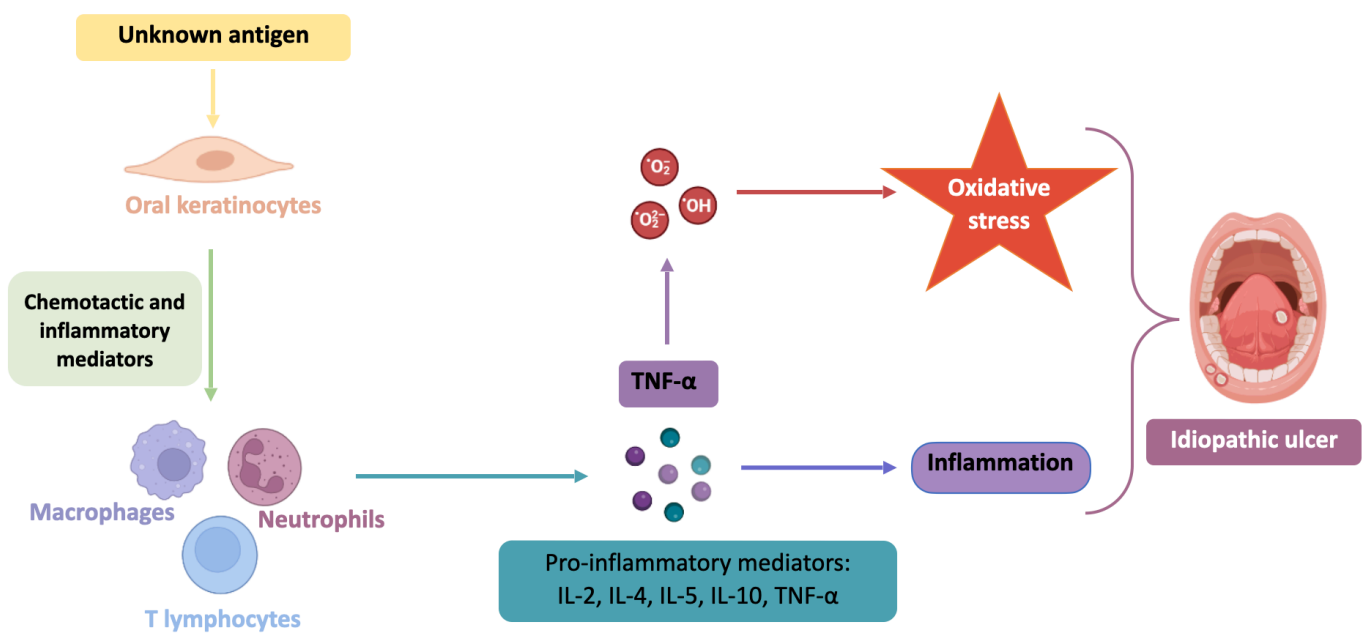


Figura 1. Inflammatory response to an antigen, which stimulates the production of reactive oxygen. This process ends with the appearance of oral ulcers. Image created with Biorender.

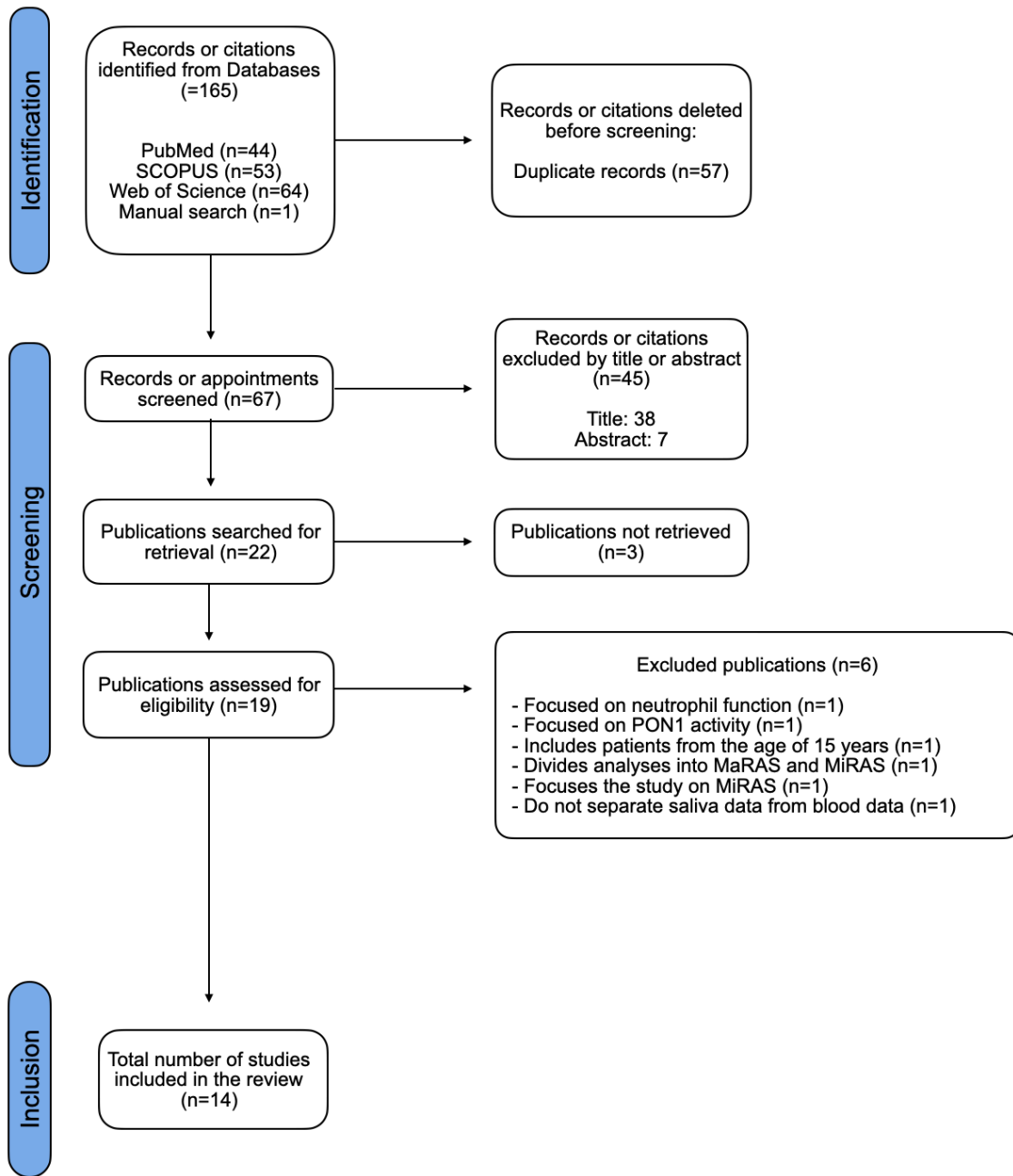


Figure 2. Search flow diagram and title selection process during the systematic review.

Table 1. Measurement of risk of bias of non-randomised observational studies with the Newcastle-Ottawa scale - observational studies with non-randomised control group (7).

	Case definition	Representativeness	Selection of controls	Definition of controls	Comparability (most important)	Comparability (other variables)	Exposure check	Same method for both groups	Drop-out rate	Total
Çaglayan y cols (1) 2008	★	★	-	★	★	-	★	★	★	7
Avci y cols (4) 2014	★	★	★	★	★	-	★	★	★	8
Bagan y cols (5) 2014	★	★	★	★	★	★	★	★	★	9
Tuguri y cols (8) 2016	★	★	-	★	★	-	★	★	★	7
Ekinci y cols (9) 2020	★	★	★	★	★	★	★	★	★	9
Zhang y cols (10) 2019	★	★	★	★	★	★	★	★	★	9
Arikan y cols (11) 2009	★	★	★	★	★	-	★	★	★	8
Çimen y cols (12) 2003	★	★	★	★	★	★	★	★	★	9
Babae y cols (13) 2016	★	★	★	★	★	-	★	★	★	8
Rezaei y cols (14) 2018	★	★	★	★	★	★	★	★	★	9
ZiauDeen y cols (15) 2017	★	★	★	★	★	★	★	★	★	9
Karincaoglu y cols (16) 2005	★	-	-	★	★	-	★	★	★	6
Saxena (17) 2011	★	★	★	★	★	-	★	★	★	8
Saral y cols (18) 2005	★	★	★	★	★	-	★	★	★	8

Table 2. Results of analyses on blood samples associated with the respective oxidative markers.

Authors	Case Group	Control Group	Oxidative Markers	Antioxidant Markers
Avci y cols (4) 2014	25	25	TOS (P>0,05), OSI (P<0,05)*, MDA (P>0,05), MPO (P>0,05), NO (P>0,05)	TAS (P>0,05), GSH (P<0,05)*
Bagan y cols (5) 2014	28	29	MDA (P<0,01)*, GSSG (P<0,01)*	GSH (P<0,01)*
Tugrul y cols (8) 2016	42	39	TOS (P=0,001)*, OSI (P=0,003)*, Daño ADN (P=0,001)*	TAS (0,035)*
Ekinci y cols (9) 2020	34	34	TOS (P=0,04)*, OSI (P=0,018)*	TAS (P=0,343), PON1 (P=0,218), Prolidase (P=0,955)
Zhang y cols (10) 2019	90	90	NO (P<0,03)*	TAS (P<0,03)*
Arikan y cols (11) 2009	26	20	MDA (P=0,000)*	GPx (P=0,000)*, Vit E (P=0,000)*
Çimen y cols (12) 2003	22	23	MDA in plasma (P<0,005)*; in erythrocytes (P>0,05)	GPx in erythrocytes (P<0,05)*, SOD (P>0,05), CAT in erythrocytes (P<0,05)*, AOP in plasma (P<0,005)*; in erythrocytes (P<0,05)*

TOS: total oxidative status; TAS: total antioxidant status; OSI: oxidative stress index; MDA: malondialdehyde; GSH: glutathione; GSSG: glutathione disulphide; PON1: paraxonase; MPO: myeloperoxidase; NO: nitric oxide; GPx: glutathione peroxidase; Vit E: vitamin E; SOD: superoxide dismutase; CAT: catalase; AOP: antioxidant power.

Table 3. Results of the analyses on salivary samples associated with the respective oxidative markers.

Authors	Case Group	Control Group	Oxidative Markers	Antioxidant Markers
Çaglayan y cols (1) 2008	50	25	TOS (P>0,05), OSI (P>0,05), MPO (P>0,05)	TAS (P>0,05)
Babae y cols (13) 2016	28	28	MDA (P<0,001)*	TAS (P<0,042)*
Rezaei y cols (14) 2018	27	28	-	TAS (P<0,034)*
ZiauDeen y cols (15) 2017	30	30	MDA (P=0,000)*	SOD (P=0,000)*, GPx (P=0,000)*, AU (P=0,000)*

TOS: total oxidative status; TAS: total antioxidant status; OSI: oxidative stress index; MPO: myeloperoxidase; MDA: malondialdehyde; SOD: superoxide dismutase; GPx: glutathione peroxidase; AU: uric acid.

Table 4. Results of analyses on blood and salivary samples associated with the respective oxidative markers.

Authors	Case Group	Control Group	Oxidative Markers	Antioxidant Markers
Karincaoglu et al (16) 2005	32	30	-	SOD y GPx (P<0,001)* in blood and saliva; CAT (P<0,05)* in blood and saliva; AU (P>0,05) in saliva
Saxena (17) 2011	40	40	-	SOD, CAT y GPx (P<0,001)* in blood and saliva; AU (P<0,001)* in blood and (P<0,05)* in saliva
Saral et al (18) 2005	30	20	MDA (P<0,005)* in blood and saliva	Vit A y Vit E (P<0,005)* in blood and saliva; Vit C (P<0,05)* in blood and saliva; Vit B12 (P<0,003)* in blood

SOD: superoxide dismutase; CAT: catalase; GPx: glutathione peroxidase; AU: uric acid; MDA: malondialdehyde; Vit A: vitamin A; Vit C: vitamin C; Vit E: vitamin E; VitB12: vitamin B12.

Efecto sistémico y local del estrés oxidativo sobre la estomatitis aftosa recurrente. Revisión Sistemática.

Giulia Rinaldi, Cristina Estornut Navarro

Grado en odontología en la Universidad Europea de Valencia

Resumen

Introducción: La estomatitis aftosa recurrente (RAS) es una enfermedad inflamatoria crónica y recurrente de la boca. Se caracteriza por la aparición de úlceras dolorosas en la mucosa bucal. Se cree que la RAS es una enfermedad multifactorial con predisposición genética, factores ambientales y alteraciones en el sistema inmunológico. El estrés oxidativo, causado por el desequilibrio entre los radicales libres y el sistema antioxidante, también parece estar implicado en la patogenia de la RAS. Varios factores de riesgo, como el tabaquismo, la deficiencia de hierro y vitaminas, y la ansiedad, pueden contribuir al desarrollo de la enfermedad. La comprensión de los mecanismos subyacentes puede ayudar en la prevención y tratamiento de la RAS.

Materiales y métodos: se realizó una búsqueda de artículos sobre estrés oxidativo en pacientes con RAS desde 2000 hasta 2022 en PubMed, Scopus y Web of Science. Se seleccionaron estudios que analizaran niveles de oxidantes y antioxidantes en sangre y saliva de pacientes con RAS y controles sanos.

Resultados: De 165 artículos potencialmente elegibles, 14 cumplieron con los criterios de inclusión: 7 estudios sobre muestras sanguíneas, 3 sobre muestras salivares y 4 sobre muestras sanguíneas y salivares. Se evaluaron múltiples marcadores oxidantes y antioxidantes en muestras de sangre y saliva. En general, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de casos y controles para la mayoría de los marcadores, asumiendo un Valor $P < 0,05$ como estadísticamente significativo para considerar niveles aumentados de estrés oxidativo. Además, se observó un mayor daño oxidativo del ADN en los pacientes con RAS.

Conclusión: Los pacientes con RAS muestran mayores niveles de estrés oxidativo en comparación con los controles sanos, con un aumento significativo de los marcadores oxidantes y una disminución significativa de las defensas antioxidantes en muestras de saliva y sangre.

Palabras clave: estomatitis aftosa recurrente, úlcera aftosa recurrente, estrés oxidativo, marcadores oxidantes, marcadores antioxidantes, estado oxidante.

Introducción

La estomatitis aftosa recurrente (RAS) es una enfermedad inflamatoria crónica y recurrente caracterizada por la presencia de úlceras orales dolorosas. Aunque su etiología exacta aún se desconoce, se cree que múltiples factores, como la predisposición genética, factores inmunológicos, deficiencias nutricionales y factores de estilo de vida, contribuyen al desarrollo de la enfermedad. En los últimos años, se ha sugerido que el estrés oxidativo puede desempeñar un papel en el desarrollo de la RAS. El estrés oxidativo se caracteriza por un desequilibrio entre los radicales libres y los antioxidantes en el organismo, lo que conduce a daño celular y a procesos inflamatorios (1, 2).

En la Figura 1 se representa gráficamente el proceso de respuesta inflamatoria a un antígeno, que estimula la producción de oxígeno reactivo.

La presencia de estrés oxidativo en múltiples enfermedades sistémicas, inmunológicas, malignas, premalignas y especialmente inflamatorias es una realidad bien conocida (3). Varios estudios han evaluado la relación del estrés oxidativo y RAS, reportando unas alteraciones en los niveles de oxidantes y antioxidantes en los pacientes con RAS (3, 4, 2).

En las últimas décadas no se han encontrado nuevas perspectivas con respecto al conocimiento de la etiología, diagnóstico y tratamiento del RAS (5). Esto representa el principal motivo por el cual los expertos y profesionales de la salud siguen intentando comprender mejor los procesos involucrados en esta patología bucal. Por estas razones, se considera conveniente realizar esta revisión, ya que constituye una actualización y contextualización sobre el tema y favorece investigaciones posteriores que aún son necesarias para entender, detener y prevenir la aparición de estrés oxidativo en pacientes con RAS.

Este artículo científico tiene como objetivo general evaluar la presencia de estrés oxidativo mediante la medición de sus marcadores en pacientes afectados por RAS en comparación con los pacientes controles sanos, en muestras salivares y sanguíneas.

Materiales y métodos

La presente revisión sistemática se llevó a cabo siguiendo la declaración de la Guía PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analysis) (6).

Además, se registró el trabajo sobre el registro prospectivo internacional de revisiones sistemáticas PROSPERO, con el número de registro CRD42023428946.

Basándose en el objetivo de la presente revisión sistemática, se intentó responder a la siguiente pregunta de investigación: ¿Existe una asociación entre las variaciones en los niveles de oxidantes y antioxidantes, en sangre y saliva, y la enfermedad estomatitis aftosa recurrente? Esta pregunta de estudio se estableció de acuerdo con el diseño de estudio de población, intervención, comparación y resultado (PICO), en la que P corresponde a pacientes afectados por estomatitis aftosa recurrente; I a la medición de marcadores oxidantes y antioxidantes en muestras de sangre y saliva; C a pacientes controles sanos; O a las concentraciones de marcadores de estrés oxidativo en muestras salivares y sanguíneas de pacientes con estomatitis aftosa recurrente y controles sanos.

Se llevó a cabo una búsqueda automatizada en las tres bases de datos anteriormente citadas, utilizando las combinaciones de los siguientes términos del Medical Subject Heading (MeSH) y palabras de texto: ("Stomatitis, Aphthous"[MeSH Terms] OR recurrent aphthous stomatitis OR "oral ulcer"[MeSH Terms] OR recurrent aphthous ulceration OR recurrent aphthous ulcer OR Aphthous Ulcer) AND ("oxidative stress"[MeSH terms] OR antioxidant markers OR oxidant markers OR antioxidant status OR antioxidant levels OR ROS OR RNS OR nitrosative stress) Filters: Humans, English, Italian, Spanish, from 2000 - 2022. Con el fin de identificar cualquier estudio elegible que la búsqueda inicial podría haber perdido, se revisaron las referencias bibliográficas de los estudios seleccionados y se realizaron búsquedas manuales en revistas científicas específicas.

Los criterios de inclusión utilizados en esta revisión comprenden diferentes aspectos relacionados con el tipo de estudio, tipo de paciente, tipo de intervención y tipo de variables de resultados. En cuanto al tipo de estudio, se consideraron ensayos clínicos aleatorizados controlados, estudios de cohortes prospectivos y retrospectivos, y estudios casos-contrroles. Además, se incluyeron publicaciones en inglés, español e italiano, y se limitaron a artículos publicados desde el año 2000 hasta el año 2022.

En relación al tipo de paciente, se seleccionaron aquellos con episodios de estomatitis aftosa recurrente (RAS) repetidos al menos tres veces durante un año. Los estudios debían centrarse en pacientes adultos, con un número de participantes mayor o igual a 5 e inferior a 70. Se consideraron tanto pacientes enfermos como pacientes sanos para comparar los resultados. La intervención requerida consistió en la medición del estrés oxidativo mediante sus principales marcadores en muestras de sangre y saliva. Además,

se solicitó un seguimiento mínimo que correspondiera al periodo de afectación por RAS, para garantizar la relevancia de los resultados. En cuanto a las variables de resultados, se buscaron estudios que proporcionaran datos relacionados con la medición de biomarcadores oxidantes y antioxidantes, la asociación entre estrés oxidativo y RAS, y el estrés oxidativo como factor etiopatogénico del RAS.

Por otro lado, se establecieron criterios de exclusión para evitar la inclusión de estudios duplicados y aquellos que trataran el RAS como un signo clínico de enfermedades sistémicas subyacentes. También se excluyeron pacientes con enfermedades sistémicas, aquellos que recibieron tratamientos terapéuticos o a nivel sistémico, y aquellos que tomaban suplementos vitamínicos. Otros criterios de exclusión fueron pacientes con antecedentes de traumatismos, mujeres durante el embarazo o lactancia, pacientes con enfermedad periodontal y pacientes con hábito tabáquico.

La selección de estudios se dividió en tres etapas, donde se utilizaron criterios de selección según el título, resumen y lectura completa de los artículos. Dos revisores (GR, CEN) llevaron a cabo esta selección, y no hubo desacuerdos entre ellos.

La valoración del riesgo de sesgo fue evaluada por los dos revisores (GR, CEN) con el objetivo de analizar la calidad metodológica de los artículos incluidos.

Para la evaluación de la calidad de los estudios observacionales, tipo caso-control, se utilizó la guía Newcastle-Ottawa, donde se tuvieron en cuenta los siguientes criterios: definición de los casos, representatividad, selección de los controles, definición de los controles, compatibilidad, comprobación de la exposición, mismo método para ambos grupos y tasa de abandono (7). Todos los estudios, a excepción de uno, fueron considerados de bajo riesgo de sesgo y obtuvieron una puntuación desde 7 hasta 9 (puntuación máxima) (Tabla 1).

Resultados

Se obtuvieron un total de 165 artículos en el proceso de la búsqueda inicial y se obtuvo 1 estudio adicional a través de la búsqueda manual. De esta publicaciones, 57 fueron duplicadas y 22 fueron consideradas potencialmente elegibles mediante el cribado de títulos y resúmenes. De estos, solo 14 artículos cumplieron con los criterios de inclusión y fueron incluidos en la presente revisión sistemática (Figura 2). El valor k para el acuerdo interexaminador sobre la inclusión de los estudios fue de 0,92 (títulos y resúmenes) y 1,0 (textos completos) lo que indica un acuerdo “bueno” y “completo”, respectivamente, según los criterios de Landis y Koch (45).

Se trataron un total de 795 pacientes, equitativamente divididos entre grupos RAS y grupos control y se analizaron un total de 17 marcadores oxidativos (GPx, CAT, MDA, AOP, PON1, OSI, prolidasa, TOS, TAS o TAC, MPO, GSH, GSGG, NO, Se, Vitaminas, AU, daño oxidativo en ADN).

Durante el proceso de evaluación de calidad metodológica y riesgo de sesgo, casi todos los artículos fueron considerados de bajo riesgo de sesgo y todos obtuvieron una puntuación desde 7 hasta 9 (puntuación máxima). Solo uno fue considerado de alto riesgo de sesgo y obtuve una puntuación de 6.

En relación a la presencia de estrés oxidativo en pacientes afectados por RAS, en todas las comparaciones y correlaciones, fue establecido un Valor $P < 0,05$ como estadísticamente significativo para considerar niveles aumentados de estrés oxidativo.

Diversos estudios analizaron los niveles de los marcadores de estrés oxidativo únicamente en muestras sanguíneas.

Los valores obtenidos del análisis sobre TOS fueron de $3,97 \pm 1,34$ (4), $10,69 \pm 1,43$ (8), $5,19 \pm 8,26$ (9) en los grupos casos y de $3,54 \pm 0,67$ (4), $2,90 \pm 6,06$ (8), $2,90 \pm 6,06$ (9) en los grupos controles, obteniendo diferencias significativas en dos de los estudios (8, 9) y no significativa en otro de ellos (4).

Para los grupos casos, TAS reveló valores medios de $2,05 \pm 0,38$ (4), $2,19 \pm 0,38$ (8), $1,14 \pm 0,19$ (9) y $2,61 \pm 0,78$ (10), y de $2,15 \pm 0,32$ (4), $3,07 \pm 0,53$ (8), $1,09 \pm 0,17$ (9), $3,08 \pm 0,49$ (10) para los grupos controles. Se obtuvieron diferencias significativas en todos los estudios, con valores mayores en el grupo de controles. Los valores medios obtenidos para el marcador OSI en el grupo de casos fueron $0,019 \pm 0,03$ (4), $4,88 \pm 1,43$ (8), $0,48 \pm 0,81$ (9), y $0,016 \pm 0,01$ (4), $1,73 \pm 0,76$ (8), $0,28 \pm 0,63$ (9) para los grupos controles, obteniendo diferencias significativas en la totalidad de los estudios, con valores superiores en los pacientes con RAS.

Los análisis centradas en evaluar el posible daño causado por el estrés oxidativo sobre el ADN, reportaron un valor medio en el grupo caso de $27,47 \pm 9,57$, mientras que en el grupo control fue de $13,73 \pm 7,28$ (8). El daño oxidativo sobre el ADN en el grupo de los pacientes fue significativamente mayor que en el caso de los controles.

Los valores medios obtenidos de los análisis de MDA en los grupos casos fueron $1,20 \pm 0,78$ (4), $1,49 \pm 0,46$ (5), $0,97 \pm 0,33$ (11) y $3,89 \pm 1,34$ (12), y $0,76 \pm 0,20$ (4), $0,17 \pm 0,06$ (5), $0,54 \pm 0,23$ (11) y $2,67 \pm 1,13$ (12) en los grupos control. Se evaluó también la presencia de MDA en eritrocitos, en el que se obtuvo un valor medio de $6,90 \pm 1,79$ en el grupo de los pacientes y de $6,82 \pm 0,78$ en el grupo control (12).

En todos los estudios se obtuvieron diferencias significativas (5, 11, 12), con niveles de MDA significativamente mayores en los pacientes con RAS. En el artículo restante, las diferencias no resultaron significativas, así como en los análisis realizados sobre eritrocitos (4, 12).

Los valores medios para GSH en grupos casos fueron $864,26 \pm 102,04$ (4) y $5,95 \pm 2,77$ (5), y $684,20 \pm 63,60$ (4) y $21,00 \pm 3,44$ (5) para los grupos controles. El análisis estadístico mostró diferencias singificativas, con valores mayores en el grupo control en un estudio (5) mientras que, en el otro, los valores del marcador eran mayores en los pacientes con RAS (4).

Los valores obtenidos de la medición de GSSG, eran mayores en los pacientes con RAS ($7,85 \pm 2,23$) con respecto a los casos controles (0,23 \pm 0,03), y el análisis estadístico mostró que estas diferencias eran significativas (5).

En cuanto a los análisis sobre otros marcadores, los valores obtenidos en el grupo de los pacientes con RAS fueron $18,74 \pm 3,66$ para MPO (4), mientras que NO resultó de $16,41 \pm 2,32$ (4) y $60,08 \pm 23,75$ (10). En los grupos controles se obtuvieron los siguientes valores $17,51 \pm 3,88$ para MPO (4), y $19,84 \pm 4,96$ (4) y $46,45 \pm 13,01$ (10) para NO. Solo en el estudio realizado por Zhang y cols (10) se observaron diferencias significativas entre grupos casos y controles, en cuanto los pacientes con RAS mostraban mayores niveles del marcador NO.

Según los análisis realizados en los grupos casos, los valores medios de GPx fueron $20,4 \pm 2,68$ (11) y $14,24 \pm 3,49$ (12), mientras que en los grupos controles se obtuvieron valores medios iguales a $25,9 \pm 2,55$ (11) y $18,04 \pm 7,25$ (12). En ambos artículos, se encontraron diferencias significativas, con niveles mayores de GPx en el caso de los controles (11, 12). Se evaluaron también los valores de Vit E, cuyos valores medios obtenidos fueron $0,74 \pm 0,88$ en los pacientes con RAS y $0,99 \pm 0,02$ en los controles (11). Los grupos controles tenían mayores niveles de Vit E y esta diferencia fue estadísticamente significativa (11). Finalmente, en otro estudio se evaluaron los marcadores CAT y AOP, tanto en plasma como en eritrocitos aislados (12). Los valores relativos a los ensayos con plasma para el grupo casos fueron $0,058 \pm 0,02$ para AOP, mientras que los valores relativos a los grupos controles fueron $0,085 \pm 0,04$ para AOP (12). Por otro lado, los valores obtenidos en los ensayos realizados con eritrocitos para los grupos casos fueron $30\ 428 \pm 6616$ para CAT y $0,0085 \pm 0,013$ para AOP; los valores relativos a los grupos controles fueron $34\ 420 \pm 6562$ para CAT y $0,0135 \pm 0,002$ para AOP (12). En todos los casos, los análisis mostraron diferencias estadísticamente significativas.

Los resultados de los análisis de los marcadores oxidativos sobre muestras sanguíneas se presentan en la Tabla 2.

Otra serie de estudios analizaron marcadores de estrés oxidativo únicamente en muestras de saliva. Se observaron niveles elevados de estrés oxidativo en los pacientes con RAS, a excepción de un solo estudio en el que no se obtuvieron resultados estadísticamente relevantes (1).

Se analizaron los valores relativos a TAS también en otros dos estudios y resultaron valores de $0,18 \pm 0,12$ (13) y $0,26 \pm 0,16$ (14) en los pacientes con RAS y de $0,26 \pm 0,14$ (13) y $0,24 \pm 0,13$ (14) en los grupos controles. En este caso, sí que se observaron diferencias estadísticamente significativas, resultando mayores niveles del marcador antioxidante TAS en sujetos controles respecto a los pacientes con RAS.

Los resultados relativos a MDA, fueron estadísticamente significativos: los grupos casos obtuvieron valores de $1,16 \pm 0,86$ (13) y $1,45 \pm 0,55$ (15), y los grupos controles de $0,47 \pm 0,53$ (13) y $0,95 \pm 0,28$ (15). Se observaron diferencias estadísticamente significativas, con niveles de MDA aumentados en los pacientes con RAS respecto a los sujetos control.

Por último, los valores obtenidos en el grupo casos fueron $1,60 \pm 0,39$ para GPx, $3,99 \pm 1,59$ para AU y $1,27 \pm 0,48$ para SOD; en el grupo control los valores fueron $2,19 \pm 0,62$ para GPx, $5,79 \pm 1,61$ para AU y $0,72 \pm 0,41$ para SOD (15). Para los tres marcadores, las diferencias resultaron estadísticamente significativas, al ser los niveles de los marcadores GPx y AU disminuidos en los pacientes con RAS, mientras que los niveles de SOD eran mayores en el caso de los pacientes con RAS.

Los resultados de los análisis de los marcadores oxidativos sobre muestras salivares se presentan en la Tabla 3.

Por último, tres de los estudios seleccionados analizaron los marcadores en muestras tanto sanguíneas como salivares. Todos los valores P de los marcadores analizados, excepto uno, resultaron estadísticamente significativos, por lo que se consideró que habían unos mayores niveles de estrés oxidativo en los pacientes RAS respecto a los sujetos sanos.

En cuanto a los análisis en muestras de sangre, los valores obtenidos fueron: para el marcador SOD de $1347,33 \pm 22,16$ (16) y $1325,27 \pm 15,74$ (17) en los grupos casos, mientras que en los grupos controles fueron de $1567,31 \pm 37,51$ (16) y $1597,24 \pm 11,51$ (17); los valores de GPx fueron $24,62 \pm 1,27$ (16) y $20,31 \pm 0,61$ (17) en los grupos casos y $19,01 \pm 0,67$ (16) y $17,33 \pm 0,74$ (17) en los grupos controles; los valores de CAT en los

grupos fueron $208,81 \pm 6,91$ (16) y $201,11 \pm 1,86$ (17), mientras que en los grupos controles fueron $227,11 \pm 4,62$ (16) y $224,01 \pm 1,27$ (17); para el marcador AU se obtuvo un valor medio de $3,66 \pm 0,59$ para el grupo casos y un valor medio de $6,35 \pm 0,86$ para el grupo control (17). Finalmente, en los grupos casos, se obtuvieron valores medios de $3,31 \pm 0,70$ para MDA, $0,60 \pm 0,13$ para Vit A, $7,68 \pm 1,43$ para Vit C, $6,92 \pm 1,30$ para Vit E y $229,2 \pm 22,2$ para VitB12; los mismos análisis realizados en el grupo control presentaron valores medios de $1,68 \pm 0,44$ para MDA, $0,72 \pm 0,14$ para Vit A, $8,95 \pm 1,66$ para Vit C, $8,27 \pm 1,60$ para Vit E y $339,8 \pm 31,4$ para Vit B12 (14).

En cuanto a los análisis en muestras salivares, los valores obtenidos fueron: para el marcador SOD de $0,86 \pm 0,04$ (16) y $1,40 \pm 0,09$ (17) en los grupos casos, mientras que en los grupos controles fueron de $0,56 \pm 0,11$ (16) y $0,73 \pm 0,05$ (17); los valores de GPx fueron de $1,70 \pm 0,14$ (16) y $1,55 \pm 0,03$ (17) para los grupos casos y de $2,88 \pm 0,18$ (16) y $2,36 \pm 0,04$ (17) en los grupos controles; los valores relativos a CAT en los grupos casos fueron $0,90 \pm 0,04$ (16) y $0,96 \pm 0,05$ (17), mientras que para los grupos controles fueron de $0,78 \pm 0,03$ (16) y $0,76 \pm 0,03$ (17); para el marcador AU se obtuvieron valores de $6,31 \pm 3,29$ (16) y $6,58 \pm 0,72$ (17) en los grupos casos y $5,26 \pm 2,87462$ (16) y $6,28 \pm 0,57$ (17) en los grupos controles. Finalmente, en los grupos casos, se obtuvieron valores iguales a $0,48 \pm 0,16$ para MDA, $16,80 \pm 5,08$ para Vit A, $0,83 \pm 0,26$ para Vit C y $0,26 \pm 0,10$ para Vit E; respecto a los grupos controles, estos valores fueron de $0,28 \pm 0,12$ para MDA, $28,5 \pm 0,21$ para Vit A, $1,04 \pm 0,11$ para Vit C y $0,40 \pm 0,11$ para Vit E (14).

Los dos estudios revisados en los que se analizan los niveles de SOD, GPx y CAT, mostraron diferencias estadísticamente significativas, con algunas divergencias: en el caso de SOD Y CAT, las muestras sanguíneas presentaban niveles superiores de los marcadores en sujetos sanos respecto a los pacientes con RAS, mientras que en las muestras salivares habían niveles aumentados de los pacientes con RAS (16, 17). En el caso de GPx se obtuvieron niveles aumentados en los pacientes con RAS en muestras sanguíneas, sin embargo, estos niveles estaban disminuidos en muestras de saliva de estos mismos pacientes (17).

En el caso de AU, los pacientes con RAS mostraron valores menores del marcador en análisis sanguíneas (17), mientras que, en los estudios sobre muestras salivares, son los pacientes con RAS los que tienen mayores niveles del marcador AU (16, 17).

Por otra parte, en los análisis de ambos tipos de muestras, se observó como los niveles de MDA eran mayores en los pacientes con RAS, mientras que los niveles de vitaminas eran todos menores en el caso de estos pacientes (14).

Los resultados de los análisis de los marcadores oxidativos sobre muestras sanguíneas y salivares se presentan en la Tabla 4.

Discusión

El objetivo general de este trabajo, ha sido evaluar la presencia de estrés oxidativo mediante el incremento o la disminución de sus diferentes marcadores. De forma secundaria, este trabajo permite interpretar el papel del estrés oxidativo como otro factor etiopatogénico del RAS. Hasta ahora, se desconoce el mecanismo de acción de los radicales libres en esta enfermedad, ya que las alteraciones en los marcadores de estrés oxidativo son solo detectables cuando el cuadro clínico es avanzado. Asimismo, muchos estudios reportan una asociación directa entre estrés oxidativo y un estado inflamatorio del organismo (3, 5, 12). Efectivamente, a pesar de que los signos clínicos del RAS se manifiestan a nivel oral, es ampliamente reconocido que esta enfermedad tiene repercusiones tanto a nivel local, como sistémico. Por supuesto, la alteración de los parámetros sanguíneos en pacientes afectados, ha sido señalado como uno de los factores mas relevantes en la aparición del RAS (14).

Varios estudios aportan niveles aumentados de TOS y OSI en muestras sanguíneas, lo que sugiere un incremento del estado oxidativo total del organismo (4, 8, 9). A partir de esto, también se supone que los niveles inalterados de PON1 y prolidasa no indican inexistencia de estrés oxidativo, sino que el proceso de curación acelerado en el RAS, no permite detectar alteraciones significativas (9). Por otra parte, el incremento del marcador MDA está estrechamente relacionado con el descenso de AOP, la ratio GSH/GSSG y con el aumento de los niveles de GSH, que a su vez justifica el incremento de TOS en pacientes con RAS (4, 5, 12). Por supuesto, MDA es uno de los más importantes productos de la peroxidación lipídica y, de hecho, las mediciones de estrés oxidativo se basan en la estimación de los productos del daño lipídico, proteico y sobre ADN (19). Dicho daño está también estrechamente relacionado con la detección de valores aumentados de TOS y OSI y, en el estudio realizado por Tuguri y cols, los valores relativos al daño del ADN resultan significativamente aumentados en pacientes con RAS (8). El marcador TAS obtuvo resultados contradictorios y, particularmente en el estudio de Rezaei y cols, los pacientes con RAS presentan un aumento significativo en los niveles de TAS solo en la fase de curación de la úlcera oral (14). Se supone que para contrastar la evolución del RAS, el organismo envíe una mayor cantidad de defensas antioxidantes directamente a la parte afectada (16). En este sentido, el incremento en las concentraciones de TAS podrían ser considerados como un mecanismo de defensa frente

a los procesos inflamatorios del RAS. Paralelamente, este mismo fenómeno se detecta para la SOD y el AU, en los resultados relativos a muestra salivares (15, 16). Por tanto, el incremento en las concentraciones salivares de TAS, SOD y AU podrían ser consideradas como un mecanismo de defensa frente a los procesos inflamatorios del RAS. Contrariamente, en otras muestras de sangre (12 - 17), y también de saliva para el AU (15), las concentraciones de estos marcadores resultan disminuidas para pacientes con RAS. Se asume que la infiltración de células inmunitarias a la zona de la lesión ulcerativa provoca un considerable incremento del estrés oxidativo y de consecuencia disminuyeron los valores asociados a los factores antioxidantes.

Tanto en saliva como en sangre, el marcador oxidativo MPO no parece mostrar niveles significativamente alterados para justificar la presencia de estrés oxidativo en sujetos enfermos (1, 4). El MPO constituye del 2-5 % de las proteínas de los neutrófilos y por esto, en las enfermedades inflamatorias e infecciosas, el incremento de MPO siempre es proporcional al número de neutrofilos infiltrados en los tejidos (20). Sin embargo, al no tener niveles suficientemente alterados de MPO, no podemos considerar este marcador como involucrado en el proceso fisiopatológico del RAS.

En todos los estudios evaluados, los valores tanto de GPx (11, 12 - 17) como de CAT (12 - 17) resultan significativamente disminuidos. Por tanto, al ser estos valores significativamente alterados, se asume una mayor actividad enzimática causada por un aumento de radicales libres o bien la inhibición de estas enzimas provocada por sustancias inhibitoras contenidas en la sangre de pacientes con RAS (11, 12 - 17).

Finalmente, los artículos que analizan los niveles de vitaminas en sangre y en saliva, aportan resultados similares que concuerdan sobre la disminución significativa de los valores de antioxidantes no enzimáticos como Vit E, Vit A, Vit C, Vit B12 en pacientes con RAS (11, 14). Es importante destacar que concentraciones alteradas de estos factores, pueden modificar la susceptibilidad individual a determinadas enfermedades como el RAS e incluso modificar la evolución o el curso clínico de la enfermedad, actuando como factores precipitantes o protectores (21).

Indudablemente, en la mayoría de los pacientes enfermos en comparación con los pacientes sanos, se encontró una presencia elevada de moléculas oxidantes, por lo que el sistema antioxidante se ha visto afectado. Por lo tanto, reducir el estrés oxidativo podría ser una estrategia eficaz para prevenir y tratar la RAS. Sin embargo, tal como se ha mencionado en este mismo trabajo existen resultados contradictorios entre varios de los estudios revisados, especialmente entre muestras de sangre y saliva. Estas controversias pueden estar asociadas a numerosos factores como las variaciones del tamaño de las

muestras, la aplicación de diversos métodos, la divergencia genética de cada población, los hábitos orales, la duración del sueño, las condiciones de higiene bucal, las fluctuaciones hormonales en las mujeres y el estado psicológico de los pacientes. Únicamente el estudio realizado por ZiauDeen y RavinDran consideró el índice de estrés emocional reportado por los pacientes, que resultó significativamente aumentado (15). Además, los diferentes macros y micronutrientes metabolizados a través de la dieta, son diferentes en cada individuo y esto podría explicar también la variación de la composición y capacidad antioxidante de los individuos.

Al día de hoy, no se ha demostrado si un estado oxidativo alterado se puede realmente aceptar como causa principal y primaria de la aparición de RAS. Sino que se plantean dos posibles escenarios: el primero, según el cual el RAS desencadenaría las reacciones oxidativas; el segundo, según el cual los radicales libres serían los responsables de la origen y desarrollo del RAS, siempre y cuando haya un desequilibrio entre oxidantes y antioxidantes.

Posibles medidas de prevención y tratamiento

Como se ha visto a lo largo del presente trabajo, el RAS tiene una etiopatogénia incierta pero seguramente multifactorial, por lo que carece de un verdadero tratamiento curativo y se apoya en terapias paliativas, cuyos objetivos principales son acelerar la curación de la lesión, disminuir la frecuencia de sus recidivas y aliviar el dolor. Actualmente, el tratamiento tradicional de estas lesiones es de tipo sintomático, mediante el suministro de tratamientos tópicos o sistémicos, dependiendo prevalentemente de la cantidad y tamaño de las úlceras y de las frecuencias de recidiva de los brotes (22).

En los últimos años, se han valorado otras soluciones preventivas y terapéuticas que pudiesen contrarrestar, en primer lugar, los radicales libres y su mecanismo de acción implicado en el desarrollo del RAS. Se recomienda el implemento de una terapia y de una dieta rica en antioxidantes para prevenir y disminuir el deterioro celular provocado por las ERO (23). Por supuesto, según algunos estudios, el suplemento de selenio en asociación con el ácido ascórbico puede reforzar las defensas antioxidantes sanguíneas y proporcionar una mayor eficacia terapéutica efectiva para pacientes con RAS (24). Efectivamente, en el estudio de Arikan y cols, se encuentran niveles disminuidos de selenio en sangre, lo que deja pensar que una eventual suplementación con factores antioxidantes, pueda reforzar la defensa antioxidante sanguínea y proporcionar una mayor eficacia terapéutica beneficiosa para el RAS (11). La vitamina C y el betacaroteno, el cual

se transforma en dos moléculas de vitamina A, reducen el daño oxidativo celular y por esto se le atribuyen capacidades anti-carcinogénicas, siendo a menudo capaces de recuperar el daño oxidativo en el ADN (8, 23). Por otro lado, el suplemento de la enzima SOD parece aliviar, entre otras, las enfermedades inflamatorias como el RAS (25). La inducción de una defensa antioxidante endógena como la SOD, podría representar un nuevo tratamiento potencial para disminuir los niveles de estrés oxidativo y, consecuentemente, de inflamación producidos en esta enfermedad (25).

A pesar de la evidencia científica presente hasta el momento sobre los beneficios de los antioxidantes, sus funciones son muchos más complejas que la simple función de atrapar radicales libres y un suplemento dietético podría, por otro lado, perturbar el equilibrio natural del sistema redox. Por esta razón, todavía quedan interrogantes y se necesitan aún más investigaciones sobre las nuevas técnicas terapéuticas dirigidas a contrarrestar las ERO.

Agradecimientos

Este estudio ha contado con el apoyo de la Universidad Europea de Valencia.

Financiación

Esta investigación no ha recibido ninguna subvención específica de organismos de financiación de los sectores públicos, comerciales o sin ánimo de lucro.

Conflicto de intereses

Los autores no tienen conflictos de intereses que declarar.

Bibliografía

- (1) F Çaglayan, O Miloglu, O Altun, O Erel, AB Yilmaz. Oxidative stress and myeloperoxidase levels in saliva of patients with recurrent aphthous stomatitis. *Oral Diseases* 2008; 700–04.
- (2) AL Guimarães, JF Correia-Silva, AR De Sá, JM Netto Victória, M Gonçalves Diniz, F Oliveira Costa, RS Gomez. Investigation of functional gene polymorphisms IL-1 β , IL-6, IL-10 and TNF- α in individuals with recurrent aphthous stomatitis. *Arch Oral Biol* 2007; 52:268-72.

- (3) N Sardaro, F Della Vella, M Incalza, D Di Stasio, A Lucchese, M Contaldo, C Laudadio, M Petruzzi. Oxidative Stress and Oral Mucosal Diseases: An Overview. *In Vivo* 2019; 33:289-96.
- (4) E Avci, ZZ Akarlan, H Erten, S Coskun-Cevher. Oxidative stress and cellular immunity in patients with recurrent aphthous ulcers. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 2014;47(5): 355-60.
- (5) J Bagan, G Saez, C Tormos, C Gavalda, JM Sanchis, L Bagan, C Scully. Oxidative stress and recurrent aphthous stomatitis. *Clin Oral Invest* 2014
- (6) D Moher, A Liberati, J Tetzlaff, DG Altman. PRISMA Group. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *Int J Surg.* 2010;8:336–41.
- (7) A Stang. Critical evaluation of the Newcastle-Ottawa scale for the assessment of the quality of nonrandomized studies in meta-analyses. *European Journal of Epidemiology.* 2010;25:603–05.
- (8) S Tugrul, A Kocyigit, R Dogan, S Baki Eren, E Senturk, O Ozturan, O Faruk Ozar. Total antioxidant status and oxidative stress in recurrent aphthous stomatitis. *International Journal of Dermatology* 2016;55:130–35.
- (9) A Ekinici, E Demir, H Ekinici. Serum prolidase and oxidative stress levels in patients with recurrent aphthous stomatitis: a prospective, controlled study. *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology* 2020;86:18-23.
- (10) Z Zhang, Q Zhang, Y Xue, G Chen, Z Wu, H Fang. Serum levels of total antioxidant status, nitric oxide and nitric oxide synthase in minor recurrent aphthous stomatitis patients. *Medicine.* 2019;98:e-14039.
- (11) S Arıkan, C Durusoy, N Akalin, A Haberal, D Seckin. Oxidant/antioxidant status in recurrent aphthous stomatitis. *Oral Diseases* 2009;15, 512–15.
- (12) MYB Çimen, TI Kaya, G Eskandari, U Tursen, G Ikizoglu, U Atik. Oxidant/antioxidant status in patients with recurrent aphthous stomatitis. *Clinical and Experimental Dermatology.* 2003;28:647-50.
- (13) N Babae, H Hosseinkazemi, M Pouramir, O Khakbaz Baboli, M Salehi, F Khadir, A Bijani, M Mehryari. Salivary oxidant/ antioxidant status and hematological parameters in patients with recurrent aphthous stomatitis. *Caspian J Intern Med.* 2016;7(1):13-18.
- (14) F Rezaei, T Soltani. Evaluation and Comparison of Total Antioxidant Capacity of Saliva Between Patients with Recurrent Aphthous Stomatitis and Healthy Subjects. *The Open Dentistry Journal.* 2018;12:303-09.

- (15) S ZiauDeen, R RavinDran. Assessment of Oxidant-Antioxidant Status and Stress Factor in Recurrent Aphthous Stomatitis Patients- Case Control Study. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2017;Vol-11(3): ZC01-04.
- (16) Y Karıncaoglu, K Batcıoglu, T Erdem, M Esrefoglu, M Genc. The levels of plasma and salivary antioxidants in the patient with recurrent aphthous stomatitis. *J Oral Pathol Med*. 2005;34:7–12.
- (17) S Saxena. Assessment of plasma and salivary antioxidant status in patients with recurrent aphthous stomatitis. *Revista Sul-Brasileira de Odontologia*. 2011;8:261-65.
- (18) Y Saral, B Kandi Coskun, P Ozturk, F Karatas, A Ayar. Assessment of salivary and serum antioxidant vitamins and lipid peroxidation in patients with recurrent aphthous ulceration. *Tohoku J. Exp. Med*. 2005;206:305-12.
- (19) FA Akalin, E Baltacıoglu, A Alver, E Karabulut. Lipid peroxidation levels and total oxidant status in serum, saliva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis. *Journal of Clinic Periodontology*. 2007;34:558–65.
- (20) OH García Morales, N Pereira Roche, RM Flores Sánchez. Enzimas generadoras de especies reactivas del oxígeno: mieloperoxidasa. *Rev Cubana Invest Bioméd*. 1998;17(3).
- (21) SO Akintoye, MS Greenberg. Recurrent Aphthous Stomatitis. *Dent Clin North Am*. 2014;58(2):281-97.
- (22) A Altenburg, MB Abdel-Naser, H Seeber, M Abdallah, CC Zouboulis. Practical aspects of management of recurrent aphthous stomatitis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2007;21:1019-26.
- (23) JK Willcox, SL Ash, GL Catignani. Antioxidants and prevention of chronic disease. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2004;44:275-95.
- (24) E Delilbasi, B Turan, E Yucel, R Sasmaz. Selenium and Behçet's disease. *Biol Trace Elem Res*. 1991;28:21–25.
- (25) J Carillon, J Rouanet, J Cristol, R Brion. Superoxide Dismutase Administration, A Potential Therapy Against Oxidative Stress Related Diseases: Several Routes of Supplementation and Proposal of an Original Mechanism of Action. *Pharm Res* 2013;30:2718–28.

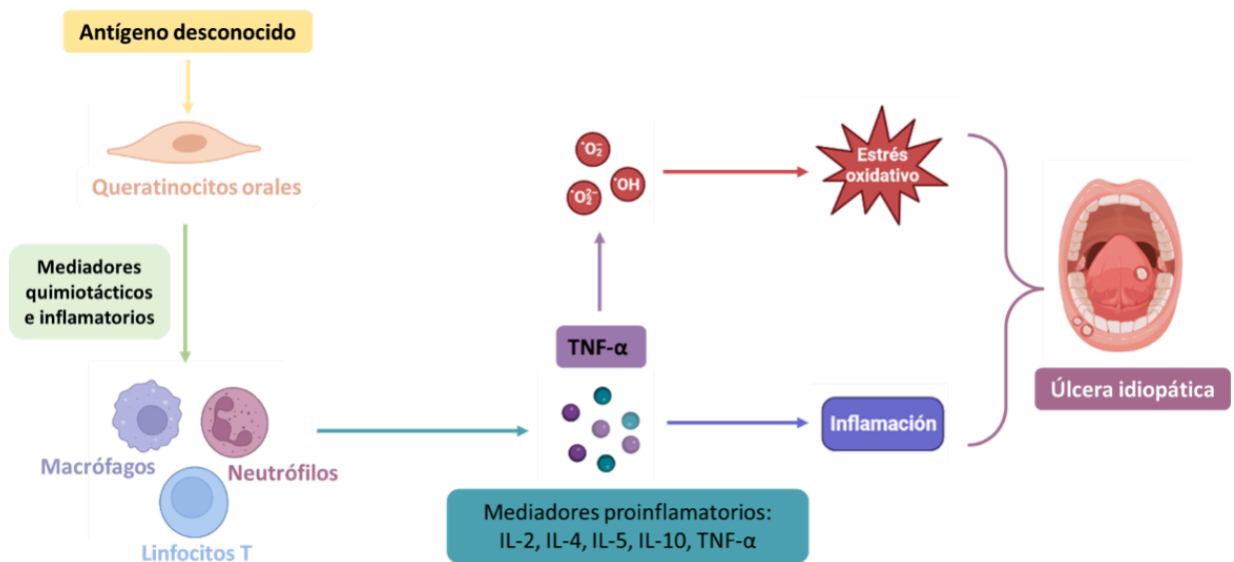


Figura 1. Respuesta inflamatoria a un antígeno, que estimula la producción de oxígeno reactivo. Este proceso termina con la aparición de úlceras orales. Imagen creada con Biorender.

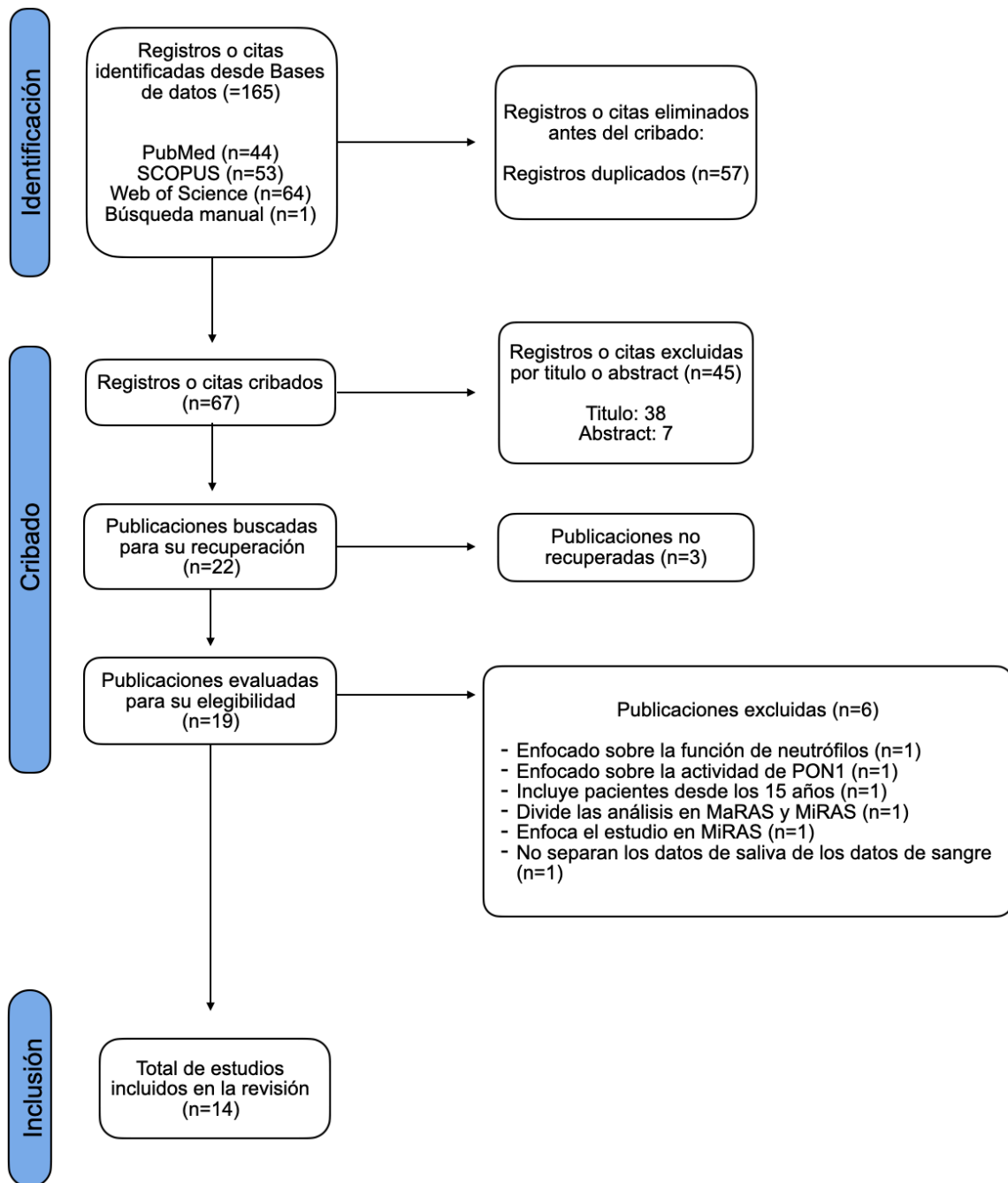


Figura 2. Diagrama de flujo de búsqueda y proceso de selección de títulos durante la revisión sistemática.

Tabla 1. Medición del riesgo de sesgo de los estudio observacionales no randomizados con la escala Newcastle-Ottawa – estudios observacionales con grupo control no randomizado (7).

	Definición de los casos	Representatividad	Selección de los controles	Definición de los controles	Comparabilidad (más importante)	Comparabilidad (otras variables)	Comprobación de la exposición	Mismo método en ambos grupos	Tasa de abandonos	Total
Çaglayan y cols (1) 2008	★	★	-	★	★	-	★	★	★	7
Avci y cols (4) 2014	★	★	★	★	★	-	★	★	★	8
Bagan y cols (5) 2014	★	★	★	★	★	★	★	★	★	9
Tuguri y cols (8) 2016	★	★	-	★	★	-	★	★	★	7
Ekinci y cols (9) 2020	★	★	★	★	★	★	★	★	★	9
Zhang y cols (10) 2019	★	★	★	★	★	★	★	★	★	9
Arikan y cols (11) 2009	★	★	★	★	★	-	★	★	★	8
Çimen y cols (12) 2003	★	★	★	★	★	★	★	★	★	9
Babaei y cols (13) 2016	★	★	★	★	★	-	★	★	★	8
Rezaei y cols (14) 2018	★	★	★	★	★	★	★	★	★	9
Ziaudeen y cols (15) 2017	★	★	★	★	★	★	★	★	★	9
Karincaoglu y cols (16) 2005	★	-	-	★	★	-	★	★	★	6
Saxena (17) 2011	★	★	★	★	★	-	★	★	★	8
Saral y cols (18) 2005	★	★	★	★	★	-	★	★	★	8

Tabla 2. Resultados de los análisis sobre muestras sanguíneas asociados a los respectivos marcadores oxidativos.

Autores	Grupo Caso	Grupo Control	Marcadores Oxidantes	Marcadores Antioxidantes
Avci y cols (4) 2014	25	25	TOS (P>0,05), OSI (P<0,05)*, MDA (P>0,05), MPO (P>0,05), NO (P>0,05)	TAS (P>0,05), GSH (P<0,05)*
Bagan y cols (5) 2014	28	29	MDA (P<0,01)*, GSSG (P<0,01)*	GSH (P<0,01)*
Tugrul y cols (8) 2016	42	39	TOS (P=0,001)*, OSI (P=0,003)*, Daño ADN (P=0,001)*	TAS (0,035)*
Ekinci y cols (9) 2020	34	34	TOS (P=0,04)*, OSI (P=0,018)*	TAS (P=0,343), PON1 (P=0,218), Prolidasa (P=0,955)
Zhang y cols (10) 2019	90	90	NO (P<0,03)*	TAS (P<0,03)*
Arikan y cols (11) 2009	26	20	MDA (P=0,000)*	GPx (P=0,000)*, Vit E (P=0,000)*
Çimen y cols (12) 2003	22	23	MDA en plasma (P<0,005)*; en eritrocitos (P>0,05)	GPx en eritrocitos (P<0,05)*, SOD (P>0,05), CAT en eritrocitos (P<0,05)*, AOP en plasma (P<0,005)*; en eritrocitos (P<0,05)*

TOS: estado oxidante total; TAS: estado antioxidante total; OSI: índice de estrés oxidativo; MDA: malondialdehído; GSH: glutatión; GSSG: glutatión disulfuro; PON1: paraxonasa; MPO: mieloperoxidasa; NO: óxido nítrico; GPx: glutatión peroxidasa; Vit E: vitamina E; SOD: superóxido dismutasa; CAT: catalasa; AOP: poder antioxidante.

Tabla 3. Resultados de los análisis sobre muestras salivares asociados a los respectivos marcadores oxidativos.

Autores	Grupo Caso	Grupo Control	Marcadores Oxidantes	Marcadores Antioxidantes
Çaglayan y cols (1) 2008	50	25	TOS (P>0,05), OSI (P>0,05), MPO (P>0,05)	TAS (P>0,05)
Babaei y cols (13) 2016	28	28	MDA (P<0,001)*	TAS (P<0,042)*
Rezaei y cols (14) 2018	27	28	-	TAS (P<0,034)*
ZiauDeen y cols (15) 2017	30	30	MDA (P=0,000)*	SOD (P=0,000)*, GPx (P=0,000)*, AU (P=0,000)*

TOS: estado oxidante total; TAS: estado antioxidante total; OSI: índice de estrés oxidativo; MPO: mieloperoxidasa; MDA: malondialdehído; SOD: superóxido dismutasa; GPx: glutatión peroxidasa; AU: ácido úrico.

Tabla 4. Resultados de los análisis sobre muestras sanguíneas y salivares asociados a los respectivos marcadores oxidativos.

Autores	Grupo Caso	Grupo Control	Marcadores Oxidantes	Marcadores Antioxidantes
Karincaoglu y cols (16) 2005	32	30	-	SOD y GPx (P<0,001)* en sangre y saliva; CAT (P<0,05)* en sangre y saliva; AU (P>0,05) en saliva
Saxena (17) 2011	40	40	-	SOD, CAT y GPx (P<0,001)* en sangre y saliva; AU (P<0,001)* en sangre y (P<0,05)* en saliva
Saral y cols (18) 2005	30	20	MDA (P<0,005)* en sangre y saliva	Vit A y Vit E (P<0,005)* en sangre y saliva; Vit C (P<0,05)* en sangre y saliva; Vit B12 (P<0,003)* en sangre

SOD: superóxido dismutasa; CAT: catalasa; GPx: glutatión peroxidasa; AU: ácido úrico; MDA: malondialdehído; Vit A: vitamina A; Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; VitB12: vitamina B12.