



**UNIVERSIDAD DE TALCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE ESTOMATOLOGÍA**

**LA ESTOMATITIS ASOCIADA AL INHIBIDOR DE MTOR PODRÍA
PROPORCIONAR UN MODELO EXPERIMENTAL PARA LAS AFTAS**

mTOR inhibitor-associated stomatitis could provide an experimental model for canker sores

Memoria presentada a la Escuela de Odontología de la Universidad de Talca
como parte de los requisitos científicos exigidos para la obtención del título
de Cirujano Dentista.

**ESTUDIANTES: JUAN JESÚS PRIETO
JAVIERA SOTO VERGARA
PROFESOR GUÍA: DR. CÉSAR RIVERA
PROFESOR CO-GUÍA: DR. ROMINA HERNÁNDEZ-OLIVOS
PROFESOR INFORMANTE: DR. DANIEL DROGUETT OSSA**

TALCA - CHILE

2020

CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2021

INFORMACIONES CIENTÍFICAS DEL PROFESOR GUÍA

Nombre
Dr. César Rivera Martínez
ORCID
https://orcid.org/0000-0002-5491-4233
Google Scholar
https://scholar.google.com/citations?user=3fWOPJEAAAAJ&hl=es
Correo electrónico
cerivera@utalca.cl

DEDICATORIA

Queremos dedicar nuestra memoria a todos los héroes invisibles que han dado su vida en aras de la ciencia. Nunca de forma voluntaria, pero sí con humildad.

Nunca debemos olvidar que los animales, da igual su origen, color, forma y tamaño; sufren y desean cosas.

Esperamos de todo corazón que algún día podamos prescindir de ellos para generar ciencia de calidad.

La igualdad debe ser transversal.

También dedicamos nuestra tesis a todo el personal no odontológico que hizo nuestro paso por la Universidad mucho más ameno. Gracias por creer en nosotros antes que cualquiera.

AGRADECIMIENTOS

Uno de los mayores miedos de cualquier escritor o comunicador, es que los lectores no comprendan lo que se quiere decir. La interpretación es particular en cada individuo y este caso no dista de aquello.

Mi primer agradecimiento no puede ser de otra forma. Raquel, mi amada abuela, quien con su apoyo irrestricto y amor incondicional logró sacarme a flote. Forjó gran parte de la persona que soy hoy. A pesar de no entender de lo que se trata un proceso de memoria, siempre me devuelve una sonrisa. Paradójicamente mientras yo presento mi memoria, usted pierde la suya.

Agradezco a Javiera, quien siempre me mostró el cómo. Te amo. Gracias por amarme a pesar de echarle sal a la comida antes de probarla y a mi predisposición negativa a algunas cosas.

A mi ángel guardián de Alemania. Karin, deseo ser como tú algún día, ojalá más gente te conociera. Si existe el cielo, tienes un ticket en palco A, primera fila.

A toda la familia que creyó en mi. Y a los que no, gracias también, el refuerzo negativo siempre es útil.

A mis pacientes quienes, a pesar de la situación, empatizaron y se comprometieron.

Finalmente, y no por eso menos importante, al Gran Arquitecto. Se trata de abrir los ojos y apreciar la perfección. La ciencia da fe de aquello.

Hay gente que nunca pierde la cabeza, qué triste debe ser su vida.

(Charles Bukowski)

JUAN JESÚS PRIETO

Sin duda ha sido un camino largo y difícil. Miro hacia atrás, hasta el momento donde todo inició y es que llegar al final no habría sido posible sin el apoyo y amor incondicional de quienes me han acompañado en este proceso.

Agradezco a mis padres, Margarita y Julián, quienes me dieron la oportunidad de ser y crecer, por tenderme sus manos para afirmarme mientras aprendo a caminar, por sus esfuerzos y sacrificios, por alentarme y creer en mi.

Agradezco a Juan Jesús, por acompañarme y estar presente, sobre todo en los momentos más críticos de este largo camino, por cuidarme y su gran voluntad.

A mi hermana, Susana, quien me permitió ver desde otras perspectivas cuando yo no podía, a Carlos por su voluntad e Isidora por ser la esperanza y la motivación para hacer de este mundo algo mejor.

A quienes en alguna instancia me tendieron una mano con una mirada bondadosa, a aquellos docentes que me entregaron lo mejor desde su experiencia y conocimiento. A la vida misma, gracias, gracias, gracias.

JAVIERA SOTO VERGARA

ÍNDICE

1. RESUMEN	1
1.1. Palabras clave.....	1
2. ABSTRACT.....	2
2.1. Keywords.....	2
3. INTRODUCCIÓN.....	3
4. LA PROTEÍNA MTOR.....	4
5. ESTOMATITIS ASOCIADA A INHIBIDORES DE MTOR	5
5.1. Patogénesis	6
6. VENTANA A LAS AFTAS	8
7. CONCLUSIÓN.....	9
8. REFERENCIAS.....	10

1. RESUMEN

Los fármacos inhibidores de la diana de rapamicina en células de mamífero (mTOR) pueden provocar lesiones clínicas idénticas a las presentes en la estomatitis aftosa recurrente. En esta revisión narrativa mostramos que la vía celular de la proteína mTOR funciona como un modulador central de la señalización extracelular e intracelular. Su inhibición lleva a una disminución de los linfocitos T reguladores, a un aumento en la infiltración de linfocitos T citotóxicos, liberación de citoquinas proinflamatorias y una toxicidad directa en los queratinocitos orales. Considerando que no existe un modelo experimental para la estomatitis aftosa recurrente, la estomatitis asociada a inhibidores de mTOR podría otorgar esa posibilidad.

1.1. Palabras clave.

Serina-Treonina Quinasas TOR, estomatitis aftosa, linfocitos T citotóxicos, mucosa bucal, efectos colaterales y reacciones adversas relacionados con medicamentos.

2. ABSTRACT

The mammalian target of rapamycin (mTOR) inhibitor drugs can cause identical clinical lesions to those found in recurrent aphthous stomatitis. In this narrative review, we show that mTOR pathway functions as a central modulator of extracellular and intracellular signaling. Its inhibition leads to a decrease in regulatory T lymphocytes, an increase in cytotoxic T lymphocyte infiltration, release of pro-inflammatory cytokines, and direct toxicity to oral keratinocytes. Considering that there is no experimental model for recurrent aphthous stomatitis, mTOR inhibitor-associated stomatitis could provide this possibility.

2.1. Keywords.

TOR serine-threonine kinases, aphthous stomatitis, cytotoxic T-lymphocyte, mouth mucosa, drug related side effects and adverse reactions.

3. INTRODUCCIÓN

La estomatitis aftosa recurrente (RAS, por sus términos en inglés) es la condición ulcerativa más común de la mucosa oral. Comúnmente esta alteración es conocida como aftas. Hasta hoy, la única manera de obtener información biológica para comprender su etiopatogenia es a partir de los pacientes que la sufren. En la literatura se han propuesto dos modelos experimentales para RAS, ambos usando conejos. Uno de los modelos induce úlceras químicas con ácido acético (1, 2) y el otro una incisión quirúrgica en la mucosa oral (3). Considerando que la patología y medicina oral define las aftas como una condición mediada por el sistema inmunitario (4), no podemos considerar los modelos citados como válidos.

Durante los últimos años, se ha reportado que pacientes con diferentes tipos de cáncer y que reciben tratamiento con fármacos inhibidores de mTOR generan un cuadro clínico idéntico a RAS, fenómeno que sería dosis dependiente (5, 6). La proteína mTOR funciona como un modulador central de la señalización extracelular e intracelular gracias a la acción de mediadores y factores de crecimiento (7). La fisiopatología en la formación de úlceras aftosas tras la inhibición de mTOR, no han sido bien dilucidados.

El que no exista un modelo experimental para estudiar RAS y el hecho clínico de que un fármaco promueva lesiones idénticas a las aftas, a nuestro entender otorga una oportunidad para desarrollos investigativos. Es por ello que en esta revisión narrativa proponemos las bases teóricas de un mecanismo para el desarrollo de lesiones.

4. LA PROTEÍNA MTOR

mTOR es una proteína quinasa del tipo serina/treonina que constituye un importante centro de señalización metabólica. La vía celular de la proteína mTOR funciona fisiológicamente como un modulador central de la señalización extracelular e intracelular gracias a la acción de mediadores y factores de crecimiento. Se encuentra principalmente en las membranas de los organelos intracelulares, como el lisosoma, el ribosoma y las mitocondrias. En mamíferos, actúa como una subunidad catalítica a través de la integración de 2 complejos proteicos, mTORC1 y mTORC2 (7). La Figura 1 muestra las funciones de estos complejos, que están supeditadas a un gran número de vías, cuyos resultados tienen directa incidencia en la regulación del crecimiento y proliferación celular, metabolismo, ciclo celular y angiogénesis (8). Los fármacos inhibidores de mTOR utilizados para distintos tipos de cáncer provocan la disminución de la síntesis proteica, tamaño celular y estimulan la autofagia (9).

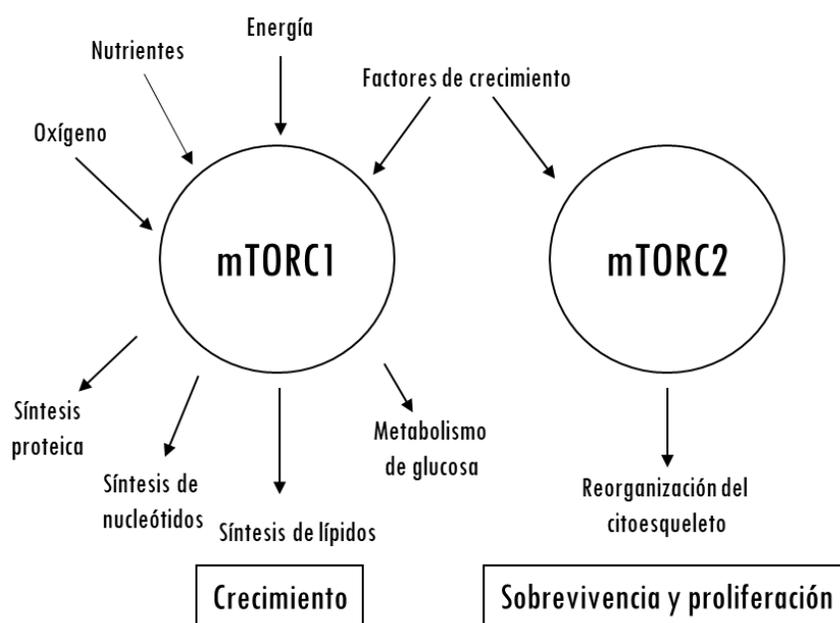


Figura 1. Funciones de mTORC1 y mTORC2. La proteína mTOR se constituye por 2 subunidades mTORC1 y mTORC2. Por su parte mTORC1 fosforila sustratos que incrementan la producción de proteínas, lípidos y nucleótidos, mientras que limita la descomposición autofágica de componentes celulares (7). En tanto, mTORC2 participa en el metabolismo celular, proliferación y en la regulación de la organización del citoesqueleto (8).

5. ESTOMATITIS ASOCIADA A INHIBIDORES DE MTOR

La Estomatitis Asociada a Inhibidores de mTOR (mIAS) se diferencia de la mucositis provocada por radioterapia o quimioterapia en que esta última caracterizada por lesiones eritematosas ulceradas no uniformes que se pueden extender hacia el tracto gastrointestinal (6, 10). Es denominada estomatitis debido a su marcada similitud con las lesiones aftosas que se observan en la estomatitis aftosa recurrente (RAS).

La mIAS se ha descrito como un fenómeno dosis dependiente que puede afectar a alrededor de un 40% a 50% de los pacientes tratados con inhibidores de mTOR. La prevalencia puede variar dependiendo del fármaco administrado (5, 10, 11) (Tabla 1).

Tabla 1. Prevalencia de estomatitis asociada a inhibidores de mTOR en pacientes con cáncer (12-14).

Fármaco inhibidor de mTOR	Prevalencia de mIAS
Everolimus	25% - 78%
Sirolimus	20%
Temsirolimus	27% - 41%
Ridaforolimus*	54%

*Medicamento aún no aprobado por la FDA para el tratamiento del cáncer.

Clínicamente se observan úlceras únicas o múltiples, de bordes bien definidos, ovoides, rodeadas por un halo eritematoso, cubiertas por una pseudomembrana grisácea o blanquecina, de aproximadamente 0,5 cm de diámetro, que se ubican en mucosa oral no queratinizada (5, 6, 15) (Figura 2). Las lesiones pueden aparecer entre el quinto y décimo día, con mayor frecuencia durante el primer ciclo de la terapia (16). Las úlceras pueden llegar a ser muy dolorosas, afectando la función normal y generando un impacto negativo en la calidad de vida y en la adherencia al tratamiento del paciente (11, 17). El manejo implica modificar las dosis del fármaco y en raras ocasiones la suspensión (11), sin embargo se ha visto que el manejo local es efectivo para la disminución de la sintomatología.

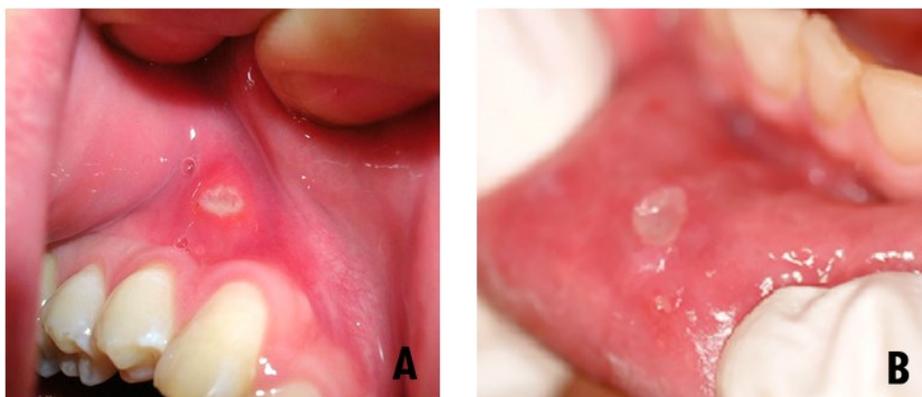


Figura 2. Presentación clínica de RAS y mIAS. (A) Úlcera ovoide de bordes definidos y halo eritematoso en un paciente con RAS. (B) mIAS en una paciente de 58 años con cáncer de mamas tratada con everolimus; la lesión aparece 22 días después de iniciado el tratamiento farmacológico. Ambas lesiones, si bien corresponden a diagnósticos diferentes, coinciden en aspecto clínico y sintomatología. Fotografía tomada y adaptada de Peterson *et al* (12).

5.1. Patogénesis

Si bien la situación clínica ha sido bien descrita y reportada, los mecanismos por los cuales los inhibidores de mTOR desencadenan la formación de úlceras con una presentación tan definida, aún no han sido dilucidados (16). Se ha demostrado en estudios *in vitro*, que los inhibidores de mTOR, específicamente everolimus, generan un daño directo sobre queratinocitos orales, efecto que sería dosis dependiente, manifestado por cambios morfológicos, que histológicamente se evidenciaron como una disrupción de la continuidad del tejido con áreas de desorganización y adelgazamiento del epitelio, aumento de la apoptosis y liberación de citoquinas proinflamatorias (10) (Figura 3). Estos cambios morfológicos resultantes en daño epitelial en ausencia de microorganismos, estarían dados por mecanismos subyacentes, como lo son el aumento de citoquinas proinflamatorias, tales como TNF- α , IL-2, IL-8, IL-6, INF- γ y HSP-27 (proteína de shock térmico 27) (10, 16-18). Además, se ha observado un aumento en el infiltrado de células T CD8⁺ (linfocitos T citotóxicos), quienes favorecerían la apoptosis, y una disminución de la expresión de linfocitos T reguladores CD4⁺ y CD25⁺ e IL-10 (12). Por otro lado, se ha reportado además la activación del NF- κ B (factor nuclear kappa beta) quien estimula la muerte celular y el daño

tisular, dificultando a su vez la cicatrización al impedir la angiogénesis y proliferación vascular (17).

Los linfocitos T citotóxicos estarían implicados en la apoptosis y, como consecuencia del aumento de citoquinas proinflamatorias, ellos secretan metaloproteinasas de la matriz, lo que conlleva a la destrucción del tejido, mientras que la activación de NF- κ B impide la inmediata cicatrización de este (18). Por otro lado, la disminución de los linfocitos T reguladores CD4+ y CD25+ facilitan la proliferación de citoquinas proinflamatorias puesto que su rol en función normal es inhibir la acción y la proliferación de las mismas (19).

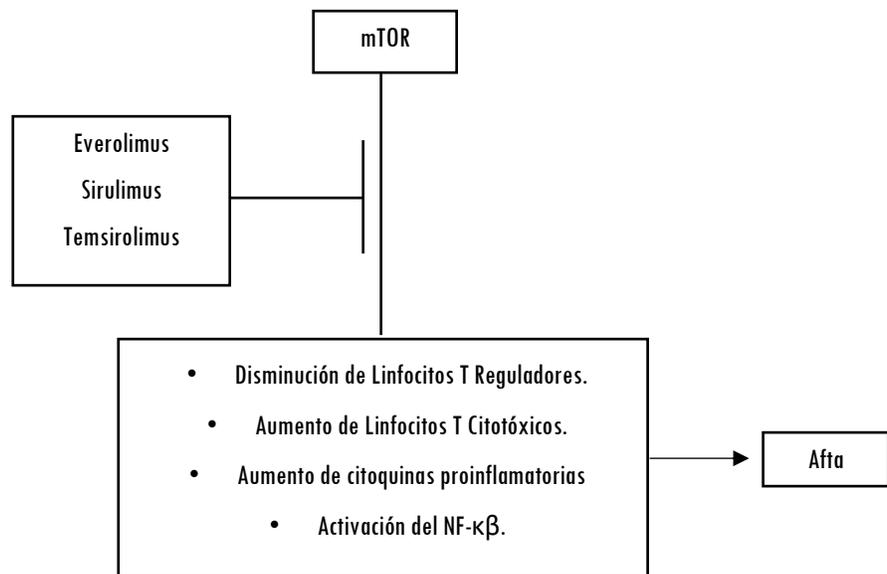


Figura 3. Efectos directos de inhibidores de mTOR en mucosa oral no queratinizada. Los fármacos inhibidores de mTOR, principalmente everolimus, provocan una serie de reacciones inflamatorias, las cuales se resumen en 4 eventos principales: la disminución de linfocitos T reguladores, aumento de linfocitos T citotóxicos y de citoquinas proinflamatorias y activación del factor nuclear- κ B. Estos eventos, a nivel de epitelio oral no queratinizado provocan la aparición de una úlcera aftosa.

6. VENTANA A LAS AFTAS

La causa de RAS permanece desconocida. Diversos estudios señalan que RAS, está mediada por procesos inmunológicos asociados a otros factores, entre los que se encuentran factores genéticos, nutricionales, metabólicos, y estrés (20, 21).

Múltiples estudios coinciden en que existe una desregulación inmunológica que involucra la participación de citoquinas proinflamatorias de la misma forma que se describe en mIAS (10, 21). Las citoquinas proinflamatorias, así como también la disminución de linfocitos T reguladores junto con el aumento de los linfocitos T citotóxicos, serían el factor clave para desencadenar una úlcera en mucosa oral no queratinizada; dicho proceso constituye una ventana a las aftas, pues utilizando esta base teórica, se podría replicar en modelos experimentales el desarrollo de úlceras aftosas, pudiéndonos orientar respecto a la etiología y prevención de RAS. Sin embargo, es necesario dilucidar los factores asociados que pueden contribuir al desarrollo de úlceras en pacientes con cáncer tratados con inhibidores de mTOR. En los estudios revisados no se hace referencia a otros factores, sólo a la terapia farmacológica (5, 6, 12).

7. CONCLUSIÓN

De acuerdo con la evidencia revisada, proponemos que el mecanismo por el cual se desencadenan las úlceras en mIAS es similar a RAS y consiste en la liberación de citoquinas proinflamatorias y activación de linfocitos T citotóxicos, posterior a una toxicidad farmacológica directa sobre los queratinocitos orales, siendo este evento dosis dependiente. Sin embargo, el hecho de que un porcentaje de pacientes tratados con inhibidores de mTOR no desarrollen úlceras muestra que hay más factores por explorar.

Hoy no existe un modelo experimental para estudiar la patogenia de las úlceras recurrentes orales. El reconocimiento de los inhibidores de mTOR como fármacos que promueven el desarrollo de lesiones otorga una posibilidad única para estudiar una condición oral que no tiene etiología conocida.

8. REFERENCIAS

1. Karavana Hizarcioglu SY, Sezer B, Guneri P, Veral A, Boyacioglu H, Ertan G, et al. Efficacy of topical benzydamine hydrochloride gel on oral mucosal ulcers: an in vivo animal study. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2011;40(9):973-8. doi: 10.1016/j.ijom.2011.02.034.
2. Karavana SY, Gokce EH, Rençber S, Ozbal S, Pekçetin C, Guneri P, et al. A new approach to the treatment of recurrent aphthous stomatitis with bioadhesive gels containing cyclosporine A solid lipid nanoparticles: in vivo/in vitro examinations. *Int J Nanomedicine.* 2012;7:5693-704. doi: 10.2147/ijn.S36883.
3. Fernandes Teixeira FM, Figueiredo Pereira M, Gomes Ferreira NL, Miranda GM, Andrade Aguiar JL. Spongy film of cellulosic polysaccharide as a dressing for aphthous stomatitis treatment in rabbits. *Acta Cir Bras.* 2014;29(4):231-6. doi: 10.1590/S0102-86502014000400003
4. Scully C, Porter S. Oral mucosal disease: recurrent aphthous stomatitis. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2008;46(3):198-206. doi: 10.1016/j.bjoms.2007.07.201.
5. de Oliveira MA, Martins EMF, Wang Q, Sonis S, Demetri G, George S, et al. Clinical presentation and management of mTOR inhibitor-associated stomatitis. *Oral Oncol.* 2011;47(10):998-1003. doi: 10.1016/j.oraloncology.2011.08.009.
6. Sonis S, Treister N, Chawla S, Demetri G, Haluska F. Preliminary characterization of oral lesions associated with inhibitors of mammalian target of rapamycin in cancer patients. *Cancer.* 2010;116(1):210-5. doi: 10.1002/cncr.24696.
7. Liu GY, Sabatini DM. mTOR at the nexus of nutrition, growth, ageing and disease. *2020;21(4):183-203.* doi: 10.1038/s41580-019-0199-y.
8. Laplante M, Sabatini DM. mTOR signaling at a glance. *J Cell Sci.* 2009;122(Pt 20):3589-94. doi: 10.1242/jcs.051011.

9. Suto T, Karonitsch T. The immunobiology of mTOR in autoimmunity. *J Autoimmun.* 2020;110:102373. doi: 10.1016/j.jaut.2019.102373.
10. Sonis S, Andreotta PW, Lyng G. On the pathogenesis of mTOR inhibitor-associated stomatitis (mIAS)-studies using an organotypic model of the oral mucosa. *Oral Dis.* 2017;23(3):347-52. doi: 10.1111/odi.12616.
11. Rugo HS, Hortobagyi GN, Yao J, Pavel M, Ravaud A, Franz D, et al. Meta-analysis of stomatitis in clinical studies of everolimus: incidence and relationship with efficacy. *Ann Oncol.* 2016;27(3):519-25. doi: 10.1093/annonc/mdv595.
12. Peterson DE, O'Shaughnessy JA, Rugo HS, Elad S, Schubert MM, Viet CT, et al. Oral mucosal injury caused by mammalian target of rapamycin inhibitors: emerging perspectives on pathobiology and impact on clinical practice. *Cancer Med.* 2016;5(8):1897-907. doi: 10.1002/cam4.761.
13. Lo Muzio L, Arena C, Troiano G, Villa A. Oral stomatitis and mTOR inhibitors: A review of current evidence in 20,915 patients. *Oral Dis.* 2018;24(1-2):144-71. doi: 10.1111/odi.12795.
14. Vigarios E, Epstein JB, Sibaud V. Oral mucosal changes induced by anticancer targeted therapies and immune checkpoint inhibitors. *Supportive Care in Cancer.* 2017;25(5):1713-39. doi: 10.1007/s00520-017-3629-4.
15. Kalogirou EM, Tosios KI, Piperi EP, Sklavounou A. mTOR inhibitor-associated stomatitis (mIAS) in three patients with cancer treated with everolimus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2015;119(1):e13-9. doi: 10.1016/j.oooo.2014.08.023.
16. Boers-Doets CB, Raber-Durlacher JE, Treister NS, Epstein JB, Arends AB, Wiersma DR, et al. Mammalian target of rapamycin inhibitor-associated stomatitis. *Future Oncol.* 2013;9(12):1883-92. doi: 10.2217/fon.13.141.

17. Chambers MS, Rugo HS, Litton JK, Meiller TF. Stomatitis associated with mammalian target of rapamycin inhibition: A review of pathogenesis, prevention, treatment, and clinical implications for oral practice in metastatic breast cancer. *J Am Dent Assoc.* 2018;149(4):291-8. doi: 10.1016/j.adaj.2017.10.024.
18. Basile D, Di Nardo P. Mucosal Injury during Anti-Cancer Treatment: From Pathobiology to Bedside. 2019;11(6)1-22. doi: 10.3390/cancers11060857.
19. Lewkowicz N, Lewkowicz P, Dzitko K, Kur B, Tarkowski M, Kurnatowska A, et al. Dysfunction of CD4+CD25high T regulatory cells in patients with recurrent aphthous stomatitis. *J Oral Pathol Med.* 2008;37(8):454-61. doi: 10.1111/j.1600-0714.2008.00661.x.
20. Akintoye SO, Greenberg MS. Recurrent aphthous stomatitis. *Dent Clin North Am.* 2014;58(2):281-97. doi: 10.1016/j.cden.2013.12.002.
21. Rivera C. Essentials of recurrent aphthous stomatitis. *Biomed Rep.* 2019;11(2):47-50. doi: 10.3892/br.2019.1221.