



UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA  
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGÍA CONSERVADORA  
Y PATOLOGÍA  
AREA DE ENDODONCIA  
LABORATORIO DE BIOLOGÍA PERIODONTAL

**NIVELES DE MIELOPEROXIDASA (MPO) EN EXUDADO PERIAPICAL DE  
DIENTES CON PERIODONTITIS APICAL ASINTOMÁTICA (PAA)  
Y ABSCESO APICAL AGUDO (AAA).**

**Valentina Paz Cabrera González**

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN  
REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE  
CIRUJANO DENTISTA

**TUTOR PRINCIPAL**

**Prof. Dra. Andrea Dezerega Piwonka**

**TUTORES ASOCIADOS**

**Prof. Dra. Marcela Hernández Ríos**

**Prof. Dr. Mauricio Garrido Flores**

**TUTOR EXPERTO**

**Jocelyn García Sesnich**

Financiado por:  
FONDECYT 1120138

Santiago – Chile

2012

## **AGRADECIMIENTOS**

Especialmente quiero agradecer a mi familia: A mis padres por todo su amor incondicional y entrega, porque sin su apoyo nada de lo que he logrado sería posible. A mis hermanas, por su cariño, ayuda y alegría en los momentos difíciles.

A Andrés, por el amor que me brinda cada día, por su compañía durante estos años y por hacerme feliz.

A mis amigas inseparables Daniela y Carolina, que en estos seis años han sido fundamentales. Por todos esos buenos momentos que compartimos y por acompañarme en esta larga tarea.

A mi amiga del alma Daniela J. por su sinceridad, cariño y lealtad.

A mis tutores de tesis Andrea Dezerega, Mauricio Garrido, Marcela Hernández y Jocelyn García, por su excelente disposición, ayuda y orientación en todo lo que necesité durante el desarrollo de este trabajo de investigación.

Al equipo del laboratorio de Biología Periodontal, en especial a Leslie Hernández, por su tiempo, dedicación y gran ayuda en el manejo de técnicas de laboratorio.

A todos mis compañeros, profesores y funcionarios que también fueron parte de mi formación profesional.

Es difícil expresar todos los sentimientos encontrados que me genera el término de esta importante etapa. Sólo me queda dar las gracias a todos y decir que siempre los llevaré en mi corazón.

## ÍNDICE

<b>Contenido</b>	<b>Página</b>
ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS.....	I
LISTA DE ABREVIACIONES.....	II
RESUMEN.....	III
INTRODUCCIÓN.....	1
MARCO TEÓRICO	
- Generalidades de las Patologías Periapicales .....	3
- Periodontitis Apical Asintomática .....	4
- Absceso Apical Agudo.....	6
- Respuesta inmune del hospedero.....	9
- Polimorfonuclear Neutrófilos.....	12
- Mieloperoxidasa.....	15
- Mieloperoxidasa y exudado periapical.....	17
HIPÓTESIS.....	18
OBJETIVO GENERAL.....	18
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
RESULTADOS.....	23
DISCUSIÓN .....	26
CONCLUSIONES.....	31
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	32
ANEXOS	
- Acta de aprobación de protocolo de investigación.....	40
- Formulario de consentimiento informado.....	41
- Ficha clínica .....	42

## ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1: Género de patógenos endodónticos putativos asociados comúnmente con las diferentes formas de enfermedades perirradiculares.....	7
Tabla 2: Componentes de la inmunidad innata.....	10
Tabla 3: Características de los pacientes seleccionados.....	23
Figura 1: Reacción mediada por Mieloperoxidasa.....	15
Figura 2: Concentración de proteínas totales en $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ .....	24
Figura 3: Niveles de MPO en $\text{ng}/\text{ml}$ .....	25

## LISTA DE ABREVIACIONES

<b>Abreviación</b>	<b>Significado</b>
<b>AAA</b> .....	Absceso Apical Agudo
<b>AAC</b> .....	Absceso Apical Crónico
<b>CPT</b> .....	Concentración de Proteínas Totales
<b>C5a</b> .....	Factor C5a del complemento
<b>ELISA</b> .....	Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas
<b>FGC</b> .....	Fluido Gingival Crevicular
<b>GP</b> .....	Granuloma Periapical
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b> .....	Peróxido de Hidrógeno
<b>HCIO</b> .....	Ácido Hipocloroso
<b>IL</b> .....	Interleuquina
<b>INF</b> .....	Interferón
<b>LB</b> .....	Linfocito B
<b>LPA</b> .....	Lesión Periapical
<b>LPS</b> .....	Lipopolisacáridos
<b>LT</b> .....	Linfocito T
<b>MEC</b> .....	Matriz Extracelular
<b>MMP</b> .....	Metaloproteinasa
<b>Mø</b> .....	Macrófago
<b>MPO</b> .....	Mieloperoxidasa
<b>PAA</b> .....	Periodontitis Apical Asintomática
<b>PAS</b> .....	Periodontitis Apical Sintomática
<b>PMN</b> .....	Polimorfonuclear Neutrófilo
<b>QRI</b> .....	Quiste Radicular Inflamatorio
<b>SCR</b> .....	Sistema de Canales Radiculares
<b>TIMP</b> .....	Inhibidor Tisular de Metaloproteinasas
<b>TNF</b> .....	Factor de Necrosis Tumoral

## RESUMEN

**Introducción:** La periodontitis apical asintomática (PAA) es una respuesta inmunoinflamatoria local a la invasión microbiana del sistema de canales radiculares (SCR) que resulta en la destrucción de los tejidos periapicales y se caracteriza por no presentar sintomatología clínica. El absceso apical agudo (AAA) corresponde a la inflamación de los tejidos perirradiculares, asociada a la formación de exudado dentro de la lesión, con presencia de sintomatología clínica severa. La Mieloperoxidasa (MPO) es una enzima que cataliza la formación de ácido hipocloroso (HClO), potente oxidante con rol defensivo contra los agentes infecciosos y que paralelamente provoca daño a los tejidos adyacentes. A la fecha su presencia no se ha asociado a estas patologías periapicales.

**Objetivo:** Determinar los niveles de MPO en exudado periapical de dientes con diagnóstico de AAA y PAA para poder comparar y asociar la concentración de esta enzima con la presencia de sintomatología en el tejido periapical.

**Materiales y Métodos:** Se seleccionaron pacientes con diagnóstico de PAA (n=20) y AAA (n=13) e indicación de endodoncia, y se obtuvieron muestras de exudado periapical. Las muestras fueron eluidas y se les realizó cuantificación de proteínas totales. Para determinar los niveles de MPO se realizó test de ELISA. Los resultados se analizaron con el programa GraphPad PRISM 5.0.

**Resultados:** La concentración de proteínas totales (CPT) en exudado periapical de dientes con AAA es significativamente mayor que en dientes con PAA. La MPO se expresa en exudado periapical tanto de dientes con PAA como con AAA. Si bien los niveles de MPO son mayores en exudado periapical de dientes con AAA que con PAA, la diferencia no es estadísticamente significativa.

**Conclusiones:** En el presente estudio existe una asociación entre la CPT y la presencia de sintomatología, sin embargo no se logró demostrar una asociación entre los niveles de MPO y la presencia de sintomatología.

## INTRODUCCIÓN

La periodontitis apical asintomática (PAA) es una patología infecciosa caracterizada por la destrucción del periodonto apical asociada a un proceso inflamatorio crónico, como respuesta a la invasión bacteriana del sistema de canales radiculares (SCR). Clínicamente no presenta sintomatología, por lo que usualmente su hallazgo es radiográfico, observándose un área radiolúcida en relación al periápice del diente afectado, la cual puede corresponder histopatológicamente a un granuloma periapical (GP) o un quiste radicular inflamatorio (QRI). (1-3)

En la patogénesis de la PAA existe un balance dinámico entre la respuesta inmune del hospedero y la acción de los microorganismos y sus toxinas. En esta respuesta participan diversas clases de células, mediadores intercelulares, anticuerpos y moléculas efectoras, que no son capaces de destruir ni eliminar completamente a estos agentes patógenos, pero si pueden generar una barrera defensiva circunscrita que previene la diseminación de la infección. (4-6)

Si las bacterias invasoras y sus irritantes no pueden ser controlados por la respuesta inmunológica inicial montada por el huésped, se originará un absceso apical agudo (AAA), que corresponde a la inflamación de los tejidos perirradiculares, asociada a la formación de exudado dentro de la lesión. Se caracteriza por un inicio rápido y sus signos clínicos son evidentes, existiendo con frecuencia dolor severo y espontáneo, sensibilidad del diente a la percusión y masticación e inflamación de los tejidos asociados. A la radiografía se puede observar desde un espacio del ligamento periodontal dentro de los rangos normales, hasta una gran radiolucidez apical. (1, 7-9)

En la respuesta inmuno-inflamatoria llevada a cabo por el hospedero participan una serie de células, entre las cuales destacan los polimorfonucleares neutrófilos (PMNs), componentes esenciales del sistema inmune innato. Constituyen la primera línea de defensa contra infecciones bacterianas y fúngicas (además de las barreras naturales), seguidos por los macrófagos (Mø) y linfocitos.

Dentro de sus funciones se encuentra la liberación de sustancias antimicrobianas e inflamatorias, cuyo objetivo principal es controlar la microecología periapical y regular las alteraciones tisulares. (5, 10-12)

Una de las principales enzimas liberadas por los gránulos azurófilos de los PMNs es la mieloperoxidasa (MPO), componente clave del armamento citotóxico del leucocito, ya que cataliza la formación de ácido hipocloroso (HClO, potente oxidante con actividad bactericida) a partir de la reacción entre peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) e ión cloruro ( $Cl^-$ ). (11, 13, 14)

La MPO puede ser liberada dentro de los PMNs (en el fagosoma) contribuyendo al mecanismo de defensa contra los agentes infecciosos, o hacia el exterior de la célula, provocando daño sobre las células del hospedero y destrucción tisular, aportando en la patogénesis de diversas enfermedades. (11, 14, 15)

Varios procesos patológicos han sido relacionados con el incremento de la actividad de la MPO, lo que estaría asociado con un aumento del riesgo al estrés oxidativo y por consiguiente con la mayor generación de daño tisular, sin embargo, a pesar de esta asociación, la presencia de MPO no ha sido estudiada en las patologías periapicales. (13)

Por lo expuesto anteriormente, el propósito de este estudio es analizar los niveles de MPO en dientes con diagnóstico de AAA y PAA para poder comparar y asociar la concentración de esta enzima con la presencia de sintomatología en el tejido periapical.

## MARCO TEÓRICO

### Generalidades de las Patologías Periapicales

El tejido periapical normal corresponde a hueso alveolar intacto alrededor de la raíz, con el espacio del ligamento periodontal uniforme y una respuesta normal a la percusión. Como consecuencia de un proceso infeccioso proveniente del sistema de canales radiculares (SCR) se pierde la homeostasis de los tejidos perirradiculares, produciéndose un proceso inmuno-inflamatorio, dando origen a las patologías periapicales. (16)

El consenso de la Asociación Americana de Endodoncia (AAE) estableció cinco diagnósticos de patologías periapicales, los cuales son: periodontitis apical sintomática (PAS), periodontitis apical asintomática (PAA), absceso apical agudo (AAA), absceso apical crónico (AAC) y osteítis condensante. (1)

La PAS corresponde a la inflamación del periodonto apical, que genera síntomas clínicos, incluyendo una respuesta dolorosa a la masticación, a la percusión y/o a la palpación. A la radiografía ésta puede o no estar asociada con un área radiolúcida apical y su etiología puede ser infecciosa o traumática. (1)

La PAA corresponde a la inflamación y destrucción del periodonto apical que se caracteriza por no presentar sintomatología. Usualmente su hallazgo es radiográfico, observándose una lesión radiolúcida en relación al periápice del diente afectado. (1)

El AAA corresponde a una reacción inflamatoria a la infección y necrosis pulpar que se caracteriza por un inicio rápido. Los signos clínicos son evidentes, existiendo con frecuencia dolor espontáneo, sensibilidad del diente a la percusión y masticación, formación de pus e inflamación de los tejidos asociados. A la radiografía se puede observar desde un espacio del ligamento periodontal dentro de los rangos normales, hasta una gran radiolucidez apical. (1, 9)

El AAC se caracteriza por un inicio gradual, una pequeña o nula molestia y la presencia de fístula. Puede o no existir una zona radiolúcida apical asociada. (1)

La osteítis condensante es una lesión radiopaca difusa que representa una reacción ósea localizada frente a un estímulo inflamatorio leve, generalmente se observa en el ápice del diente afectado. (1)

### **Periodontitis Apical Asintomática**

La PAA corresponde a la inflamación y destrucción progresiva del ligamento periodontal, cemento radicular y hueso alveolar causada por agentes etiológicos de origen endodóntico. (17)

Inicialmente, la pulpa dental es infectada por una microbiota oral autógena, lo que trae como consecuencia su necrosis. La pulpa necrótica proporciona un hábitat selectivo para el establecimiento de una flora microbiana mixta (generalmente compuesta por más de tres especies) y predominantemente anaerobia. Las especies presentes por lo general pertenecen a los géneros *Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Treponema*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Peptoestreptococci*, *Eubacterium* y *Campylobacter*. (17-20)

A medida que el proceso infeccioso avanza, los microorganismos se organizan en biofilms que se adhieren a las paredes de los canales radiculares. (6) En conjunto, esta comunidad polimicrobiana aumenta su virulencia y adquiere varias propiedades biológicas y patogénicas, tales como antigenicidad, actividad mitogénica, actividad quimiotáctica, histólisis enzimática y la capacidad de activación de las células del hospedero. (17)

Los invasores microbianos y sus productos pueden salir hacia el periápice a través de forámenes apicales o laterales, produciendo alteraciones en el tejido periapical. (6) El daño es causado por las bacterias y sus productos, tales como enzimas (colagenasa, hialuronidasa, condroitinasa, fosfatasa ácida), exotoxinas y metabolitos (butirato, propionato de amonio, poliaminas, indol, compuestos de

azufre). Además, los componentes bacterianos, como el peptidoglicán, ácido teicoico, fimbria, otras proteínas de membrana, cápsula, y lipopolisacáridos (LPS), estimulan el desarrollo de una respuesta inmune por parte del hospedero capaz de causar destrucción tisular severa. (19)

La irritación de los tejidos perirradiculares resulta en una respuesta inmuno-inflamatoria por parte del hospedero que incluye vasodilatación, estasis vascular y aumento de la permeabilidad vascular. (8) En esta patología infecciosa existe una compleja interacción entre las bacterias y la respuesta inmune. (17)

El sistema inmune del hospedero puede mantener una defensa activa contra los microorganismos invasores y sus toxinas, pero no es capaz de destruir ni eliminar completamente estos factores patógenos. (4, 5)

En la respuesta inmuno-inflamatoria participan diversas clases de células, mediadores intercelulares, anticuerpos y moléculas efectoras, dando como resultado la destrucción de los tejidos periapicales y la formación de una lesión periapical (LPA), la cual podría representar una barrera defensiva para evitar la excesiva invasión bacteriana extrarradicular. (5, 6)

Radiográficamente, las LPAs se observan como zonas radiolúcidas que rodean el ápice dentario y pueden corresponder a un quiste radicular inflamatorio (QRI) o un granuloma periapical (GP). Su diagnóstico diferencial es histopatológico, ya que la imagen radiográfica resulta insuficiente para confirmar el diagnóstico de la lesión. (3, 21)

El GP corresponde a una masa localizada de tejido de granulación rodeado por una cápsula de tejido conectivo fibroso. Está compuesto por fibroblastos, colágeno y células inflamatorias como macrófagos (Mø), polimorfonucleares neutrófilos (PMNs), linfocitos B (LB) y linfocitos T (LT). Es común encontrar células con capacidad latente proliferativa, provenientes de restos epiteliales de Malassez, formando islas pequeñas, filamentos y/o trabéculas de espesor variable. El estímulo inflamatorio de estos restos epiteliales podría generar la formación de un

QRI que corresponde a una cavidad patológica cerrada, revestida en forma parcial o en su totalidad por epitelio plano pluriestratificado no queratinizado, tejido conectivo subyacente e infiltrado inflamatorio, principalmente compuesto por Mø y pequeños vasos sanguíneos. (17, 22)

Mientras exista un balance dinámico entre los agentes irritantes exógenos y los mecanismos de defensa del hospedero, tanto la destrucción como la recuperación de los tejidos ocurrirán simultáneamente, manteniéndose la lesión asintomática de manera indefinida. (5, 8)

### **Absceso Apical Agudo**

Una infección puede ser totalmente asintomática en algunos individuos, pero puede causar daños severos en otros. Esto dependerá de los resultados del encuentro entre los microorganismos y el hospedero. Dependiendo de la intensidad y la duración de la agresión bacteriana, la respuesta del tejido puede consistir en la inflamación aguda o crónica. Una lesión excesiva y repentina en la zona periapical puede provocar daño tisular severo y desencadenar un AAA. (19, 23)

El AAA es una inflamación de los tejidos perirradiculares, asociada a la formación de exudado dentro de la lesión. Generalmente es secundario a la caries dental o tratamiento endodóntico fallido. (7, 8)

Después de que la pulpa cameral es vulnerada, se produce la colonización del canal radicular, con una comunidad microbiana compleja formada por diferentes poblaciones bacterianas. Dentro de las especies presentes se encuentran anaerobios estrictos, cocos y bacilos Gram negativos, junto con anaerobios facultativos. Las infecciones en las que existe una microbiota mixta aerobia son poco frecuentes, representando el 6% de los abscesos periapicales. Los abscesos causados únicamente por anaerobios estrictos ocurren en aproximadamente el 20% de los casos. Una compleja mezcla de anaerobios

estrictos y anaerobios facultativos están presentes en la mayoría de estas infecciones (59-75%). (7, 24, 25)

Las mismas especies que se asocian a sintomatología también han sido relacionadas con casos asintomáticos. **(Tabla 1)** Esto indica que la aparición de los síntomas podría ser el resultado de un conjunto mucho más complejo de acontecimientos, dependientes de diversos factores relacionados tanto con los patógenos como con el hospedero. (19, 26)

**Tabla 1. Género de patógenos endodónticos putativos asociados comúnmente con las diferentes formas de enfermedades perirradiculares.**

PAA	AAA
<i>Bacteroides</i>	<i>Bacteroides</i>
<i>Treponema</i>	<i>Treponema</i>
<i>Prevotella</i>	<i>Prevotella</i>
<i>Porphyromonas</i>	<i>Porphyromonas</i>
<i>Fusobacterium</i>	<i>Fusobacterium</i>
<i>Peptoestreptococci</i>	<i>Peptoestreptococci</i>
<i>Eubacterium</i>	<i>Estreptococcus</i>
<i>Actinomyces</i>	
<i>Campylobacter</i>	

Adaptado de Siqueira y cols. (19)

En biofilm, las bacterias por lo general expresan características fenotípicas adicionales en comparación a las exhibidas cuando están en un cultivo puro (planctónicas). Esto sugiere que el sinergismo bacteriano juega un papel importante en la patogénesis de la enfermedad, ya que para inducir un AAA y sobrevivir, las bacterias deben superar los mecanismos de defensa del huésped. (19, 23)

Entre las causas de aumento en la susceptibilidad a la infección por parte del hospedero, la deficiencia en la respuesta inmune puede ser considerada como una de las más significativas. Los niños y los ancianos presentan una respuesta inmune debilitada, graves deficiencias en la nutrición van a interferir con los mecanismos de inmunidad. Los factores hormonales, el estrés, la infección por virus de inmunodeficiencia humana (VIH), el uso de drogas inmunosupresoras y las enfermedades debilitantes (como la diabetes y neoplasias malignas) también pueden influir en la respuesta del huésped a la infección. (19)

Los mecanismos de defensa del hospedero contra la salida de las bacterias desde el canal radicular parecen ser el factor más importante implicado en la formación de pus asociada con el AAA. La magnitud de la respuesta del hospedero será directamente proporcional a la virulencia y el número de células microbianas presentes. (19)

El estudio histopatológico del área periapical con AAA revela una zona central de necrosis por licuefacción, con PMNs en desintegración y otros residuos celulares rodeados por Mø vivos y en ocasiones linfocitos y células plasmáticas. El examen bacteriológico suele revelar bacterias vivas y muertas. (8)

La inflamación no se limita al ligamento periodontal, sino que causa cambios inflamatorios en el hueso. La propagación de la respuesta inflamatoria hacia el hueso esponjoso da por resultado la reabsorción del hueso periapical. Los pacientes padecen dolor, eritema y pueden presentar también síntomas generales, como fiebre y aumento en la cuenta de leucocitos. Debido a la presión causada por la acumulación de exudado dentro de los tejidos limitantes, el dolor es severo. Un diente con AAA revela sensibilidad a la percusión y a la palpación del fondo de vestíbulo. No existe respuesta pulpar al frío, el calor o los estímulos eléctricos. (8)

El proceso de supuración busca las líneas de menor resistencia y con el tiempo perfora la placa cortical. La extensión del absceso a través del periostio hacia los tejidos blandos suele acompañarse de aumento de volumen localizado y

reducción de los síntomas. El lugar del área afectada está determinado por la relación del ápice del diente afectado con las inserciones musculares. (8)

La extensión del aumento de volumen refleja la cantidad y naturaleza del irritante que sale del sistema de canales radiculares, la virulencia, el período de incubación de las bacterias implicadas y la resistencia del huésped. (8)

### **Respuesta inmune del hospedero**

El sistema inmune es parte de los mecanismos biológicos destinados a mantener la integridad estructural y funcional de los individuos y, está genéticamente programado para la neutralización y eliminación de agentes infecciosos, células y moléculas extrañas. (11)

Los componentes celulares y moleculares del sistema inmune se han dividido tradicionalmente en componentes naturales o innatos y componentes adquiridos o específicos que han desarrollado estrategias, mecanismos y receptores distintos para el reconocimiento inmunológico. Existe una interacción bidireccional entre estos dos sistemas: el sistema inmune innato funciona como una alerta para el sistema inmune específico y puede determinar el tipo de respuesta adquirida. (11)

La inmunidad innata constituye la primera línea de defensa contra la infección. Está constituida por un conjunto de diversos tipos celulares y factores solubles (**Tabla 2**) encargados de la resistencia del huésped ante agentes infecciosos con los cuales nunca se ha tenido contacto. Es de acción inmediata, no requiere exposición previa al antígeno y no se modifica con exposiciones repetidas al agente infeccioso. (11)

**Tabla 2. Componentes de la inmunidad innata.**

Celulares	Solubles
Células epiteliales de la piel y mucosas Mastocitos Polimorfonucleares neutrófilos (PMNs) Monocitos (MO) Macrófagos (Mø) Células Natural Killer (NK)	Defensinas, lisozimas y otras Sistema del complemento Colectinas Pentraxinas (Proteína C reactiva) Factores de coagulación Citoquinas (Factor de Necrosis Tumoral (TNF), Interleuquinas (IL), Interferón (INF)) Quimioquinas

Adaptado de Palomo y cols. (11)

A diferencia de la inmunidad innata, la inmunidad adaptativa es específica y tiene memoria inmunológica, lo que permite al organismo, ante un segundo contacto con el agente infeccioso, presentar una respuesta más rápida e intensa. Según las células involucradas, se divide en inmunidad celular, en la que participan LT, e inmunidad humoral, en la que participan los anticuerpos secretados por LB. (11)

Para que la respuesta inmune pueda ser llevada a cabo deben ocurrir una serie de eventos modulados por citoquinas, proteínas solubles producidas por una gran variedad de células y secretadas en forma transitoria por efecto de un estímulo. Representan el lenguaje universal de las células y permiten que éstas reconozcan lo que está ocurriendo a su alrededor y puedan establecer una respuesta. Las citoquinas participan en la proliferación y diferenciación celular, en la actividad microbicida, en la reacción inflamatoria, en la respuesta inmune específica y no específica y en la producción de anticuerpos. (27)

Dentro de esta gran familia, se pueden diferenciar las citoquinas proinflamatorias (IL-1, IL-6, IL-8 y TNF- $\alpha$ ), que promueven la inflamación en el

tejido y activan la reabsorción ósea; y las citoquinas inmunorreguladoras (IL-10 y factor de crecimiento transformante beta (TGF- $\beta$ )) importantes para los procesos de reparación de los tejidos y regulación negativa de la respuesta inflamatoria. (28, 29)

Cuando hay una infección en la zona perirradicular, se genera una inflamación aguda en la cual existe un aumento del flujo sanguíneo, lo que conduce a una mayor permeabilidad vascular y la colección de líquido extracelular. El infiltrado contiene leucocitos, predominantemente PMNs, que migran junto con MO y M $\phi$  al tejido afectado. (30, 31)

Los PMNs junto con los M $\phi$  secretarán IL-1, IL-6, IL-8 y TNF- $\alpha$ . (28) Estas citoquinas intensificarán la respuesta vascular local, la reabsorción ósea osteoclástica y la degradación de matriz extracelular (MEC). Por otro lado, los PMNs iniciarán la fagocitosis de los agentes extraños para su posterior degradación. La suma del exudado inflamatorio, leucocitos, diversas especies bacterianas, células muertas y desechos de los tejidos van a formar pus, elemento característico del AAA. Todo este proceso provocará una alerta general por acción endocrina, produciendo fiebre y compromiso del estado general. (30, 31)

Si los microorganismos son momentáneamente vencidos y recluidos al interior del SCR, se producirá una fase crónica, en la cual se observa una lesión rica en células como M $\phi$ , linfocitos y células plasmáticas. Esta LPA refleja un estado de equilibrio entre las defensas del huésped y los irritantes microbianos. (17, 30) En esta transformación de estado agudo a crónico, los mecanismos proinflamatorios son controlados mediante las citoquinas inmunorreguladoras (IL-10 y TGF- $\beta$ ) para evitar la destrucción excesiva de los tejidos. (28)

En consecuencia, la PAA puede permanecer relativamente inactiva y asintomática durante largos períodos de tiempo, sin observarse grandes cambios radiográficos. Este delicado equilibrio temporal puede perturbarse por uno o más factores que favorezcan a los microorganismos que se encuentran al interior del SCR. De este modo, las bacterias o sus productos pueden avanzar nuevamente

hacia los tejidos periapicales, provocando la reagudización espontanea de la LPA. (17, 30)

### **Polimorfonuclear Neutrófilo**

Los neutrófilos o leucocitos PMN son componentes esenciales del sistema inmune innato. Se les considera la primera línea de defensa contra infecciones bacterianas y fúngicas (además de las barreras naturales), seguidos por los Mø y linfocitos. (5, 11, 12)

Se producen en la médula ósea a partir de células madre mieloides, por medio de un proceso denominado “fagocitopoyesis”. (12)

Se caracterizan morfológicamente por un núcleo segmentado y un citoplasma que contiene numerosos gránulos especializados, que han sido clasificados como primarios (azurófilos), secundarios (específicos) y terciarios (secretores). (11, 32)

Los gránulos azurófilos contienen hidrolasas ácidas, proteasas neutras (elastasa, catepsinas G y D), proteínas catiónicas, mieloperoxidasa (MPO), beta glucuronidasa, fosfatasa ácida, lisozimas y defensinas. Los gránulos específicos contienen lisozimas, lactoferrinas, y colagenasas. Mientras que los gránulos secretores son un subconjunto único de gránulos que son secretados más fácilmente a la estimulación de las células. (32, 33)

Los PMNs circulan en sangre durante períodos relativamente cortos ya que su vida media es de sólo 8-20 horas, aumentando varias veces su tiempo de vida al entrar en los tejidos infectados o inflamados. (12)

Estas células se dirigen hacia los tejidos afectados en respuesta a señales químicas. Son altamente especializados, siendo poseedores de un arsenal impresionante de mecanismos citotóxicos que son capaces de eliminar una amplia gama de patógenos microbianos. (34)

La respuesta de los PMNs a la invasión microbiana se puede dividir en:

1. *Adherencia*: Interacción entre moléculas específicas superficiales de los PMNs y su correspondiente receptor en células endoteliales. (32)
2. *Quimiotaxis*: Atracción hacia el foco de infección en respuesta a moléculas quimiotácticas específicas (IL-8, factor C5a del complemento (C5a), linfocito T B4 (LTB4), péptidos de N-formil y factores de activación plaquetaria). (32)
3. *Fagocitosis*: Reconocimiento de moléculas específicas en la superficie bacteriana (opsoninas). Esto permite que el PMN encierre al microorganismo en un fagosoma, vía invaginación de la membrana plasmática. (12, 32)
4. *Actividad microbicida*: Una vez fagocitados los microorganismos, éstos son destruidos. (32)

La destrucción del microorganismo en el interior del neutrófilo se produce a través de dos mecanismos diferentes: dependientes e independientes de oxígeno. Ambos tipos de mecanismos, a menudo participan en forma sinérgica. (11)

Durante la fagocitosis se desencadena una serie de reacciones enzimáticas dependientes de energía, generándose un aumento del consumo de oxígeno. Los productos de este proceso metabólico son formas reducidas de oxígeno molecular con gran potencial tóxico para bacterias y hongos, como anión superóxido ( $O_2^-$ ), peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y radical hidroxilo ( $OH^\cdot$ ). Estos metabolitos pueden actuar a través de un mecanismo dependiente o independiente de MPO. (11, 32, 35)

En los mecanismos microbicidas independientes del oxígeno participan proteínas y enzimas presentes en los gránulos citoplasmáticos de los fagocitos. Entre éstas destacan: las lisozimas, diversas proteasas y los efectos bactericidas directos de la lactoferrina. (11, 32)

Una vez que el PMN ha cumplido su función, muere por apoptosis y es eliminado por los Mø para evitar la posible liberación de su contenido citotóxico al medio extracelular, hecho que podría ocurrir en caso de muerte por necrosis. (12)

Las deficiencias en el número y/o función del PMN pueden provocar el desarrollo de diversas enfermedades inflamatorias como consecuencia de una disminuida respuesta inmune del huésped. (12)

Aunque el papel de los PMNs es principalmente beneficioso, su acumulación persistente en el sitio de inflamación junto con su estimulación continua va a generar una excesiva liberación de su contenido al espacio extracelular, lo que puede producir trastornos funcionales y daño tisular severo. (12, 36)

Los radicales de oxígeno producidos por los PMNs pueden dañar moléculas muy importantes, como proteínas, lípidos, carbohidratos y ácidos nucleicos. En la degranulación de los PMNs también se liberan enzimas proteolíticas, como la elastasa, que puede hidrolizar diferentes proteínas de la matriz extracelular (elastina, fibronectina y colágeno tipo III y IV). Y también la colagenasa que es capaz de degradar el colágeno tisular. (12)

La alteración de la apoptosis de los PMNs también forma parte en la producción de daño tisular. Se ha asociado con la aparición de diferentes enfermedades inflamatorias, tanto agudas como crónicas. Existen varias moléculas inflamatorias que retrasan la apoptosis, dentro de las cuales destaca el factor estimulador de colonias de granulocitos (G-CSF) y factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF). Otros estudios han demostrado la influencia de LPS, C5a, LTB<sub>4</sub>, interferón gama (IFN- $\gamma$ ), IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, e IL-15. (12)

Los PMNs tienen un importante rol en la patogénesis de enfermedades inflamatorias como la periodontitis, por lo que posiblemente también estén

involucrados en el origen y evolución de enfermedades periapicales como la PAA y el AAA. (12)

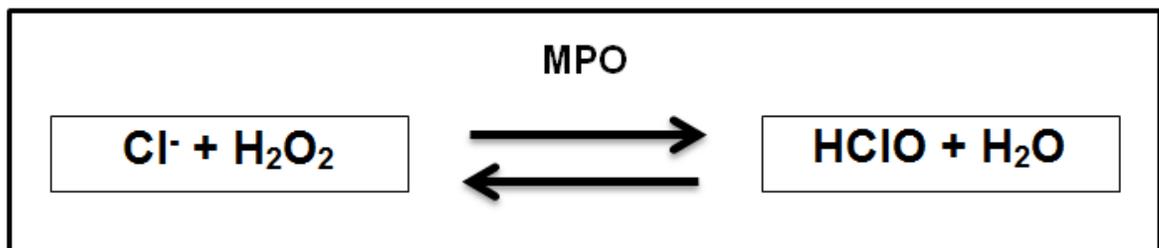
### Mieloperoxidasa

La mieloperoxidasa (MPO, peróxido de hidrógeno oxidoreductasa, EC 1.11.1.7.) es una enzima ampliamente distribuida en el organismo y sus fuentes fundamentales las constituyen los PMNs. Ha sido aislada a partir de diferentes fluidos biológicos (saliva, líquido sinovial y semen, entre otros) y también de diferentes tejidos (corazón, riñón, piel, hígado y placenta). (13)

Se considera que la MPO es un constituyente clave del armamento citotóxico de los PMNs, es la proteína más abundante en estas células y se encuentra localizada a nivel lisosomal, en sus gránulos primarios o azurófilos. (11, 13, 14)

La MPO cataliza la formación de ácido hipocloroso (HClO), a partir de la reacción entre  $\text{H}_2\text{O}_2$  y  $\text{Cl}^-$ . **(Figura 1)** Este potente oxidante y antimicrobiano (antibacteriano, antifúngico, antiviral y antimicoplasma) contribuye al mecanismo de defensa contra los agentes infecciosos cuando es liberado en el fagosoma. (11, 14)

**Figura 1. Reacción mediada por Mieloperoxidasa.**



Tanto la MPO como el  $H_2O_2$  pueden ser liberados al exterior de la célula, donde también formarán HClO, provocando daño sobre las células del hospedero y por consiguiente destrucción tisular, contribuyendo con la patogénesis de diversas enfermedades. (13, 15)

Varios procesos patológicos han sido relacionados con el incremento de la actividad de la MPO, lo que estaría asociado con un aumento del riesgo al estrés oxidativo, como en el caso de las enfermedades infecciosas (generales o locales), las enfermedades inflamatorias y la isquemia/reperfusión. Dentro de estas patologías se encuentran: hipercolesterolemia familiar, síndrome coronario agudo, aterosclerosis, cirrosis hepática, hepatitis crónica, fibrosis quística, leucemia mieloide aguda, enfermedades neurológicas degenerativas, entre otras. (13, 37, 38)

Se ha establecido que la actividad de la MPO está directamente relacionada con el número de PMNs infiltrados en los tejidos. Por esta razón, la actividad de la MPO se utiliza en estudios de inflamación para determinar el índice de migración leucocitaria y por lo tanto el nivel de estrés oxidativo. (13, 39)

En las patologías periapicales se produce un proceso inflamatorio que afecta a los tejidos perirradiculares del diente, este proceso se encuentra regulado por la actividad proteolítica de diversos mediadores, entre ellos enzimas como las metaloproteinasas de matriz extracelular (MMPs) y la actividad de los inhibidores tisulares de las metaloproteinasas (TIMPs). Un desequilibrio entre estos elementos se relaciona con daño tisular. (40, 41)

Las MMPs corresponden a una amplia familia de endopeptidasas, dependientes de zinc y calcio que actúan a pH neutro y que se expresan por varios tipos celulares que incluyen queratinocitos, células mesenquimales, células endoteliales y leucocitos. En conjunto son capaces de degradar la mayoría de los componentes de membrana basal y MEC. Se clasifican en 5 subgrupos según su especificidad de sustrato y estructura: collagenasas (MMP-1, -8 y -13), gelatinasas

(MMP-2 y -9), estromelisininas (MMP-3, -10 y -11), MMPs asociadas a membrana y otras MMPs. (42, 43)

El HClO participa en el control de la interacción entre TIMPs y MMPs. Produce la activación oxidativa tanto de colagenasas y gelatinasas latentes como la inactivación de los TIMPs. Esto genera un cambio en el equilibrio colagenasa/anticolagenasa, lo que es considerado un paso muy importante en la generación de daño en el tejido conectivo. (40, 44)

La MPO, tanto en la PAA como en el AAA, podría contribuir al mecanismo de defensa contra agentes infecciosos, como también favorecer la patogénesis de la enfermedad al provocar daño a los tejidos adyacentes, pero a la fecha su presencia no se ha estudiado en estas patologías. (12, 13, 15)

### **Mieloperoxidasa y exudado periapical**

El exudado periapical constituye una importante fuente de estudio de componentes moleculares provenientes de los tejidos periapicales. En dientes con patologías periapicales, el contenido obtenido a través del canal radicular corresponde al exudado inflamatorio secretado en los tejidos periapicales. (45)

Actualmente no existen estudios que reporten la presencia de MPO en exudado periapical, tanto en dientes con PAA como con AAA. Los estudios que se han realizado, se han enfocado en la medición de mediadores inflamatorios como IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, TNF- $\alpha$ , Prostaglandina E2 (PGE2), entre otros. (46-51)

Por los antecedentes expuestos anteriormente, el propósito de este trabajo es determinar los niveles de MPO en exudado periapical de dientes con diagnóstico de AAA y PAA para poder compararlos y asociarlos a la presencia de sintomatología en estas patologías periapicales.

## **HIPÓTESIS**

Existen mayores niveles de mieloperoxidasa en exudado periapical de dientes con absceso apical agudo respecto de dientes con periodontitis apical asintomática.

## **OBJETIVO GENERAL**

Demostrar que existen mayores niveles de MPO en exudado periapical de dientes con AAA comparado con dientes con PAA.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Determinar la concentración de proteínas totales (CPT) presente en exudado periapical de dientes con AAA y PAA.
2. Determinar y comparar los niveles de MPO en exudado periapical de dientes con PAA y AAA.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Tipo de estudio

El estudio realizado es de carácter descriptivo y cuenta con la aprobación del Comité de Ética de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile **(Anexo 1)**.

### Selección de Sujetos

Se seleccionaron 20 pacientes con diagnóstico de PAA y 13 con diagnóstico de AAA, consecutiva a necrosis pulpar séptica, con indicación de tratamiento endodóntico, en la Clínica de Endodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile. Previamente, fue explicado el procedimiento a los pacientes y se requirió de la firma de un consentimiento informado **(Anexo 2)**. Una copia fue entregada a los participantes del estudio para su lectura.

El diagnóstico se realizó mediante la anamnesis, examen clínico, examen radiológico y test de sensibilidad pulpar, que se registró en una ficha elaborada para tal fin **(Anexo 3)**.

Los criterios de inclusión para el diagnóstico de PAA fueron: respuesta negativa al test de sensibilidad pulpar (frío probado con Endo-Ice<sup>®</sup> Hygenic<sup>®</sup> y calor probado con transpoliisopreno) y que al examen radiográfico se observara destrucción ósea apical en relación al diente en cuestión (imagen radiográfica compatible con QR o GP). (3)

Para el diagnóstico de AAA los criterios de inclusión fueron: respuesta negativa al test de sensibilidad pulpar (frío probado con Endo-Ice<sup>®</sup> Hygenic<sup>®</sup> y calor probado con transpoliisopreno), dolor espontáneo, severo, pulsátil, persistente, aumento de volumen intra y/o extraoral, dolor a la palpación del fondo de vestíbulo, dolor a la percusión y/o masticación. (9) Además, se seleccionaron

únicamente dientes donde se observara destrucción ósea apical en relación al diente en cuestión en el examen radiográfico (imagen radiográfica compatible con QR o GP).

Se excluyeron del presente estudio a aquellos pacientes que recibieron medicación de antibióticos, corticoides o antiinflamatorios en los últimos 3 meses, mujeres embarazadas, en terapia hormonal de reemplazo y pacientes con enfermedades autoinmunes. (52, 53)

### **Obtención de las muestras**

A cada paciente que presentó uno o más dientes con diagnóstico de PAA y/o AAA e indicación de endodoncia, se le tomaron muestras de exudado periapical antes de la preparación químico-mecánica. Para esto, bajo aislación absoluta y unitaria, después de la conformación de la cavidad de acceso, sin uso de agua o irrigante, se introdujo una punta de papel absorbente estéril nº 20 al interior del canal radicular, a longitud aparente del diente, por un tiempo de 30 segundos. El procedimiento se repitió tres veces. En caso de observarse sangre en las puntas de papel, éstas se desecharon. Las muestras fueron almacenadas en tubos eppendorf y trasladadas en cadena de frío hasta su refrigeración a  $-80^{\circ}\text{C}$ , donde permanecieron congeladas hasta su procesamiento. (45)

### **Procesamiento de las muestras**

Las muestras de exudado periapical fueron eluidas desde las puntas de papel, utilizando un buffer de elución Tris- HCl pH 7,5 (0,5 M), NaCl (2 M),  $\text{CaCl}_2$  (250mM), Tritón x-100 (25%) con inhibidor de proteasa libre de EDTA (complete Mini, EDTA-free, REF11836170001, LOT12910200, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany), agregando 40  $\mu\text{l}$  por punta de papel, es decir, 120  $\mu\text{l}$  por tubo. Posteriormente se agitaron mediante vortex por 30 segundos y se incubaron a  $4^{\circ}\text{C}$  durante 30 minutos. Luego, los tubos se centrifugaron a 12.000 rpm durante 5 minutos a  $4^{\circ}\text{C}$ , se recuperó el sobrenadante y se repitió el procedimiento,

rescatando un volumen final de 240  $\mu$ l por tubo. Los eluidos fueron conservados a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta su utilización.

### **Cuantificación de Proteínas Totales**

A cada muestra se le realizó cuantificación de proteínas totales (mg/ml) mediante el método del ácido bicinconínico (Micro BCA<sup>TM</sup> Protein Assay Kit Pierce<sup>®</sup>, Rockford, USA), según instrucciones del fabricante. Este método interpreta la cantidad de proteínas presentes, mediante la intensidad del color en el espectrofotómetro, para esto, la concentración se ajustó en una curva con albúmina sérica de bovino (BSA).

### **Determinación de niveles de MPO**

Para determinar los niveles de MPO se realizó el test de ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay). Para esto se utilizó un kit comercial de acuerdo a las indicaciones del fabricante (MPO ELISA Kit. For the *in vitro* determination of Myeloperoxidase (MPO) in serum and plasma. K6631A, Immunodiagnostik AG, Alemania).

El Kit estaba compuesto por una placa de microtitulación conformada por 96 pocillos previamente recubiertos por el anticuerpo anti-humano específico para MPO. Los estándares y las muestras de eluido de exudado periapical provenientes de dientes con PAA y AAA se añadieron a cada pocillo de la placa de microtitulación. La MPO presente en las muestras se unió al anticuerpo de captura inmovilizado.

Luego, se agregó a cada pocillo un anticuerpo de detección anti-humano MPO conjugado con biotina, seguido de avidina conjugada con peroxidasa, produciendo tres capas conformadas por anticuerpo-antígeno-anticuerpo. Más tarde, se agregó tetrametilbencidina (TMB) a cada pocillo como un sustrato colorímetro para la MPO. La reacción provocó un cambio de color a azul, proporcional a la cantidad de MPO presente en la muestra.

Finalmente se agregó una solución ácida de detención y la reacción viró a un color amarillo. La intensidad del color se midió en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 450nm. La concentración de MPO en las muestras se determinó mediante una curva de absorbancia v/s concentración, confeccionada con los valores de los estándares.

Los niveles de MPO fueron normalizadas por sitio (MPO ng/ml).

### **Análisis estadístico de los datos**

El análisis estadístico se realizó con el programa GraphPad PRISM 5.0.

Las características de los pacientes a los cuales se les tomó muestras de exudado periapical fueron analizadas considerando el promedio  $\pm$  desviación estándar.

Para analizar la distribución de normalidad de los datos se aplicó el test de Shapiro-Wilk.

La distribución de los datos fue normal para las variables edad de los pacientes y cuantificación de MPO en las muestras a través de ELISA. Se utilizó el Test t no pareado para determinar si las diferencias observadas en las muestras eran estadísticamente significativas.

La distribución de los datos en la CPT no fue normal y se usó el test Mann Whitney para determinar si las diferencias observadas en las muestras eran estadísticamente significativas.

Se consideró significación estadística cuando  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

### Características generales de la muestra

La **Tabla 3** muestra las características de los pacientes seleccionados para este estudio.

Se seleccionaron 33 pacientes, 18 mujeres y 15 hombres, correspondiendo al 54,6% y 45,4% respectivamente. La edad promedio fue de  $39,8 \pm 10,7$  años.

Del total de pacientes que conformaron el estudio, se obtuvieron 20 muestras de exudado periapical de dientes con PAA (10 mujeres y 10 hombres, de entre 18 y 69 años) y 13 muestras de exudado periapical de dientes con AAA (8 mujeres y 5 hombres, de entre 28 y 52 años). No hubo diferencia significativa entre la edad de los pacientes con PAA y AAA ( $40,3 \pm 2,7$  versus  $39,1 \pm 2,1$ ,  $p=0,76$ , test t no pareado)

**Tabla 3. Características de los pacientes seleccionados.**

Diagnóstico	PAA	AAA
Tamaño muestra	n=20	n=13
Edad (años) *	$40,3 \pm 2,7$ €	$39,1 \pm 2,1$ €
Mujeres	n=10	n=8
Hombres	n=10	n=5

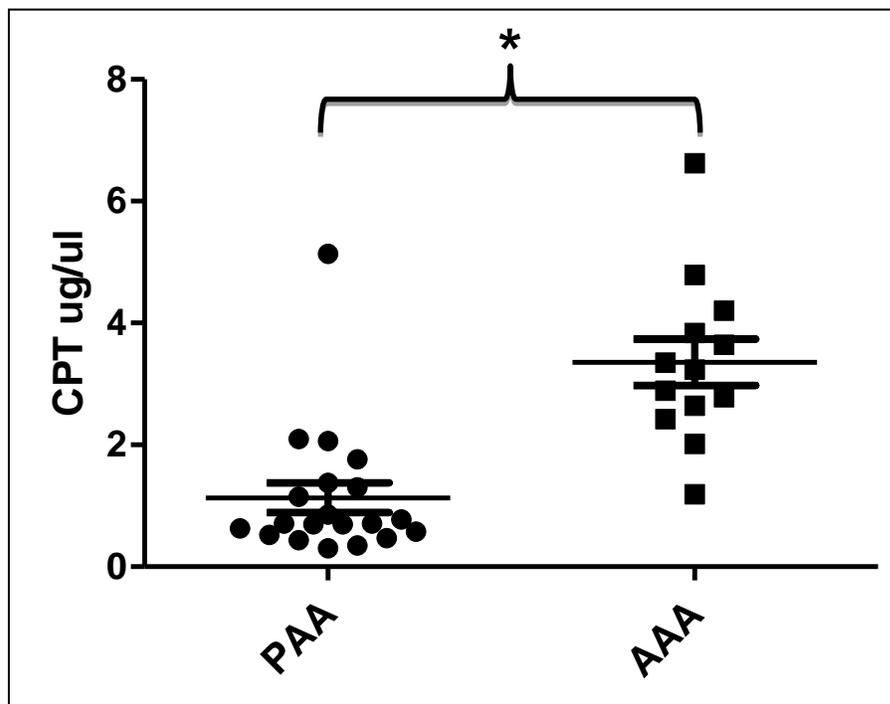
\* Expresado como promedio  $\pm$  desviación estándar

€:  $p=0,76$  No hay diferencia significativa (test t no pareado).

### Concentración de proteínas totales

Los datos correspondientes a la CPT en las muestras analizadas se exponen en la **Figura 2**.

En ésta se puede observar que la CPT obtenida de exudado periapical de dientes con AAA fue significativamente mayor que la obtenida de dientes con PAA. ( $3,356 \pm 1,360$  versus  $1,131 \pm 1,086 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ ,  $p < 0,0001$ , test Mann Whitney).

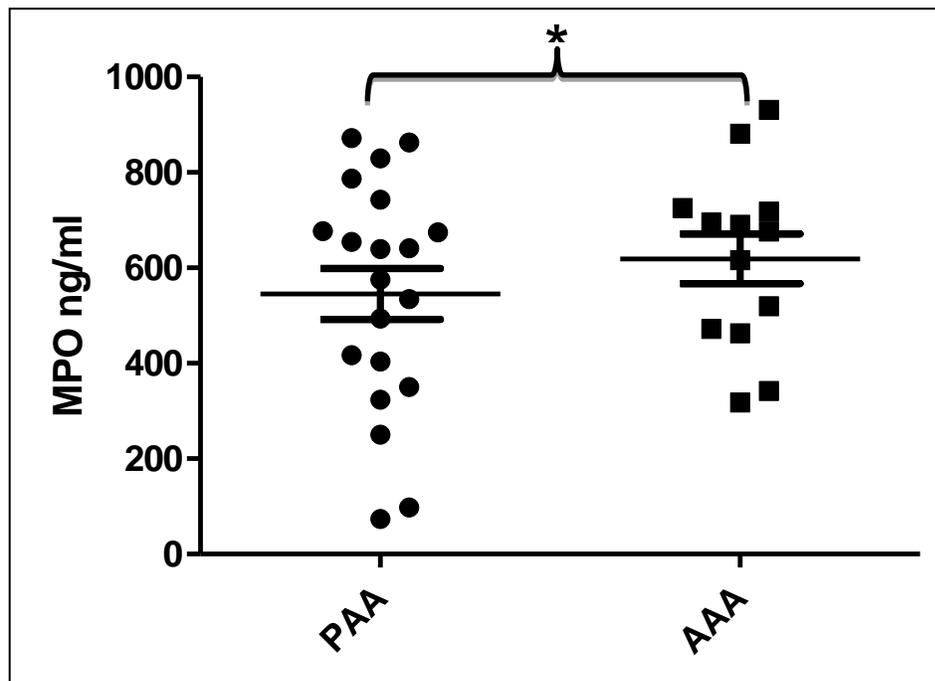


**Figura 2: Concentración de proteínas totales en  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  (promedio  $\pm$  desviación estándar)** La CPT obtenida de eluidos provenientes de exudado periapical de dientes con AAA fue significativamente mayor que la de dientes con PAA.  $*p < 0,0001$  (Test Mann Whitney). La línea horizontal en cada columna del gráfico representa la media aritmética o promedio de la CPT para cada grupo estudiado. La línea superior e inferior al promedio corresponde a la desviación estándar.

### Determinación de niveles de MPO

Los datos de los niveles de MPO presentes en las muestras analizadas se exponen en la **Figura 3**.

Las muestras analizadas corresponden a eluido de exudado periapical proveniente de pacientes con PAA y AAA. Los niveles de MPO son mayores en dientes con AAA en comparación con PAA, pero la diferencia no es estadísticamente significativa. ( $619,1 \pm 188,2$  versus  $545,2 \pm 239,1$  ng/ml,  $p=0,35$ , test t no pareado).



**Figura 3: Niveles de MPO en ng/ml (promedio  $\pm$  desviación estándar)** Los niveles de MPO que se obtuvieron de exudado periapical de dientes con PAA no tuvieron diferencias estadísticamente significativas en comparación con dientes con AAA. \* $p=0,35$  (Test t no pareado). La línea horizontal en cada columna del gráfico representa la media aritmética o promedio de los niveles de MPO para cada grupo estudiado. La línea superior e inferior al promedio corresponde a la desviación estándar.

## DISCUSIÓN

La PAA corresponde a una respuesta inmuno-inflamatoria local, que produce la destrucción del tejido periapical del diente, cuya patogénesis implica el balance dinámico entre la respuesta inmune del hospedero y los microorganismos localizados en el SCR. (16, 17). En esta respuesta participan diversas clases de células (MO, Mø, LT, LB, eosinófilos, mastocitos, células plasmáticas y PMN), mediadores intercelulares, anticuerpos y moléculas efectoras, dando como resultado la formación de una LPA. (5, 17, 54)

Mientras exista un balance dinámico entre los irritantes microbianos y los mecanismos de defensa del hospedero, la PAA se mantendrá asintomática de manera indefinida, sin embargo, si este equilibrio se perturba, se generará daño tisular severo, desencadenando un AAA, (5, 8, 17) el cual se caracteriza por la presencia de dolor espontáneo y severo, sensibilidad del diente a la percusión y masticación e inflamación de los tejidos asociados. (8, 9)

En el presente trabajo se estudió, por primera vez, la presencia de MPO en exudado periapical proveniente de dientes con diagnóstico de PAA y AAA, y se determinó que a pesar de que los niveles de MPO son ligeramente mayores en dientes con AAA comparado con PAA, las diferencias no fueron estadísticamente significativas, y por lo tanto, no se confirma la hipótesis planteada.

La MPO es una enzima cuya fuente fundamental la constituyen los PMNs. Estas células del sistema inmune innato, son consideradas la primera línea de defensa contra infecciones bacterianas y fúngicas. Se dirigen al sitio de infección por un gradiente químico (quimiotaxis) y una vez en el lugar de la lesión, reconocen moléculas específicas en la superficie del invasor para, posteriormente, invaginarlo (fagocitosis) y destruirlo (actividad microbicida). (5, 11, 12)

La MPO, a través de su reacción con  $H_2O_2$ , forma radicales libres y sustancias oxidativas difusibles con una potente actividad antimicrobiana, que también tienen el potencial de producir daño oxidativo en el tejido del huésped,

mediante la modificación de proteínas, lípidos, ADN y ARN, además de provocar disfunciones celulares que estarían implicadas en la patogénesis de diversas enfermedades. (15, 55) Se ha demostrado su presencia en la hipercolesterolemia familiar, síndrome coronario agudo, aterosclerosis, cirrosis hepática, hepatitis crónica, fibrosis quística, leucemia mieloide aguda, enfermedades neurológicas degenerativas, enfermedades orales como periodontitis crónica y periodontitis agresiva, entre otras. (13, 37, 38, 56, 57)

Un estudio de Wang y cols. (44) demostró que el HCIO generado por la MPO produce una inactivación oxidativa de TIMP-1 in vivo, lo que desregula el equilibrio fisiológico entre MMPs y TIMPs, aumentando la actividad proteolítica y generando daño tisular. Los cambios en la actividad proteasa/antiproteasa y el deterioro de este balance es considerado un paso importante en la destrucción del tejido conectivo, fenómeno que es característico de las patologías periapicales estudiadas en el presente trabajo. (41)

Los resultados del ELISA se consideraron expresados en cantidades absolutas de MPO por sitio. Esto coincide con lo descrito por Golub y cols. (58) en que el método más sensible para calcular los niveles de moléculas presentes en el fluido gingival crevicular (FGC) es la expresión de cantidades absolutas bajo un tiempo estandarizado de colección de la muestra (30 segundos), lo que ocurriría de manera similar con las muestras de exudado periapical. Esto se debe al pequeño volumen de muestra recolectada y a que el muestreo representa que el total o la mayor parte del FGC es removido del crévice del sitio en estudio, de modo análogo a lo que ocurre con el exudado periapical al ser removido desde el interior del canal radicular del diente en estudio. (59)

No hay reportes de trabajos de investigación previos donde se haya estudiado la presencia de MPO en exudado periapical de dientes con PAA y AAA.

Los resultados obtenidos no permiten demostrar una participación de la MPO en la exacerbación de la inflamación periapical asociada a sintomatología clínica. Esto puede ser efectivamente así, o bien, podría estar influenciado por

diversas razones, entre las cuales se encuentra el reducido n muestral del grupo con AAA, lo que se debe principalmente a la alta prevalencia de automedicación presente en nuestro país (67%), en la cual los antiinflamatorios no esteroideos (AINES) ocupan el primer lugar. (60, 61) El consumo de estos medicamentos era considerado dentro de los criterios de exclusión, ya que interfieren con las funciones de los PMNs, tales como su adherencia al endotelio y degranulación. (62, 63)

Otra posible causa para los resultados obtenidos, es que las enfermedades periodontales no fueron consideradas dentro de los criterios de exclusión. La periodontitis corresponde a una patología infecciosa que conduce a la pérdida lenta y progresiva del aparato de inserción del diente. Presenta una alta prevalencia en la población chilena, alcanzando un 93,45% entre los 35-44 años y un 97,58% entre los 65-74 años. (64) Se han descrito niveles elevados de MPO en FGC de sitios con gingivitis y periodontitis. Métodos inmunológicos han demostrado mayores cantidades/sitio de MPO al aumentar la gravedad de la inflamación gingival y periodontal y una disminución de estos niveles después de realizado el tratamiento. (39, 65-69) Belmar y cols. (70) describieron un aumento en la actividad de MMP-2 y MMP-9 en FGC de dientes con PAA en comparación con dientes sanos. Esto revela que existen cambios en la composición del FGC de acuerdo al estado de salud/enfermedad de los tejidos periapicales. La interrelación presente entre los tejidos periapicales y el FGC permite inferir que las enfermedades periodontales tendrían algún nivel de influencia en los niveles de MPO obtenidos del exudado periapical.

Muchos autores han buscado asociar la presencia de ciertas citoquinas proinflamatorias, tales como IL-1, IL-6, IL-8, IL-17 y TNF- $\alpha$ , con sintomatología en dientes con LPAs. Gazivoda y cols. (28) encontraron niveles elevados de IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-8 en LPAs sintomáticas en comparación con asintomáticas. Del mismo modo, de Sá y cols. (71) establecieron una asociación positiva entre la alta concentración de IL-1 $\beta$  e IL-6 y la presencia de lesiones agudas. Esto se correlaciona con el estudio realizado por de Jongh y cols. (72), en el que se le atribuye un papel importante a la IL-6 en la fisiología de la nocicepción y la

fisiopatología del dolor. Colić y cols. (73) encontraron una correlación positiva entre los niveles de IL-17 e IL-8 en LPA sintomáticas, así mismo, Shimauchi y cols. (49) y Lukić y cols. (74) demostraron la presencia de niveles significativamente más altos de IL-8 en lesiones con síntomas dolorosos comparado con casos asintomáticos. Dezerega y cols. (75) estudiaron la expresión de la proteína quimiotáctica de monocitos 3 (MCP-3) en LPAs para determinar la asociación de esta quimioquina con la presencia de sintomatología en periodontitis apical. Los resultados obtenidos describieron una mayor expresión de MCP-3 en exudado periapical de PAS en contraste con los casos asintomáticos, lo que se explicaría por la estimulación por parte de mediadores proinflamatorios, que pueden inducir la expresión de MCP-3, estimulando su síntesis y secreción.

Por otro lado, Prso y cols. (48) evaluaron los niveles de TNF- $\alpha$  en LPAs sintomáticas y asintomáticas extirpadas quirúrgicamente, y determinaron que TNF- $\alpha$  se encontraba en alta concentración en ambas lesiones, sin presentar diferencias estadísticamente significativas. Lim y cols. (76) y Ataoğlu y cols. (47) tampoco encontraron diferencias significativas en los niveles de IL-1 $\beta$  presentes en grupos con sintomatología, en comparación con grupos sin sintomatología. Finalmente Radics y cols. (77) estudiaron los niveles de IL-6 en LPAs sintomáticas y asintomáticas y encontraron una tendencia a niveles más altos de IL-6 en lesiones sintomáticas, pero la diferencia no fue significativa. De manera similar a los trabajos mencionados, los resultados obtenidos en el presente estudio no demostraron diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de MPO en lesiones sintomáticas (AAA) en comparación con lesiones asintomáticas (PAA).

En relación con los resultados de CPT presentados en la figura 2, existen diferencias estadísticamente significativas entre PAA y AAA. Esto podría explicarse, porque durante la inflamación aguda, se alteran las bases morfofisiológicas del endotelio por acción de mediadores químicos, con el consecuente aumento de la permeabilidad vascular, lo que genera un exudado compuesto por células y una alta concentración de proteínas. (31, 78)

Si bien los hallazgos del presente trabajo de investigación no permiten asociar a la MPO con presencia de sintomatología a nivel periapical, ya que a pesar de ser mayor en AAA que en PAA, la diferencia no es significativa, se sugiere complementar el estudio aumentando el tamaño muestral y considerando como criterio de exclusión la presencia de enfermedades periodontales, para lograr tener una mejor comparación entre los grupos estudiados.

El conocimiento de la etiopatogenia de estas patologías periapicales apunta a encontrar nuevos métodos diagnósticos, pronósticos y de control post-tratamiento de las LPAs, ya que actualmente se basan fundamentalmente en el análisis radiográfico, siendo la reabsorción ósea en el área periapical el principal indicador de progreso o reparación de estas lesiones. (2, 79) Lamentablemente podrían pasar meses o incluso años antes de detectar cambios en la densidad ósea mediante radiografía. (80) El estudio de la MPO podría contribuir a descubrir métodos más sensibles y menos invasivos que permitan monitorear la presencia y evolución de las LPAs, antes y después del tratamiento endodóntico.

Descifrar en su totalidad el mecanismo de acción de la MPO sobre las diferentes células presentes en el organismo, contribuiría a entender la etiopatogenia de otras enfermedades que involucran inflamación y daño tisular.

Comprender los efectos de la MPO en la red de células, mediadores intercelulares, anticuerpos y moléculas involucradas en la patología periapical, podría contribuir a descifrar cuál es su participación en el complejo mecanismo etiopatogénico involucrado en la generación de las LPAs y en la aparición de sintomatología, ofreciendo una alternativa terapéutica en el futuro, mediante la inhibición de sus acciones deletéreas.

## CONCLUSIONES

Del presente trabajo de investigación se pueden concluir los siguientes puntos:

1. Se puede detectar la presencia de MPO en exudado periapical tanto de dientes con PAA como en dientes con AAA.
2. La CPT en exudado periapical de dientes con AAA es significativamente mayor que en dientes con PAA.
3. Si bien los niveles de MPO en exudado periapical de dientes con AAA son mayores que en dientes con PAA, la diferencia no es estadísticamente significativa.
4. De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente trabajo, no se logró demostrar una asociación entre los niveles de MPO y la presencia de sintomatología. Esta asociación si está presente entre la CPT y sintomatología.
5. Se sugiere complementar el estudio aumentando el tamaño muestral y considerando como criterio de exclusión la presencia de enfermedades periodontales, para lograr tener una mejor comparación entre los grupos estudiados.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AAE. Consensus Conference Recommended Diagnostic Terminology. *J Endod.* 2009;35(12):1634.
2. Katebzadeh N, Sigurdsson A, Trope M. Radiographic evaluation of periapical healing after obturation of infected root Canals: an in vivo study. *Int Endod J.* 2000;33(1):60-6.
3. Gutmann J, Baumgartner J, Gluskin A, Hartwell G, Walton R. . Identify and define all diagnostic terms for periapical/ periradicular health and disease states. *JEndod.* 2009;35(12):1658-74.
4. Cohen S, Hargreaves KM. *Pathways of the Pulp.* St. Louis, Mo, USA: Mosby; 2006. 542 p.
5. Márton I, Kiss C. Protective and destructive immune reactions in apical periodontitis. *Oral Microbiol Immunol.* 2000;15(3):139-50.
6. Siqueira JJ, Rôças IN. Bacterial pathogenesis and mediators in apical periodontitis. *Braz Dent J.* 2007;18(4):267-80.
7. Robertson D, Smith AJ. The microbiology of the acute dental abscess. *J Med Microbiol.* 2009;58(Pt 2):155-62.
8. Ingle J, Bakland L. *Endodontics* 5th edition. Hamilton, Ontario: B.C. Decker; 2002. 175-85 p.
9. Matthews D, Sutherland S, Basrani B. Emergency Management of Acute Apical Abscesses in the Permanent Dentition: A Systematic Review of the Literature. *JCDA.* 2003;69(10):660.
10. Miyasaki K, Nemirovskiy E. Myeloperoxidase isoform activities released by human neutrophils in response to dental and periodontal bacteria. *Oral Microbiol Immunol.* 1997;12(1):27-32.
11. Palomo I, Ferreira A, Sepúlveda C, Rossemblatt M, Vergara U. *Fundamentos de Inmunología Básica y Clínica.* Talca, Chile: Universidad de Talca; 2009. 89-100 p.
12. Barbieri G, Flores J, Vignoletti F. El neutrófilo y su importancia en la enfermedad periodontal. *Av Periodon Implantol.* 2005;17(1):11-6.

13. García O, Pereira N, Flores R. . Enzimas generadoras de especies reactivas del oxígeno: Mieloperoxidasa. *Rev Cubana Invest Biomed.* 1998;17(3):190-7.
14. Lau D, Mollnau H, Eiserich J, Freeman B, Daiber A, Gehling U, y cols. Myeloperoxidase mediates neutrophil activation by association with CD11b\_CD18 integrins. *PNAS.* 2005;102(2):431-6.
15. Klebanoff S. Myeloperoxidase: friend and foe. *J Leukoc Biol.* 2005;77(5):598-625.
16. Aranda V. Niveles de mieloperoxidasa (MPO) en fluido gingival crevicular (FGC) de dientes con periodontitis apical asintomática (PAa). [Trabajo de investigación para optar al título de Cirujano-Dentista ]: Universidad de Chile; 2012.
17. Nair P. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. *Critical reviews in oral biology and medicine : an official publication of the American Association of Oral Biologists.* 2004;15(6):348-81.
18. Gomes B, Pinheiro ET, Gadê-Neto CR, Sousa EL, Ferraz CC, Zaia AA y cols. Microbiological examination of infected dental root canals. *Oral Microbiol Immunol.* 2004;19(2):71-6.
19. Siqueira JJ. Endodontic infections: concepts, paradigms, and perspectives. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2002;94(3):281-93.
20. Figdor D, Sundqvist G. A big role for the very small--understanding the endodontic microbial flora. *Aust Dent J.* 2007;52(1 Suppl):S38-51.
21. De Paula-Silva F, D'Silva NJ, da Silva LA, Kapila YL. High matrix metalloproteinase activity is a hallmark of periapical granulomas. *J Endod.* 2009;35(9):1234-42.
22. Carrillo C, Vera F, Peñarrocha M, Martí E. The post-endodontic periapical lesion: histologic and etiopathogenic aspects. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2007;12(8):E585-90.
23. Siqueira JJ, Rôças IN, Oliveira JC, Santos KR. Detection of putative oral pathogens in acute periradicular abscesses by 16S rDNA-directed polymerase chain reaction. *J Endod.* 2001;27(3):164-7.

24. Montagner F, Jacinto RC, Signoretti FG, Gomes BP. Treponema species detected in infected root canals and acute apical abscess exudates. *J Endod.* 2010;36(11):1796-9.
25. Montagner F, Gomes BP, Kumar PS. Molecular fingerprinting reveals the presence of unique communities associated with paired samples of root canals and acute apical abscesses. *J Endod.* 2010;36(9):1475-9.
26. Rôças I, Siqueira JF Jr, Debelian GJ. Analysis of symptomatic and asymptomatic primary root canal infections in adult Norwegian patients. *J Endod.* 2011;37(9):1206-12.
27. Palomo I, Ferreira A, Sepúlveda C, Rossemblatt M, Vergara U. *Fundamentos de Inmunología Básica y Clínica.* Talca, Chile: Universidad de Talca; 2009. 211-19 p.
28. Gazivoda D, Dzopalic T, Bozic B, Tatomirovic Z, Brkic Z, Colic M. Production of proinflammatory and immunoregulatory cytokines by inflammatory cells from periapical lesions in culture. *J Oral Pathol Med.* 2009;38(7):605-11.
29. Colić M, Gazivoda D, Vucević D, Vasilijić S, Rudolf R, Lukić A. Proinflammatory and immunoregulatory mechanisms in periapical lesions. *Mol Immunol.* 2009;47(1):101-13.
30. Nair P. Apical periodontitis: a dynamic encounter between root canal infection and host response. *Periodontol 2000.* 2000;13:121-48.
31. Nekoofar M, Namazikhah MS, Sheykhrezae MS, Mohammadi MM, Kazemi A, Aseeley Z y cols. pH of pus collected from periapical abscesses. *Int Endod J.* 2009;42(6):534-8.
32. Van Dyke T, Hoop G. Neutrophil Function And Oral Disease. *Critical reviews in oral biology and medicine : an official publication of the American Association of Oral Biologists.* 1990;1(2):117-33.
33. Rojas W, Cano L. *Inmunología: Corporación para Investigaciones Biológicas.*; 2001. 263-72 p.
34. Edwards S. *Biochemistry and Physiology of the Neutrophil.* London: Cambridge University Press; 2005. 4-12 p.
35. Diz P, Ocampo A, Fernández J. Alteraciones cuantitativas y funcionales de los neutrófilos. *Med Oral.* 2002;7:206-21.

36. Minczykowski A, Woszczyk M, Szczepanik A, Lewandowski L, Wysocki H. Hydrogen peroxide and superoxide anion production by polymorphonuclear neutrophils in patients with chronic periapical granuloma, before and after surgical treatment. *Clin Oral Invest.* 2001;5(1):6-10.
37. Hoy A, Leininger-Muller B, Kutter D, Siest G, Visvikis S. Growing significance of myeloperoxidase in non-infectious diseases. *Clin Chem Lab Med.* 2002;40(1):2-8.
38. Lanza F. Clinical manifestation of myeloperoxidase deficiency. *J Mol Med (Berl).* 1998;76(10):676-81.
39. Marcaccini A, Amato P, Leaño F, Gerlach R, Ferreira J. Myeloperoxidase activity is increased in gingival crevicular fluid and whole saliva after fixed orthodontic appliance activation. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2010;138(5):613-6.
40. Emingil G, Afacan B, Tervahartiala T, Töz H, Atilla G, Sorsa T. . GCF and serum myeloperoxidase and matrix metalloproteinase-13 levels in renal transplant patients. *Arch Oral Biol.* 2010;55(10):719-27.
41. Castro C, Koss M, López M. . Marcadores bioquímicos de la enfermedad periodontal. *Med Oral.* 2003;8:322-8.
42. Hernández M, Martínez B, Tejerina J, Valenzuela MA, Gamonal J. MMP-13 and TIMP-1 determinations in progressive chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2007;34(9):729-35.
43. Leeman M, Curran S, Murray G. . The structure, regulation, and function of human matrix metalloproteinase-13. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 2002;37(3):149-66.
44. Wang Y, Rosen H, Madtes D, Shao B, Martin T, Heinecke J, y cols. Myeloperoxidase Inactivates TIMP-1 by Oxidizing Its N-terminal Cysteine Residue. *J Biol Chem.* 2007;282(44):31826–34.
45. Shimauchi H, Miki Y, Takayama S, Imai T, Okada H. . Development of a quantitative sampling method for periapical exudates from human root canals. *J Endod.* 1996;22(11):612-5.
46. Martinho F, Chiesa WM, Leite FR, Cirelli JA, Gomes BP. Correlation between clinical/radiographic features and inflammatory cytokine networks

- produced by macrophages stimulated with endodontic content. *J Endod.* 2012;38(6):740-5.
47. Ataoğlu T, Ungör M, Serpek B, Haliloğlu S, Ataoğlu H, Ari H. Interleukin-1beta and tumour necrosis factor-alpha levels in periapical exudates. *Int Endod J.* 2002;35(2):181-5.
48. Prso I, Kocjan W, Simić H, Brumini G, Pezelj-Ribarić S, Borčić J y cols. Tumor necrosis factor-alpha and interleukin 6 in human periapical lesions. *Mediators Inflamm.* 2007;2007(38210).
49. Shimauchi H, Takayama S, Narikawa-Kiji M, Shimabukuro Y, Okada H. Production of interleukin-8 and nitric oxide in human periapical lesions. *J Endod.* 2001;27(12):749-52.
50. Shimauchi H, Takayama S, Imai-Tanaka T, Okada H. Balance of interleukin-1 beta and interleukin-1 receptor antagonist in human periapical lesions. *J Endod.* 1998;24(2):116-9.
51. Matsuo T, Ebisu S, Nakanishi T, Yonemura K, Harada Y, Okada H. Interleukin-1 alpha and interleukin-1 beta periapical exudates of infected root canals: correlations with the clinical findings of the involved teeth. *J Endod.* 1994;20(9):432-5.
52. Hernández M, Gamonal J, Tervahartiala T, Mantyla P, Rivera O, Dezerega A, y cols. . Associations Between Matrix Metalloproteinase-8 and -14 and Myeloperoxidase in Gingival Crevicular Fluid From Subjects With Progressive Chronic Periodontitis: A Longitudinal Study. *J Periodontol.* 2010;81(11):1644-52.
53. Palys M, Haffajee A, Socransky S, Giannobile W. . Relationship between C-telopeptide pyridinoline cross-links (ICTP) and putative periodontal pathogens in periodontitis. *J Clin Periodontol.* 1998;25(11):865-71.
54. Silva T, Garlet GP, Fukada SY, Silva JS, Cunha FQ. Chemokines in oral inflammatory diseases: apical periodontitis and periodontal disease. *J Dent Res.* 2007;86(4):306-19.
55. Roman R, Wendland AE, Polanczyk CA. Myeloperoxidase and coronary arterial disease: from research to clinical practice. *Arq Bras Cardiol.* 2008;91(1):11-9.
56. Lee R. Myeloperoxidase as a biomarker in acute coronary syndrome: beware of the pitfalls. *Arch Med Res.* 2011;42(7):641.

57. Puntoni M, Sbrana F, Bigazzi F, Minichilli F, Ferdeghini E, Sampietro T. Myeloperoxidase modulation by LDL apheresis in familial hypercholesterolemia. *Lipids Health Dis.* 2011;10(1):185.
58. Golub L, Lee HM, Greenwald RA, Ryan ME, Sorsa T, Salo T y cols. A matrix metalloproteinase inhibitor reduces bone-type collagen degradation fragments and specific collagenases in gingival crevicular fluid during adult periodontitis. *Inflamm Res.* 1997;46(8):310-9.
59. Adonogianaki E, Mooney J, Kinane DF. Detection of stable and active periodontitis sites by clinical assessment and gingival crevicular acute-phase protein levels. *J Periodontal Res.* 1996;31(2):135-43.
60. Riedemann J, Illesca M, Droghetti J. Self medication among patients with musculoskeletal symptoms. *Rev méd Chile.* 2001;129(6).
61. Yamaguchi L. La automedicación: Su prevalencia y factores de riesgo en trabajadores del sector salud [Tesis para optar al grado académico de Maestro en Salud Pública con mención en epidemiología]. Lima- Perú: Universidad Nacional Federico Villarreal; 2003.
62. García R, Díaz F, González I, del Pozo M, Mollinedo F, Cabañas C y cols. Prevention of cytokine-induced changes in leukocyte adhesion receptors by nonsteroidal antiinflammatory drugs from the oxicam family. *Arthritis Rheum.* 1997;40(1):143-53.
63. Cronstein B, Van de Stouwe M, Druska L, Levin RI, Weissmann G. Nonsteroidal antiinflammatory agents inhibit stimulated neutrophil adhesion to endothelium: adenosine dependent and independent mechanisms. *Inflammation.* 1994;18(3):323-35.
64. Gamonal J, Mendoza C, Espinoza I, Muñoz A, Urzúa I, Aranda W y cols. Clinical attachment loss in Chilean adult population: First Chilean National Dental Examination Survey. *J Periodontol.* 2010;81(10):1403-10.
65. Cao C, Smith QT. Crevicular fluid myeloperoxidase at healthy, gingivitis and periodontitis sites. *J Clin Periodontol.* 1989;16(1):17-20.
66. Yamalik N, Çağlayan F, Kiliñç K, Kiliñç A, Tümer C. The importance of data presentation regarding gingival crevicular fluid myeloperoxidase and elastase-like activity in periodontal disease and health status. *J Periodontol.* 2000;71(3):460-7.

67. Kaner D, Bernimoulin J, Kleber B, Heizman W, Friedmann A. Gingival crevicular fluid levels of calprotectin and myeloperoxidase during therapy for generalized aggressive periodontitis. *J Periodont Res.* 2006;41(2):132-9.
68. Güncü G, Tözüm TF, Güncü MB, Yamalik N, Tümer C, Karabulut E y cols. Myeloperoxidase as a measure of polymorphonuclear leukocyte response in inflammatory status around immediately and delayed loaded dental implants: a randomized controlled clinical trial. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2008;10(1):30-9.
69. Wei P, Ho KY, Ho YP, Wu YM, Yang YH, Tsai CC. The investigation of glutathione peroxidase, lactoferrin, myeloperoxidase and interleukin-1beta in gingival crevicular fluid: implications for oxidative stress in human periodontal diseases. *J Periodontal Res.* 2004;39(5):287-93.
70. Belmar M, Pabst C, Martínez B, Hernández M. Gelatinolytic activity in gingival crevicular fluid from teeth with periapical lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008;105(6):801-6.
71. de Sá A, Moreira PR, Xavier GM, Sampaio I, Kalapothakis E, Dutra WO y cols. Association of CD14, IL1B, IL6, IL10 and TNFA functional gene polymorphisms with symptomatic dental abscesses. *Int Endod J.* 2007;40(7):563-72.
72. De Jongh R, Vissers KC, Meert TF, Booij LH, De Deyne CS, Heylen RJ. The role of interleukin-6 in nociception and pain. *Anesth Analg.* 2003;96(4):1096-103.
73. Colić M, Vasilijić S, Gazivoda D, Vučević D, Marjanović M, Lukić A. Interleukin-17 plays a role in exacerbation of inflammation within chronic periapical lesions. *Eur J Oral Sci.* 2007;115(4):315-20.
74. Lukić A, Vojvodic D, Majstorović I, Colić M. Production of interleukin-8 in vitro by mononuclear cells isolated from human periapical lesions. *Oral Microbiol Immunol.* 2006;21(5):296-300.
75. Dezerega A, Osorio C, Mardones J, Mundi V, Dutzan N, Franco M y cols. Monocyte chemotactic protein-3: possible involvement in apical periodontitis chemotaxis. *Int Endod J.* 2010;43(10):902-8.
76. Lim G, Torabinejad M, Kettering J, Linkhardt TA, Finkelman RD. Interleukin 1-beta in symptomatic and asymptomatic human periradicular lesions. *J Endod.* 1994;20(5):225-7.

77. Radics T, Kiss C, Tar I, Márton IJ. Interleukin-6 and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in apical periodontitis: correlation with clinical and histologic findings of the involved teeth. *Oral Microbiol Immunol.* 2003;18(1):9-13.
78. García L, Rodríguez O, Calzado M. Morphophysiological bases of pulpar acute inflammatory response. *MEDISAN.* 2011;5(11):1648.
79. Orstavik D. Radiographic evaluation of apical periodontitis and endodontic treatment results: a computer approach. *Int Dent J.* 1991;41(2):89-98.
80. McCauley L, Nohutcu RM. Mediators of periodontal osseous destruction and remodeling: principles and implications for diagnosis and therapy. *J Periodontol.* 2002;73(11):1377-91.

## ANEXOS

Acta de aprobación de protocolo de investigación

 <p>UNIVERSIDAD DE CHILE Facultad de Odontología COMITÉ ÉTICO</p>	30/07/2011
<b>ACTA DE APROBACION DE PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN</b>	
<p>Este comité ha considerado que este proyecto no vulnera la dignidad de los sujetos, no constituye una amenaza, ni causa daño emocional ni moral a los investigados.</p>	
<p>Se ha garantizado el derecho a la privacidad y al anonimato de los participantes y se ha definido con claridad la cadena de custodia de la información obtenida y las restricciones para su uso por terceros.</p>	
<p>En consecuencia, el Comité Ético Científico del Servicio de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, <u>Aprueba por unanimidad de sus miembros</u> el estudio: "Asociación entre la respuesta local del hospedero frente a la infección endodóntica e inflamación sistémica de bajo grado en Periodontitis Apical Asintomática. Estudio longitudinal para evaluar los efectos del tratamiento endodóntico conservador", versión 30/07/2011, bajo la supervisión de la Dra. Marcela Hernández Ríos como Investigador Principal.</p>	
<p>Este Comité se reserva el derecho de monitorear este proyecto si fuera necesario.</p>	
 <p><b>Prof. Dr. Juan Cortes A</b> Presidente CEC-FOUCH</p>	
<p>c/C.: Investigador Principal, Y Secretaria C.E.C.</p>	
	

**Formulario de consentimiento informado**

**FORMULARIO CONSENTIMIENTO INFORMADO PACIENTES ADULTOS**

**Investigador responsable:** Dra. Marcela Hernández Ríos: Marcela Hernández Ríos;  
Depto. de Patología, Facultad de Odontología, Universidad de Chile. Fono: 9781808;  
email: [mhermandezrios@gmail.com](mailto:mhermandezrios@gmail.com).

Yo..... estoy dispuesto a participar en el proyecto de investigación. He leído la información descrita y mis preguntas acerca del estudio han sido respondidas satisfactoriamente. Al firmar esta copia, indico que tengo un entendimiento claro del proyecto:

Firma

.....

Ante cualquier duda puedo preguntar al Comité de Etica de la Facultad de Odontología cuyo presidente es el Dr. Juan Cortés; teléfono: 9781702 y su dirección es Facultad de Odontología de la U. de Chile, Edificio Administrativo, Oficina Vicedecanato, 4º piso , Sergio Livingston P. 943, Independencia.

Al sujeto de investigación he entregado información sobre el estudio, y en mi opinión esta información es precisa y suficiente para que el sujeto entienda completamente la naturaleza, los riesgos y beneficios del estudio, y los derechos que tiene en tanto sujeto de investigación. No ha existido coerción ni ha actuado bajo influencia alguna.

He sido testigo que el sujeto firmó el documento:

Nombre del Investigador:.....

Firma del Investigador: ..... Fecha: .....



## Ficha clínica



**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
Facultad de Odontología  
Asignatura de Endodoncia

## FICHA CLÍNICA ENDODONCIA

Diente a tratar  Referido por \_\_\_\_\_ Nº comprobante de pago

\_\_\_\_\_ Edad  Sexo F   
APELLIDO PATERNO APELLIDO MATERNO NOMBRES M

Domicilio \_\_\_\_\_ Ciudad \_\_\_\_\_ Teléfono \_\_\_\_\_

Alumno \_\_\_\_\_

Docente \_\_\_\_\_

ANAMNESIS	SINTOMATOLOGÍA ACTUAL
Enfermedades Generales _____	<input type="checkbox"/> Dolor — <input type="checkbox"/> Presente <input type="checkbox"/> Ausente
Reacciones atípicas frente a determinados fármacos _____	<input type="checkbox"/> Espontáneo — <input type="checkbox"/> Esporádico <input type="checkbox"/> Constante
Historia anterior del Diente _____	<input type="checkbox"/> Provocado
_____	<input type="checkbox"/> Sensación de diente elongado
_____	Duración _____

**EXÁMEN CLÍNICO EXTRAORAL**

Aumento del volúmen  Adenopatía  Fistula  Nada especial  Otros (especifique) \_\_\_\_\_

EXÁMEN CLÍNICO INTRAORAL (Síntomas Objetivos)	REGIÓN VESTIBULAR (en relación al diente)	EXÁMEN RADIOLÓGICO
<input type="checkbox"/> Cambio de color coronario	<input type="checkbox"/> Cambio de coloración	<b>Reabsorción ósea marginal</b>
<input type="checkbox"/> Caries <input type="checkbox"/> super. <input type="checkbox"/> prof. <input type="checkbox"/> penetr.	<input type="checkbox"/> Dolor a la palpación	<input type="checkbox"/> Vertical
<input type="checkbox"/> Cavidad <input type="checkbox"/> super. <input type="checkbox"/> prof. <input type="checkbox"/> penetr.	<input type="checkbox"/> Aumento de volúmen — <input type="checkbox"/> Localizado <input type="checkbox"/> Difuso <input type="checkbox"/> Duro <input type="checkbox"/> Blando	<input type="checkbox"/> Horizontal
<input type="checkbox"/> Obturación <input type="checkbox"/> super. <input type="checkbox"/> prof. <input type="checkbox"/> penetr.	<input type="checkbox"/> Fistula — <input type="checkbox"/> Activa <input type="checkbox"/> Inactiva	<input type="checkbox"/> Discreta
<input type="checkbox"/> Fractura <input type="checkbox"/> super. <input type="checkbox"/> prof. <input type="checkbox"/> penetr.		<input type="checkbox"/> Marcada
<input type="checkbox"/> Movilidad (grado) _____		<input type="checkbox"/> Franca
<input type="checkbox"/> Saco periodontal (profundidad) _____		<b>Conductos Radiculares (claves)</b>
<input type="checkbox"/> Oclusión del diente — <input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Inoclusión <input type="checkbox"/> Trauma oclusal		Único
Malposición o versión _____		Vestibular (V)
		Palatino (P)
		Mesial (M)
		Distal (D)
		Mesio vestibular (mayor) (Mv1)
		Mesio vestibular (menor) (Mv2)
		Disto vestibular (DV)
		Mesio lingual (ML)
		Disto lingual (DL)
		Otro
		Claves conductos radiculares
		_____
		_____
		_____
		<b>Cámara Pulpar</b>
		<input type="checkbox"/> Nada Especial
		<input type="checkbox"/> Amplia
		<input type="checkbox"/> Parcialm. Calcif.
		<input type="checkbox"/> Totalm. Calcif.
		<input type="checkbox"/> Obturada
		<input type="checkbox"/> Reabsorción Int.
		<input type="checkbox"/> No Observ.
		a) Normal
		b) Amplio
		c) Estrecho
		d) Curvo
		e) Bifurcado
		f) Reabsorción interna
		g) No visible
		h) Obturado

TESTS	RESPUESTA: (dolor)	Área Radiolúcida	Tamaño Área Radiolúcida
Frío (F) <input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Aumentado <input type="checkbox"/> Disminuído <input type="checkbox"/> No responde		<b>Raíz</b>	<b>Ápical</b>
Calor (C) <input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Aumentado <input type="checkbox"/> Disminuído <input type="checkbox"/> No responde		<input type="checkbox"/> Ápice normal	<input type="checkbox"/> Normal _____
Corte dentinario <input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Aumentado <input type="checkbox"/> Disminuído <input type="checkbox"/> No responde		<input type="checkbox"/> Curvatura apical	<input type="checkbox"/> Engrosada _____
Percusión <input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Aumentado		<input type="checkbox"/> Dislaceración	<input type="checkbox"/> Ausente _____
Exploración <input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Aumentado <input type="checkbox"/> Disminuído <input type="checkbox"/> No responde		<input type="checkbox"/> Doble curva	
Eléctrico (E) _____ D. Control (Nº _____) _____		<input type="checkbox"/> Límite duplicado	<b>Área Periapical</b>
Vitalómetro empleado: _____		<input type="checkbox"/> Rizálisis externa	<input type="checkbox"/> Aspecto normal
		<input type="checkbox"/> Hiper cementosis	<input type="checkbox"/> Osteoesclerosis
		<input type="checkbox"/> Fractura	<input type="checkbox"/> Radiolucidez
		<input type="checkbox"/> Apicectomizada	
<b>Tipo de Respuesta</b>		<b>Área Radiolúcida</b>	
F <input type="checkbox"/> Moderada <input type="checkbox"/> Severa			
C <input type="checkbox"/> Moderada <input type="checkbox"/> Severa			