



**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**FACULTAD DE ODONTOLÓGÍA**  
**LABORATORIO DE BIOLOGÍA PERIODONTAL**

**CARGA INFLAMATORIA Y BACTERIANA SISTÉMICA EN PERIODONTITIS  
APICAL SINTOMÁTICA Y ASINTOMÁTICA**

**Gabriel I. Navia Castro**

**TRABAJO DE INVESTIGACION**  
**REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE**  
**CIRUJANO-DENTISTA**

**TUTORA PRINCIPAL:**

**Prof. Dra. Marcela Hernández R.**

Depto. De Patología y Medicina Oral  
Facultad de Odontología, Universidad de Chile

**TUTORAS ASOCIADAS:**

**Dra. María José Bordagaray**

Depto. De Odontología Conservadora  
Facultad de Odontología, Universidad de Chile

**Dra. Patricia Hernández R.**

Depto. De Odontología Conservadora  
Facultad de Odontología, Universidad de Chile

**Adscrito a proyectos FONDECYT 1200098 e IADR RDP Chilean Division 2020**

**Santiago - Chile**

**2023**

## DEDICATORIA

El trabajo de investigación que se presentará a continuación, se la dedico a las personas que me apoyaron en el largo y enriquecedor proceso que significó mi carrera.

A mis amigos y amigas que me han acompañado y han luchado a mi lado codo a codo por lograr esta gran travesía y el gran crecimiento que significó haber luchado por nuestros sueños y metas, Francisca Godoy, María José Pacheco, Victoria Díaz, Francisca Alvarado, Tannia Olea, Javiera Ibarra, Miriam Tapia, Tania Lillo, Jaime Abarca y Rodrigo Padilla.

A la persona con la que reímos y lloramos juntos durante años y que, hasta el día de hoy, la considero uno de mis más preciados amores de la vida. Esta persona luchó hasta el final y, a pesar de las circunstancias, sigue mostrando un brillo único que me ha calado profundo, Paula Sánchez.

A mis cuatro luces, Juan Francisco Sánchez, Claudia Lefimil, Silvia Osorio y Silvana Maggiolo, que me dieron la esperanza de continuar este camino, del cual, me vieron dudar muchas veces, pero que me tomaron de la mano para ayudarme a levantar mi cabeza y continuar con uno de mis más grandes sueños

A Ximena Araya, aquella alma brillante que me levantó desde mis peores momentos y me ayudó a ser quien soy hoy, quien me enseñó el significado del empoderamiento y de vivir la vida con decisión y felicidad, la persona que me vio levantarme y crecer cada día.

A mi familia, a mis tíos y primos hermosos, que me llenaron de alegría cuando más lo necesitaba; a mis hermanos, Vicente, Macarena y Mario; a mis sobrinos Blanca, Nicolás y Cristobal, mis dos pequeñas luces de amor y pureza; a mi tita (abuela) Cristina, nuestra matriarca, que me enseñó a saborear las más grandes recetas del mundo y me hizo reír tantas veces con los disparates de su edad.

Por último, a mis padres, Verónica y Walton, que me enseñaron el valor del más grande amor que un hijo pudiese recibir, que me ayudaron tantas veces y me vieron

crecer. Con sus grandes herramientas, me enseñaron la constancia y la paciencia, el amor y la voluntad, la resiliencia y el respeto. Gracias a ellos, mi travesía apenas comienza, pero me dieron lo necesario para salir y emprender mi viaje.

A todos ellos, muchísimas gracias por llenar de dicha a este loco feliz, que se titula este año 2023.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco enormemente a mis tutoras, doctora Marcela Hernández, doctora Patricia Hernández, doctora María José Bordagaray y doctor Mauricio Garrido por esta gran oportunidad, las que me ayudaron a cerrar un ciclo de varios años de lucha por sacar la carrera adelante y terminarla con grandeza.

Además, les agradezco las oportunidades que se presentaron para poder aprender y poder presentar nuestro trabajo en importantes instancias dentro y fuera del país.

Luego, agradezco a los proyectos FONDECYT 1200098 e IADR RDP Chilean Division 2020 por darme la oportunidad de trabajar en este proyecto de investigación.

También agradezco a Bernardita Parada, Alejandra Fernández y a Elizabeth Pellegrini por toda la ayuda y el apoyo que me brindaron durante este proceso.

Por último, cabe agradecer a Daniela Rebhein y Fernando Quintana por su compañerismo y amistad, que fue un gran apoyo durante este proceso de altos y bajos, pero una bella e inolvidable etapa.

## ÍNDICE

1.	Resumen.....	5
2.	Introducción.....	6
	a. Microbiota oral.....	6
	b. Periodontitis Apical.....	7
	c. Especies de <i>Porphyromonas</i> en Periodontitis Apical.....	10
	d. Inflamación sistémica relacionada a patologías endodónticas infecciosas..	12
3.	Hipótesis.....	15
4.	Objetivos.....	15
	a. Objetivo general.....	15
	b. Objetivos específicos.....	15
5.	Materiales y métodos.....	16
	a. Diseño del estudio.....	16
	b. Participantes en el estudio.....	16
	c. Evaluaciones de los pacientes.....	17
	d. Determinaciones séricas de hsCRP.....	18
	e. Aislamiento de ADN y reacción de polimerasa en cadena cuantitativa.....	18
	f. Métodos estadísticos.....	19
6.	Resultados .....	20
	a. Características demográficas y clínicas de los grupos de estudio.....	20
	b. Carga de bacterias totales, <i>P. gingivalis</i> y <i>P. endodontalis</i> en sangre periférica de los grupos de estudio.....	21
	c. Niveles de hsCRP en sangre periférica de los grupos de estudio.....	23
	d. Correlación entre carga de bacterias totales, <i>P. gingivalis</i> y <i>P. endodontalis</i> , y carga de hsCRP en grupos de estudio.....	24
	e. Análisis de covariables de estudio.....	25
7.	Discusión.....	26
	a. Carga total bacteriana.....	26
	b. Carga de <i>P. gingivalis</i> .....	27
	c. Carga de <i>P. endodontalis</i> .....	29
	d. Niveles de hsCRP.....	30
	e. Asociación entre hsCRP y carga bacteriana sistémica.....	31
8.	Conclusión.....	32
9.	Bibliografía.....	33

10. Anexos.....	43
a. Anexo 1: Acta aprobación consentimiento informado.....	43
b. Anexo 2: Consentimiento informado.....	46
c. Anexo 3: Ficha clínica.....	53

## RESUMEN

**Introducción:** La Periodontitis Apical (PA) es la destrucción del periodonto apical y se asocia con una respuesta inflamatoria sistémica deletérea. Las especies de *Porphyromonas* representan patógenos claves en la biopelícula disbiótica asociada y, si bien podrían translocar a la circulación general, no se ha evaluado su presencia en sangre periférica, ni su asociación con los niveles de hsCRP.

**Objetivo:** Determinar la carga bacteriana de *P. endodontalis*, *P. gingivalis* y bacterias totales en sangre periférica de pacientes con periodontitis apical y controles, y asociarlas con inflamación sistémica de bajo grado.

**Material y métodos:** Se incluyeron pacientes entre 18 y 40 años con PA (n=16) y controles (n=17) sistémicamente sanos que consultaron en la clínica odontológica FOUCh. Se excluyeron individuos con periodontitis, obesidad, Enfermedades no transmisibles (ENT), tratamiento antiinflamatorio y/o antibiótico 3 meses previos al estudio, embarazo y lactancia. Se obtuvieron muestras de sangre periférica, se aisló DNA bacteriano y determinó la carga bacteriana total, *Pg* y *Pe* mediante qPCR, y niveles de hsCRP por método turbidimétrico. Se realizó análisis bivariado y multivariado con ajuste por variables confundentes con el paquete STATA V16.

**Resultados:** La carga sistémica de *P. endodontalis* fue significativamente mayor en pacientes con PA (mediana=DNA/ $\mu$ l) respecto de controles (mediana[RIC], 268,37[105,54] vs 45,67[95,24] DNA/ $\mu$ l;  $p=0,008$ ). *P. gingivalis* no se detectó, mientras que no se encontraron diferencias significativas en la carga bacteriana total ( $p>0,05$ ). La asociación entre PA y carga sistémica de *P. endodontalis* fue independiente de otras covariables. Los niveles de hsCRP fueron mayores en pacientes con PA respecto a controles (1,04 [3,02 vs 0,48[ 0,6] mg/L;  $p=0,15$ ), sin asociación directa entre la carga bacteriana total ( $r=-0,18$ ) y *P. endodontalis* ( $r=0,25$ ) versus niveles de hsCRP.

**Conclusiones:** PA se asocia inflamación y mayor carga sistémica de *Pe*. Ésta podría translocar desde los tejidos periapicales a la circulación general.

## INTRODUCCIÓN

### MICROBIOTA ORAL

La cavidad oral está colonizada por una gran cantidad de microorganismos y de este modo corresponde a uno de los hábitats más densamente poblados del cuerpo humano. Se ha descrito que la microbiota oral está conformada por más de 6 mil millones de bacterias y 700 especies, y alrededor de 19 mil filotipos (Enderica y Torracchi , 2022). La mayor parte de estas especies forman parte de la microbiota transitoria, mientras que sólo 20 especies forman parte de la biopelícula residente (Astorga et al., 2015; Cruz et al., 2017; Serrano-Coll et al., 2015) La microbiota residente de la cavidad oral es capaz de organizarse en ecosistemas, donde también se pueden encontrar algunas especies fúngicas, protozoarias, arqueas y virus (Astorga et al., 2015; Cruz et al., 2017; Peña et al., 2012; Serrano-Coll et al., 2015).

La microbiota bacteriana oral se mantiene en equilibrio con el hospedero, lo que produce beneficios para éste. Entre ellos, se destaca la prevención de la colonización de las superficies bucales por patógenos potenciales (Astorga et al., 2015; Peña et al., 2012; Serrano-Coll et al., 2015). Sin embargo, cuando este equilibrio se rompe, la cavidad oral puede ser colonizada por especies patogénicas, o bien, algunas especies residentes pueden comportarse como patógenos oportunistas (Peña et al., 2012). Este proceso favorece el inicio y progresión de enfermedades orales como la periodontitis y las patologías perirradiculares de origen endodóntico.

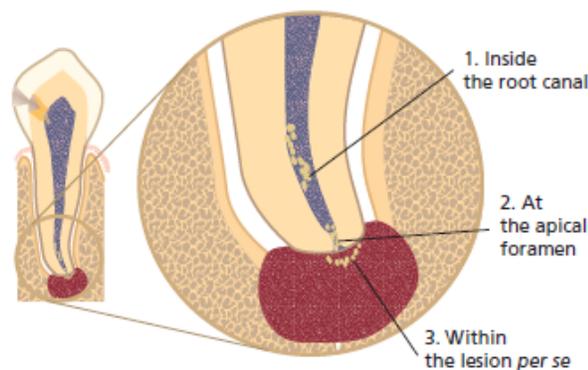
Ambas patologías mencionadas tienen un componente polimicrobiano, desarrollándose inicialmente por bacterias de tipo aerobias, para posteriormente dar paso a la colonización de bacterias anaerobias facultativas y estrictas a medida que se reduce la tensión de oxígeno. Dentro de éstas, se pueden encontrar bacterias de los géneros *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Treponema*, *Veillonella*, *Actinomyces*, *Neisseria*, *Streptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Haemophilus*, *Eubacterias*, *Lactobacterium*, *Capnocytophaga*, *Eikenella*, *Leptotrichia*,

*Staphylococcus* y *Propionibacterium*, entre otras (Astorga et al., 2015; Enderica y Torracchi, 2022; Lasa et al., 2005; Liljestrand et al., 2016; Peña et al., 2012; Serrano-Coll et al., 2015).

Las enfermedades periodontales, corresponden principalmente a la gingivitis y la periodontitis. Mientras que la periodontitis apical (PA) abarca un conjunto de enfermedades que pueden afectar la pulpa y/o los tejidos perirradiculares. En ambos procesos patológicos los factores de riesgo sobrepasan el equilibrio de los factores protectores del hospedero, generando la enfermedad.

### PERIODONTITIS APICAL

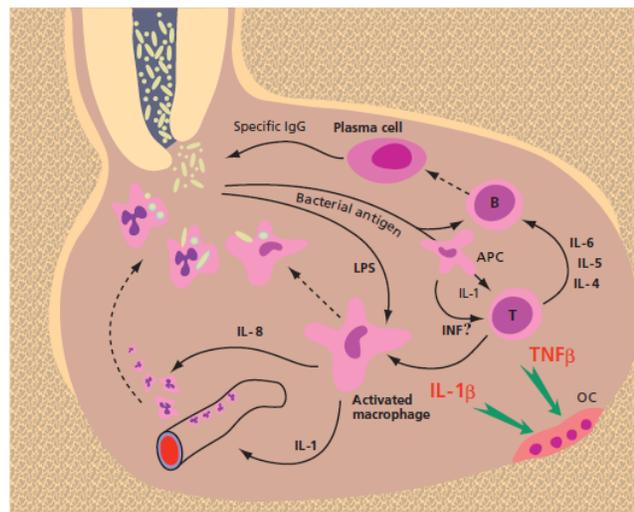
La PA se define como una enfermedad inflamatoria con destrucción de los tejidos perirradiculares causada por una infección microbiana persistente en el sistema de canales radiculares del diente afectado (Bordagaray et al., 2021; Jiménez et al., 2022; León et al., 2011; Luna et al., 2009). La PA se manifiesta como una respuesta inmunoinflamatoria a la infección de la pulpa dentaria, como consecuencia de la comunicación entre la cámara pulpar y el ambiente, frecuentemente por caries (Figura 1) (García-Rubio et al., 2015; León et al., 2011; Luna et al., 2009).



**Figura 1: Representación de la infección del sistema de canales radiculares que determina la formación de la lesión periapical: Posibles localizaciones de la biopelícula bacteriana en una pulpa necrótica: (1) Dentro del SCR a corta distancia del foramen apical; (2) en el foramen apical; (3) dentro de la lesión apical per se. Modificación de imagen de (Metzger et al., 2009).**

El hábitat endodóntico provee un ambiente adecuado para el establecimiento de una microbiota mixta, predominantemente anaerobia, donde los principales microorganismos implicados son las bacterias Gram negativo (Liljestrand et al., 2016). La interacción dinámica entre las bacterias patógenas y respuesta inmune del hospedero en el periápice en el tiempo se presenta en forma heterogénea desde el punto de vista clínico-radiográfico y resulta en resorción del tejido óseo y la formación de una lesión osteolítica conocida como lesión periapical (Figura 2) (León et al., 2011; Luna et al., 2009). Esta última se evidencia como un área radiolúcida periapical en exámenes imagenológicos (García-Rubio et al., 2015; León et al., 2011; Luna et al., 2009).

Histopatológicamente, la LAOE puede corresponder a un granuloma periapical, compuesto por tejido de granulación, o un quiste radicular inflamatorio, compuesto por una membrana revestida de epitelio delimitando una cavidad patológica e infiltrado inflamatorio crónico (Metzger et al., 2009; Gutmann et al., 2009).



**Figura 2: Representación de la formación de lesión periapical y cambios inflamatorios involucrados** Células y funciones en el granuloma periapical. Los antígenos bacterianos derivados del canal radicular infectado son tomados por células presentadoras de antígeno (CPA), procesados y presentados a los linfocitos T (T). Una señal dual de presentación de antígeno con IL-1 activa los linfocitos T. Las citoquinas producidas por estas células activadas incluyen (a) IL-4, IL-5 e IL-6, que inducen la proliferación y maduración de un clon específico de linfocitos B (B) que fueron expuestos a este antígeno específico, para dar como resultado que las

*células plasmáticas produzcan IgG específica para este antígeno. (b) INF $\gamma$  que sirve para activar macrófagos que a su vez producirán la IL-1 esencial para el reclutamiento local de PMN circulantes e IL-8 que activa estos PMN. La endotoxina bacteriana (LPS), derivada de bacterias Gram-negativas, participa sinérgicamente en la activación de macrófagos. Todo lo anterior está encaminado a permitir una fagocitosis específica efectiva por parte de los PMNs de cualquier bacteria que emerja del foramen apical. La reabsorción ósea es un efecto secundario del proceso defensivo anterior, mediado por el TNF $\beta$  producido por los linfocitos T activados y la IL-1 $\beta$ , producida por los macrófagos activados. Ambos activan la resorción ósea osteoclástica (OC). Modificación de imagen de (Metzger et al., 2009).*

Dentro de las presentaciones clínicas de PA, se encuentran los abscesos apicales agudos (AAA) y crónicos (AAC), los cuales se presentan con supuración; las periodontitis apicales sintomáticas (PAS) y asintomáticas (PAA), las cuales se presentan como una inflamación y destrucción del periodonto apical, y por último, la osteítis condensante (OC), la cual, a diferencia de las anteriores, se presenta como una lesión radiopaca localizada del tejido óseo apical (Gutmann et al., 2009; Metzger et al., 2009). La PAA se caracteriza por sintomatología apagada o inexistente. A pesar de la ausencia de sintomatología, el signo clave para el diagnóstico de la PAA es la LAOE en un diente sin sensibilidad pulpar (León et al., 2011; Luna et al., 2009). Por otro lado, la PAS se caracteriza por sensibilidad o dolor a la masticación, la percusión o la palpación, A diferencia de la PAA, la PAS no siempre se asocia a un área radiolúcida periapical como signo radiográfico (Luna et al., 2009).

La PA es una patología altamente prevalente, tanto en adolescentes como en adultos (León et al., 2011; Luna et al., 2009). Es una causa frecuente de pérdida dentaria y un factor de riesgo no clásico en enfermedades no transmisibles (ENT) (Zhou et al., 2005), tales como artritis reumatoide, aterosclerosis, enfermedades cardiovasculares, diabetes mellitus y otros desórdenes metabólicos, además de aumentar el riesgo de alteraciones durante el embarazo, como el parto prematuro y

bajo peso al nacer, y de accidentes cerebrovasculares (Ardila y Lafaurie, 2010; Bordagaray et al., 2021; Jiménez et al., 2022; Liljestrand et al., 2016).

### **ESPECIES DE *PORPHYROMONAS* EN PERIODONTITIS APICAL**

Los patógenos endodónticos se organizan en comunidades de biopelículas dentro del canal radicular, los cuales favorecen la selección de bacterias anaerobias Gram negativo. Aun cuando es posible encontrar una gran heterogeneidad entre poblaciones, en PA las especies de *Porphyromonas* (*P.*), *P. endodontalis* y *P. gingivalis*, presentan un rol protagónico debido a su alta prevalencia y a sus factores de virulencia (Bordagaray et al., 2021; Jiménez et al., 2022; Lombardo et al., 2012; Van Winkelhoff et al., 1992).

*P. endodontalis* y *P. gingivalis* son bacilos anaerobios estrictos Gram negativo, proteolíticos, no esporulados, y su patogenicidad se atribuye a un gran repertorio de factores de virulencia tales como lipopolisacárido (LPS), fimbrias, cápsula o antígeno K, proteínas de membrana, flagelos, enzimas, proteinasas, productos finales de metabolismo, exotoxinas, DNA, entre otros (Arce et al., 2017; Ardila y Lafaurie, 2010; Bordagaray et al., 2021; Díaz et al., 2012; How et al., 2016; Jiménez et al., 2022; Lombardo et al., 2012; Orrego-Cardozo et al., 2015; Van Winkelhoff et al., 1992).

El LPS es uno de los factores de virulencia más importantes en bacterias Gram negativo, reconocido como la primera línea de defensa contra muchos factores ambientales ya que previene la lisis por el sistema del complemento y la acción de péptidos antimicrobianos (Guo et al., 2014; Lombardo et al., 2012; Zhou et al., 2005). Se ha demostrado que el LPS de especies de *Porphyromonas* es un potente activador de macrófagos y de la expresión de mediadores proinflamatorios, como la Prostaglandina E2 (PGE2), interleuquinas (IL)-1 y -6, factor de necrosis tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), ligando de receptor activador para el factor nuclear kB (Madero et al., 2022) y factor estimulante de colonias que inducen una activación osteoclástica (Guo et al., 2014; Lombardo et al., 2012; Luna et al., 2009; Van Winkelhoff et al., 1992; Zhou et al., 2005).

Así también, *P. gingivalis* presenta fimbrias las cuales facilitan su adhesión por lo que son consideradas un factor de virulencia crucial en la iniciación y progresión de las LAOE (Arce et al., 2017; Ardila y Lafaurie, 2010; Díaz et al., 2012; Lombardo et al., 2012; Mulhall et al., 2020; Orrego-Cardozo et al., 2015; Van Winkelhoff et al., 1992). Por otro lado, *P. endodontalis* posee diversas colagenasas y proteasas, enzimas que también pueden determinar la destrucción de los tejidos de soporte (Lombardo et al., 2012).

Por último, el ADN bacteriano causa un daño indirecto a nivel sistémico en el hospedero, debido a la respuesta inmune inflamatoria celular y humoral que provoca (Ardila y Lafaurie, 2010; Lombardo et al., 2012). El ADN bacteriano difiere del ADN humano en la presencia de motivos dinucleótidos citosina-fosfato-guanosina (CpG) no metilados. Debido a esto, las células del sistema inmune innato pueden detectar el ADN bacteriano e interpretar su presencia como un agente infeccioso, lo que hace que se produzcan citoquinas, tales como IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1ra, IL-18, entre otros. Además, se ha demostrado que el ADN bacteriano es un potente mitógeno de células B. De forma similar al LPS, el ADN CpG estimula la activación de la osteoclastogénesis. El ADN bacteriano interactúa con el receptor tipo Toll (TLR)-9 osteoblástico y provoca eventos intracelulares que conducen a una mayor expresión de moléculas que regulan la osteoclastogénesis (Madero et al., 2022). En conjunto, la sumatoria de mecanismos inmunoinflamatorios desencadenados por las infecciones endodónticas, propicia la resorción ósea característica de las LAOEs (Jiménez et al., 2022; León et al., 2011; Luna et al., 2009).

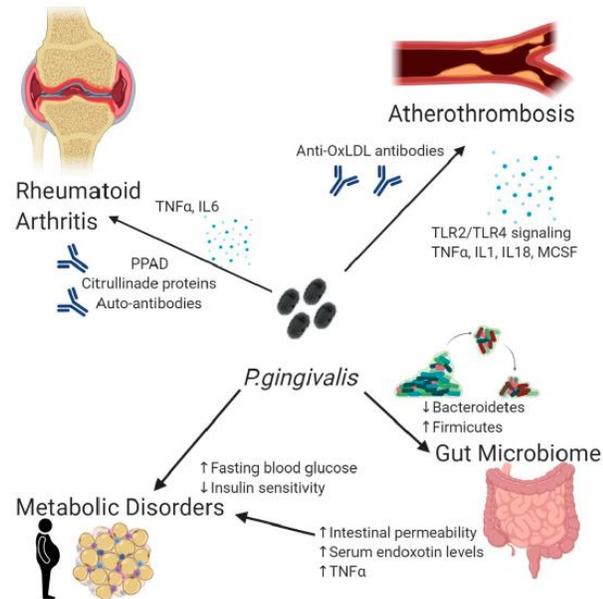
Cabe destacar que, debido a sus características *P. endodontalis* y *P. gingivalis* representan patógenos claves en la infección extrarradicular, sobre la base de la detección de ADN bacteriano de *Porphyromonas* spp. en LAOE en dientes con PA (Bordagaray et al., 2021; Lombardo et al., 2012). Específicamente, *P. endodontalis* se ha detectado en mayor abundancia en las LAOE de dientes con diagnóstico de PAS respecto de dientes con diagnóstico de PAA (Bordagaray et al., 2021).

## **INFLAMACIÓN SISTÉMICA RELACIONADA A PATOLOGÍAS ENDODÓNTICAS INFECCIOSAS**

Las infecciones endodónticas han demostrado sobrepasar los límites del sistema de canales radiculares, evidenciándose la presencia de infección extrarradicular en relación a dientes con necrosis pulpar y LAOE (Bordagaray et al., 2021; Jiménez et al., 2022; Lombardo et al., 2012; Van Winkelhoff et al., 1992). Esto sugiere un paso inicial en la diseminación bacteriana más allá de la estructura dentaria. A partir de la diseminación LAOE y dada su abundante irrigación, las bacterias podrían traslocar hacia la circulación general.

El concepto de translocación bacteriana se entiende como el transporte de bacterias y/o sus productos inmunogénicos, como el ADN, de forma sistémica hacia la circulación general, sin necesidad de infección manifiesta ni signos clínicos (Bordagaray et al., 2021). Las LAOE podrían proporcionar una vía patógena directa hacia la circulación general, provocando inflamación sistémica y aumentando el riesgo asociado de ENT. Este evento ha sido respaldado indirectamente mediante la detección de ADN bacteriano de bacterias orales en tejidos distantes patológicos, como lo son las placas de ateroma, articulaciones artríticas, entre otras (Ardila y Lafaurie, 2010; Bordagaray et al., 2021; Díaz et al., 2012; How et al., 2016; Jiménez et al., 2022; Liljestrang et al., 2016; Mulhall et al., 2020; Orrego-Cardozo et al., 2015; Peña et al., 2012; Van Winkelhoff et al., 1992). Adicionalmente, existe evidencia emergente sobre la contribución de PA a la carga inflamatoria y bacteriana sistémica. En detalle, se ha determinado una mayor carga de ADN bacteriano total en células mononucleares de sangre periférica en sujetos con PA en comparación a individuos sanos (Bordagaray et al., 2021).

A su vez, se ha determinado que la presencia de bacterias orales y ADN bacteriano se asocia a la activación de las células mononucleares y la producción de citoquinas proinflamatorias (Ardila y Lafaurie, 2010; Bordagaray et al., 2021; Díaz et al., 2012; Jiménez et al., 2022; Liljestrand et al., 2016; Mulhall et al., 2020; Orrego-Cardozo et al., 2015; Peña et al., 2012). Estos eventos podrían favorecer el establecimiento de un estado proinflamatorio sistémico, y así, promover futuras complicaciones en ENT (Figura 3).



**Figura 3: Asociación de *P. gingivalis* con enfermedades no transmisibles por medio de inflamación sistémica.** *P. gingivalis* influye en el desarrollo de múltiples afecciones inflamatorias crónicas. A través de los anticuerpos de reacción cruzada (aterotrombosis, artritis reumatoide), niveles elevados de inflamación sistémica (aterotrombosis, artritis reumatoide, disbiosis del microbioma intestinal, trastornos metabólicos), así como disbiosis general del microbioma. Modificación de imagen de (Mulhall et al, 2020).

Un estado inflamatorio sistémico de bajo grado se caracteriza principalmente por una secreción elevada, crónica y anormal de mediadores proinflamatorios, tales como proteínas de fase aguda, citoquinas, quimioquinas y otros factores proinflamatorios, además de eventual leucocitosis (García y Pons, 2014). La inflamación sistémica de bajo grado progresa lentamente, lo que provoca estrés

oxidativo e incrementa el riesgo de daño tisular. Así también, se ha propuesto que la inflamación sistémica de bajo grado desregula la homeostasis de otros sistemas, como el de la glucosa, el que a su vez incrementa directamente el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, además de aumentar el riesgo de padecer otras ENT, como la resistencia a la insulina o el síndrome metabólico en personas con obesidad, y de sus complicaciones agudas (García y Pons, 2014; Herrera et al., 2008).

Dentro de las proteínas de fase aguda encontradas en la inflamación sistémica de bajo grado, se encuentra la proteína C reactiva de alta sensibilidad (hsCRP), la cual es el marcador prototípico de inflamación sistémica, y marcador predictivo de futuros resultados adversos cardiovasculares en individuos aparentemente sanos (Ellulu et al., 2017; Herrera et al., 2008; Jiménez et al., 2022). Se ha evidenciado un aumento de los niveles hsCRP en individuos jóvenes y sanos con diagnóstico de PA respecto de individuos sin PA (Bordagaray et al., 2021; Jiménez et al., 2022). Así también, se ha determinado que niveles mayores de hsCRP sistémicos en PA contribuirían a un mayor riesgo cardiovascular del individuo que padece la patología respecto de individuos sanos (Jiménez et al., 2022; Zhou et al., 2018).

A pesar de lo anteriormente expuesto, a la fecha no existe evidencia disponible respecto de la translocación bacteriana sistémica de especies de *Porphyromonas* en sangre periférica y su asociación con carga inflamatoria en individuos con PA. El objetivo en este trabajo de investigación será determinar la carga bacteriana de *P. endodontalis*, *P. gingivalis* y bacterias totales en sangre periférica de pacientes con periodontitis apical y controles y asociarlas con inflamación sistémica de bajo grado.

## HIPÓTESIS

La PA se asocia con una mayor carga de bacterias totales, *P. endodontalis* y *P. gingivalis* en sangre periférica en relación con un aumento de la inflamación sistémica de bajo grado.

## OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL

Determinar la carga de *P. endodontalis*, *P. gingivalis* y bacterias totales en sangre periférica de pacientes con periodontitis apical y controles, y asociarlas con inflamación sistémica de bajo grado.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar carga de *P. endodontalis*, *P. gingivalis* y bacterias totales en sangre periférica en pacientes con periodontitis apical y controles.
2. Determinar los niveles de hsCRP en pacientes con periodontitis apical y controles.
3. Asociar los niveles de carga bacteriana total y los niveles hsCRP en sangre periférica de pacientes con periodontitis apical y controles.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### 1. DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio analítico de corte transversal. El protocolo de investigación fue aprobado por el Comité Ético-Científico del Servicio de Salud Metropolitano Central y la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, Santiago, Chile (Anexo 1). Todos los participantes debieron otorgar su consentimiento informado por escrito antes de ser incluidos en el estudio (Anexo 2). Esta investigación se rige bajo las normas éticas de los comités de investigación institucional y nacional, y la Declaración de Helsinki.

### 2. PARTICIPANTES EN EL ESTUDIO

Se incluyeron individuos sistémicamente sanos de entre 18 y 40 años, que asistieron a la Clínica Odontológica de la Universidad de Chile, Santiago, Chile, con diagnóstico confirmado de PA primaria sintomática o asintomática con LAOE (Gutmann et al., 2009), sin tratamiento endodóntico previo y sin antecedentes de enfermedad sistémica aguda o crónica actual (Garrido et al., 2019).

El diagnóstico clínico de PA primaria se basó en la presencia radiográfica de  $\geq 1$  lesión apical radiolúcida ( $\geq 3$  mm de diámetro) y la respuesta negativa a las pruebas de sensibilidad pulpar al frío y calor, en dientes con caries extensas. Según la terminología diagnóstica previamente definida, PAS y PAA se diagnosticaron en presencia o ausencia de síntomas clínicos, respectivamente (Garrido et al., 2019; Gutmann et al., 2009). Para los individuos controles, se cumplieron los mismos criterios de inclusión en ausencia de cualquier diente con PA y/o LAOE.

Los criterios de exclusión de este estudio fueron pacientes con periodontitis moderada a severa (periodontitis estadio III y IV) (Eke et al., 2015; Eke, Page, Wei, Thornton-Evans, & Genco, 2012; Page & Eke, 2007; Papapanou et al., 2018), obesidad ( $IMC \geq 30$  kg/m<sup>2</sup>), tratamiento antiinflamatorio y/o antibiótico en los 3 meses previos, embarazo o periodo de lactancia (Garrido et al., 2019). También se excluyeron a todos aquellos pacientes que tenían diagnóstico confirmado de AAA y

aquellos pacientes que tenían diagnóstico establecido de ENT tales como inmunopatologías, hipertensión, dislipidemia, diabetes, entre otros.

### **3. EVALUACIONES DE LOS PACIENTES**

Los exámenes físicos y las muestras de sangre fueron realizados por personal de salud capacitado (Garrido et al., 2019; Jimenez et al., 2022). Se registraron las características sociodemográficas y la historia clínica de los pacientes. Se evaluaron los factores de riesgo cardiovasculares clásicos como edad, género, nivel educacional, presencia actual hábito tabáquico, presión arterial, consumo de alcohol, perfil lipídico e IMC. La hipertensión se definió como una presión arterial sistólica  $\geq 140$  mm de Hg o una presión arterial diastólica  $\geq 90$  mm Hg. La dislipidemia se definió como niveles de colesterol total  $\geq 200$  mg/dL, niveles de colesterol de baja densidad (C. LDL)  $\geq 130$  mg/dL, niveles de colesterol de alta densidad (C. HDL)  $<40$  mg/dL, niveles de triglicéridos  $\geq 150$  mg/dL, o una combinación de los mismos (Garrido et al., 2019; Jimenez et al., 2022).

Las evaluaciones clínicas orales fueron realizadas por un endodoncista y una periodoncista calibrados (Garrido et al., 2019; Jiménez et al., 2022) y se realizaron radiografías periapicales totales. Se registraron el diagnóstico clínico periapical, el índice de dientes cariados/perdidos/obturados (COPD) y los parámetros clínicos periodontales del paciente, incluyendo la PS, el NIC y el sangrado al sondaje (SS), en 6 puntos por diente, excluyendo los terceros molares, con una sonda periodontal calibrada UNC-15 (Hu-Friedy, EE.UU). El diagnóstico periodontal se definió de acuerdo con la clasificación ideada por Papapanou y cols., 2018 (Papapanou et al., 2018).

Los pacientes afectados por enfermedades periodontales fueron tratados con instrucción de higiene oral, destartraje supragingival, destartraje subgingival y/o raspado y alisado radicular, de acuerdo con el diagnóstico (gingivitis o periodontitis estado I o II) (Papapanou et al., 2018). Luego, los pacientes fueron reevaluados, de 2 a 4 semanas posteriores al tratamiento correspondiente, según su diagnóstico inicial (gingivitis o periodontitis, respectivamente). Una vez que los pacientes se

encontraron sanos periodontalmente, luego de una semana, se le tomaron las muestras de sangre correspondientes.

#### 4. DETERMINACIONES SÉRICAS DE hsCRP

Las muestras de sangre fueron obtenidas mediante venopunción de la vena antecubital (BP). Los niveles de hsCRP del paciente (rango = 0,1-15 mg/L), fueron evaluados en el Laboratorio Clínico del Hospital de la Universidad de Chile mediante el método turbidimétrico.

#### 5. AISLAMIENTO DE ADN Y REACCIÓN DE POLIMERASA EN CADENA CUANTITATIVA

Fracciones de muestras de sangre fueron trasladadas al Laboratorio de Biología Periodontal y almacenadas a -80°C para su posterior procesamiento. El ADN de sangre fue extraído mediante el kit de aislamiento DNEasy (QIAGEN Inc., Valencia, CA, USA) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La calidad y concentración del ADN fue confirmada mediante espectrofotometría (UV-Vis NanoDrop® ND-1000, Technomed, Wilmington, DE, USA).

La determinación de la carga de *P. endodontalis*, *P. gingivalis* y de bacterias totales en las muestras de sangre de individuos con PA y controles se determinó mediante la reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR) utilizando partidores específicos para carga total, *P. gingivalis* y *P. endodontalis*, respectivamente (**Tabla 1**). El número de copias de ADN de bacterias totales y *P. gingivalis* se determinó mediante la amplificación con partidores específicos dirigidos al gen del ARN ribosomal 16S (Orrego-Cardozo et al., 2015). Para la identificación de *P. endodontalis*, se utilizaron partidores específicos dirigidos al gen de la proteína de choque térmico 60 (*hsp60*) (Bordagaray et al., 2021).

Cada qPCR se realizó con los kits KAPA SYBR® Fast qPCR (KAPA Biosystems, Woburn, MA, EE. UU.). En cada experimento se incluyeron controles positivos consistentes en ADN de *P. gingivalis* ATCC 33277 y *P. endodontalis* ATCC 35406, y control negativo consistente en Buffer TE, sin ADN. Las condiciones de ciclado

consistieron en los siguientes pasos: 95°C por 3 min, 40 ciclos: bacterias totales 95°C por 15 segundos y 60°C por 1 minuto; *P. gingivalis* 95°C por 3 segundos y 58°C por 1 min; *P. endodontalis* 95°C por 30 segundos y 58°C por 1 min.

Para cuantificación absoluta de las cargas bacterianas totales y de especies individuales se compararon los valores del ciclo umbral (CT) de las muestras de prueba con las curvas estándar de números de copias de ADN conocidos de *P. gingivalis* y *P. endodontalis*. Los límites de detección fueron  $10^2$  y  $10^8$  números de copias de ADN, respectivamente. Las cargas bacterianas se expresaron como número de copias del gen hsp60 por  $\mu\text{L}$  de ADN aislado para *P. endodontalis* y número de copias del gen 16SrRNA por  $\mu\text{L}$  de ADN aislado para *P. gingivalis* y para bacterias totales.

**Tabla 1.** Cebadores utilizados para determinar las cargas bacterianas y la frecuencia de las bacterias objetivo.

Bacteria Objetivo	Gen Objetivo	Primer Anterógrado (5'-3')	Primer Retrógrado (5'-3')
<b>Bacterias totales</b>	16S rRNA	TCCTACGGGAGGCAGCAGT	GGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTT
<b><i>P. endodontalis</i></b>	<i>hsp60</i>	TATTGACAAGGCTGTGGCTACC	TTCTTCGTCCCCATTAGCCGA
<b><i>P. gingivalis</i></b>	16S rRNA	AGGCAGCTTGCCATACTGCG	ACTGTTAGTAACTACCGATGT

## 6. MÉTODOS ESTADÍSTICOS

El análisis de datos se realizó con STATA v12® (Stata-Corp. LP, TX, USA), con un nivel de significancia de  $p < 0,05$ . Debido a que se trata de un estudio exploratorio, se incluyeron 17 controles y 16 pacientes con PA y se determinó el poder post-hoc que correspondió a 0.77.

La distribución de los datos se examinó mediante la prueba de Shapiro-Wilk para las variables cuantitativas. Los análisis bivariados de las variables cuantitativas entre los grupos PA y control se examinaron mediante la prueba t de Student o las pruebas de Mann-Whitney. Las variables dicotómicas fueron analizadas mediante test chi-cuadrado. Para determinar la asociación de la carga bacteriana e inflamatoria se utilizaron la prueba de Correlación de Spearman. Para evaluar la asociación de variables desbalanceadas se realizaron regresiones bivariadas y multivariadas.

## RESULTADOS

### CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS Y CLÍNICAS DE LOS GRUPOS DE ESTUDIO

Se incluyeron 16 pacientes con diagnóstico de PA y 17 individuos sanos. En la **Tabla 2** se observan las características demográficas y clínicas de los grupos de estudio.

No hubo variación estadísticamente significativa entre los grupos de estudio en las características demográficas (edad, género, nivel educacional). Se observó un aumento estadísticamente significativo en la presencia de hábito tabáquico en los pacientes con PA respecto de los pacientes sanos ( $p=0,02$ ). Con respecto a los factores clásicos de riesgo cardiovascular modificables, se observó un aumento estadísticamente significativo en IMC ( $p=0,03$ ) en pacientes con PA respecto a los pacientes sanos, mientras que en los niveles de colesterol de alta densidad (CHDL) se observó una disminución estadísticamente significativa en pacientes con PA respecto de los pacientes sanos ( $p=0,04$ ). Así también, los individuos con PA presentaron un mayor porcentaje de sangrado al sondaje (0,48%), respecto de los individuos sanos (0,32%) ( $p=0,01$ ).

**Tabla 2.** Datos demográficos, clínicos y hábitos de grupos de estudio.  $p<0,05$ .

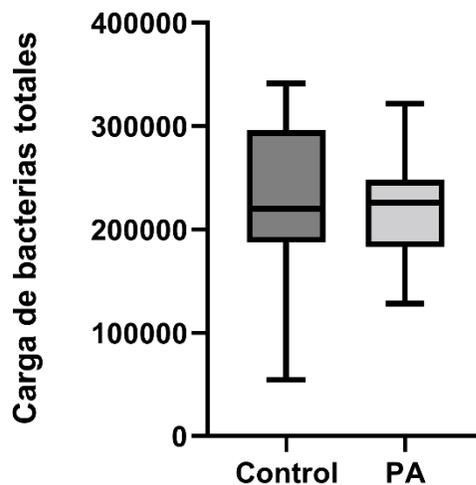
Parámetro	Control (n=17)	PA (n=16)	Valor p
Edad (años (promedio $\pm$ DE))	26,29 $\pm$ 6,03	26,75 $\pm$ 6,24	0,83
Femenino (N (%))	10 (58,82%)	9 (56,25%)	0,88
Fumadores (N (%))	4 (17,65%)	9 (56,25)	<b>0,02</b>
Alcohol (mediana; RIC)	0,9; 2,8	2,8; 6,2	0,73
Nivel educacional (promedio $\pm$ DE)	3,41 $\pm$ 0,51	3,25 $\pm$ 0,45	0,5
Diastólica (mm de Hg (promedio $\pm$ DE))	70,29 $\pm$ 10,61	71,63 $\pm$ 10,98	0,73
Sistólica (mm de Hg (promedio $\pm$ DE))	115,06 $\pm$ 12,03	117,19 $\pm$ 17,34	0,68
HTA (N (%))	2 (11,76%)	0 (0%)	0,16
IMC (kg/m <sup>2</sup> (mediana; RIC))	22,45; 3,23	24,51; 5,32	<b>0,03</b>
NIC (mm (mediana; RIC))	0,33; 0,37	0,24; 0,52	0,96
Sangrado al sondaje (mm (promedio $\pm$ DE))	0,32 $\pm$ 0,16	0,48 $\pm$ 0,19	<b>0,01</b>
Profundidad al sondaje (mm (promedio $\pm$ DE))	2,04 $\pm$ 0,2	2,15 $\pm$ 0,23	0,15

<b>COPD (mediana; RIC)</b>	4; 8	7,5; 8,5	0,05
<b>Colesterol total (mg/dl (promedio ± DE))</b>	184,53 ± 25,35	175,06 ± 33,68	0,37
<b>Colesterol HDL (mg/dl (mediana; RIC))</b>	63; 21	43; 25,5	<b>0,04</b>
<b>Colesterol LDL (mg/dl (promedio ± DE))</b>	99,19 ± 19,97	95,88 ± 28,54	0,71
<b>Triglicéridos (mg/dl (mediana; RIC))</b>	85; 51	122; 77	0,12
<b>Dislipidemia (N (%))</b>	5 (29,41%)	10 (62,5%)	0,06

DE: Desviación Estándar, N: Frecuencia absoluta, %: Frecuencia Relativa, RIC: Recorrido intercuartílico, HTA: Hipertensión Arterial, IMC: Índice de Masa Corporal, NIC: Nivel de Inserción Clínica, COPD: Dientes con caries/obturados/perdidos, C. HDL: Colesterol de alta densidad, C. LDL: Colesterol de baja densidad.

### **CARGA DE BACTERIAS TOTALES, *P. GINGIVALIS* Y *P. ENDODONTALIS* EN SANGRE PERIFÉRICA DE LOS GRUPOS DE ESTUDIO**

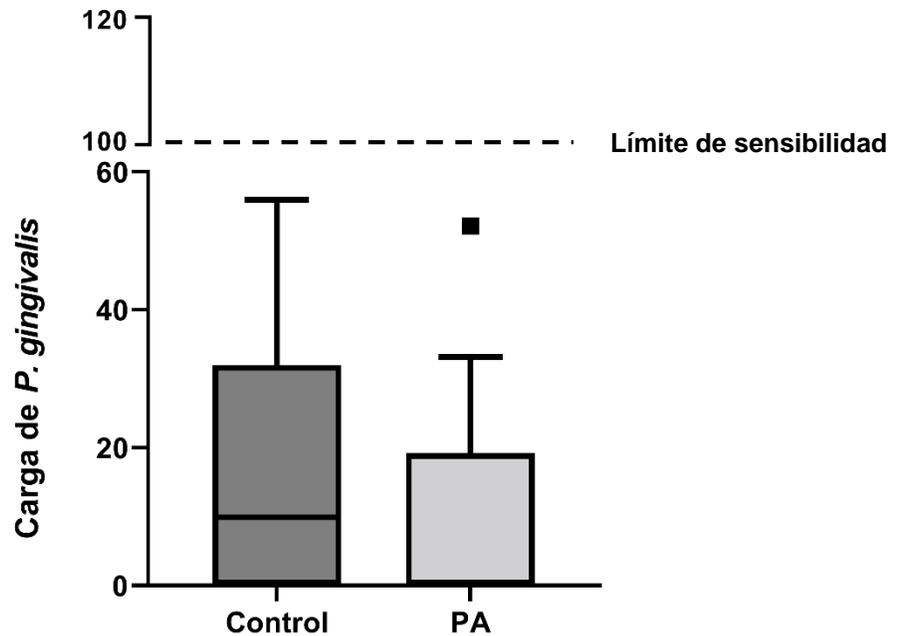
La carga de bacterias totales, *P. endodontalis* y *P. gingivalis* en sangre periférica de pacientes con y sin PA se presentan en la **Figura 3-5**. Con respecto a la carga de bacterias totales, se determinó un mayor número de copias del gen 16S ribosomal en el grupo control (mediana=221.322,5; RIC=74.532,5), respecto al grupo de pacientes con PA (mediana=225.740; RIC=61.379). Sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de estudio (**Figura 3**).



**Figura 3. Carga de bacterias totales en sangre periférica de individuos controles y con PA.** La carga de bacterias totales en sangre periférica se determinó mediante la amplificación del gen 16S ribosomal y se expresó como el número de

*copias del gen 16s ribosomal (marcador genético de bacterias totales) por  $\mu$ L de ADN aislado de sangre periférica en individuos controles e individuos con PA.  $p=0,48$ .*

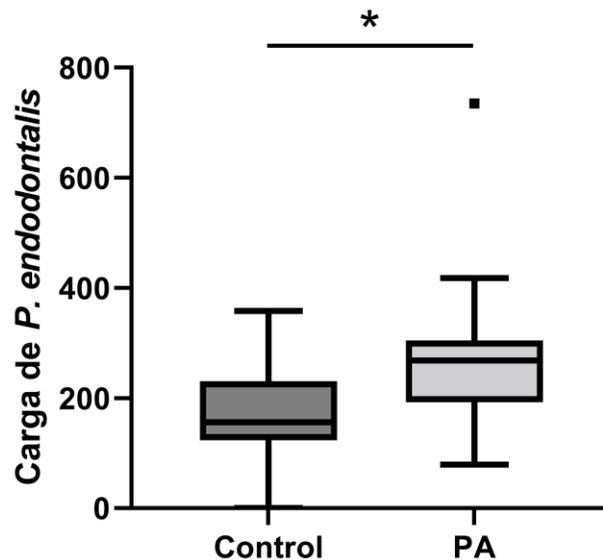
Por su parte, *P. gingivalis* no se identificó en sangre periférica de en pacientes con PA (mediana=10,56; RIC=32,01) o controles (mediana=0; RIC=17,22). Sus niveles se encontraron bajo el límite de sensibilidad del ensayo (**Figura 4**).



**Figura 4. Carga de *P. gingivalis* en sangre periférica de individuos controles e individuos con PA.** La carga de *P. gingivalis* en sangre periférica se determinó mediante la amplificación de marcador genético 16S ribosomal y se expresó como el número de copias del gen 16s ribosomal (marcador genético de *P. gingivalis*) por  $\mu$ L de ADN aislado de sangre periférica en individuos controles e individuos con PA.  $p=0,48$

Respecto de *P. endodontalis* se observó un aumento estadísticamente significativo del número de copias del gen hsp60 por  $\mu$ L de ADN aislado en sangre de pacientes

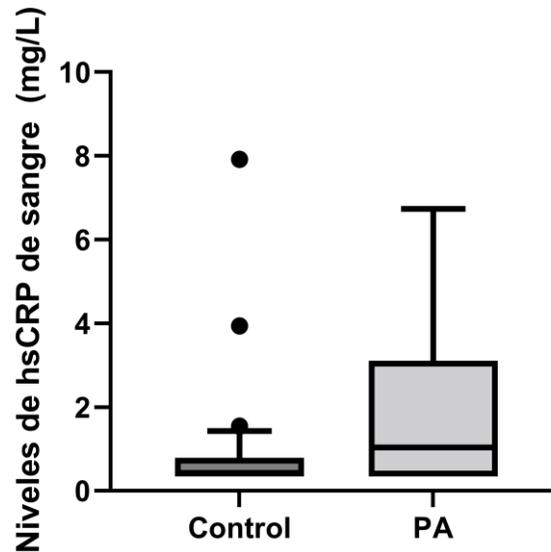
con PA (mediana=268,37; RIC=105,54) con respecto a controles (mediana=145,67; RIC=95,24);  $p=0,008$  (**Figura 5**).



**Figura 5. Carga de *P. endodontalis* en sangre periférica de individuos controles e individuos con PA.** La carga de *P. endodontalis* en sangre periférica se determinó mediante la amplificación del gen *hsp60* y se expresó como el número de copias del gen *hsp60* (marcador genético de *P. endodontalis*) por  $\mu\text{L}$  de ADN aislado de sangre periférica en individuos controles e individuos con PA. \* $p=0,008$ .

#### NIVELES DE hsCRP EN SANGRE PERIFÉRICA DE LOS GRUPOS DE ESTUDIO

Los niveles totales de hsCRP (mg/L) en sangre periférica de pacientes con y sin PA se presentan en la **Figura 5**. Se observó una tendencia al aumento de los niveles de hsCRP en sangre periférica de pacientes con PA (mediana=1,04; RIC=3,02) respecto a controles (mediana=0,48; RIC=0,6), pero esta diferencia no fue estadísticamente significativa ( $p=0,15$ ).



**Figura 5. Niveles de hsCRP de sangre en individuos controles e individuos con PA.** hsCRP: Proteína C reactiva de alta sensibilidad, PA: Periodontitis Apical.  $p=0,15$ .

#### CORRELACIÓN ENTRE CARGA DE BACTERIAS TOTALES, *P. GINGIVALIS* Y *P. ENDODONTALIS*, Y NIVELES DE HSCRIP EN GRUPOS DE ESTUDIO

No se identificó una correlación entre la carga de bacterias totales y *P. endodontalis*, y los niveles de hsCRP (Tabla 4).

**Tabla 4:** Correlación entre carga de bacterias totales y *P. endodontalis*, y hsCRP.

Variable	Carga bacteriana total	Carga de <i>P. endodontalis</i>
hsCRP (r, p, N)	r = -0,18	r = 0,24
	p = 0,23	p = 0,10
	N = 33	N = 33

CT: Carga de bacterias totales, Pe: *Porphyromonas endodontalis*, Pg: *Porphyromonas gingivalis*, hsCRP: Proteína C Reactiva de alta sensibilidad. Valor r: Coeficiente de correlación de Spearman.

## ANÁLISIS DE COVARIABLES DE ESTUDIO

Se confirmó la existencia de una asociación entre la carga de *P. endodontalis* y el diagnóstico periapical independientemente de otras covariables, las que no se asociaron con la carga de la subespecie bacteriana en sangre (IMC: Índice de Masa Corporal, COPD: Dientes con caries/obturados/perdidos, C. HDL: Colesterol de alta densidad; tabla 3).

**Tabla 3.** Asociación entre carga de *P. endodontalis* en sangre periférica y periodontitis apical.

Variables de exposición	Coefficiente $\pm$ DE	p value
Diagnóstico de PA	105,9 $\pm$ 42,0	0,02
R <sup>2</sup> ajustado	0,14	

DE: Desviación Estándar; modelo crudo.

## DISCUSIÓN

Las patologías endodónticas infecciosas se caracterizan por la proliferación de comunidades bacterianas predominantemente anaerobias Gram negativo (Sakko et al., 2016), lo que gatilla la respuesta inmune del hospedero y determina la formación de la LAOE, siendo ésta el signo patognomónico en PA (Bordagaray et al., 2021; Sakko et al., 2016). La proximidad de las LAOE al torrente sanguíneo, sumada a la presencia de un proceso inflamatorio persistente, podría favorecer la translocación bacteriana hacia tejidos periféricos. Adicionalmente, se ha descrito que la translocación bacteriana podría determinar una respuesta inflamatoria sistémica de larga duración y baja intensidad, conocida como inflamación sistémica de bajo grado (León et al., 2015).

En el presente estudio se determinó, por primera vez, que la carga de *P. endodontalis* en sangre periférica es mayor en individuos con PA respecto de individuos sanos, sin presentar una asociación directa con la carga inflamatoria sistémica, determinada por los niveles séricos de hsCRP.

### CARGA TOTAL BACTERIANA

La sangre periférica se consideró un fluido estéril por mucho tiempo. Sin embargo, con el advenimiento de las técnicas moleculares se ha demostrado que la sangre puede presentar niveles subclínicos de productos bacterianos como el ADN incluso en individuos clínicamente sanos (Moriyama et al., 2008). En nuestro estudio, la carga total de bacterias en sangre no presentó diferencias significativas entre los individuos con PA e individuos sanos.

Un estudio previo reportó una carga significativamente mayor de bacterias totales en células mononucleares de sangre periférica de individuos con PA respecto de individuos controles (Bordagaray et al., 2021). Las diferencias en la carga de bacterias totales en sangre en comparación con células mononucleares podría deberse a procesos de fagocitosis y la contribución de bacterias desde otras microbiotas, tales como el tracto gastrointestinal y la piel a sangre periférica (Hahn

y Sohnle, 2013; Nikitenko et al., 2011; Vaishnavi, 2013; Wazna y Górski, 2005). En otros estudios, se ha determinado que existe un aumento de la carga bacteriana total en sangre periférica en pacientes con lesiones o enfermedades asociadas al tracto gastrointestinal respecto de pacientes sanos (Nikitenko et al., 2011; Soriano y Guarner, 2003; Wazna y Górski, 2005). Sin embargo, también se ha visto que existe aumento de la carga bacteriana total en pacientes sanos y sin patologías o lesiones, cuando estos son sometidos a un uso prolongado de algunos medicamentos, como hormonas y cuando se encuentran bajo periodos de estrés prolongado, lo que tiene como consecuencia una disbiosis intestinal, aumentando la carga bacteriana total en sangre periférica (Dinakaran et al., 2014; García de Lorenzo y Mateos et al., 2007; Hahn y Sohnle, 2013; Nikitenko et al., 2011; Nodarse, 2000; Soriano y Guarner, 2003; Wang et al., 2021; Wazna y Górski, 2005; Wunsch y Lewis, 2015; Zhang et al., 2021).

Además, se ha comprobado la existencia de translocación bacteriana intestinal a sitios extraintestinales, tales como el complejo de linfonodos mesentéricos, hígado, bazo y riñones (Berg, 1995; Nikitenko et al., 2011; Soriano y Guarner, 2003; Vaishnavi, 2013; Wazna y Górski, 2005). De este modo, la translocación bacteriana desde sitios extraorales podría contribuir a la carga de bacterias totales en sangre.

### **CARGA DE *P. GINGIVALIS***

*P. gingivalis* es un periodontopatógeno que ha demostrado su capacidad de diseminación sistémica, detectándose su ADN bacteriano en tejidos patológicos lejanos a su hábitat oral. Algunos ejemplos de esto son las placas ateroscleróticas en individuos con aterosclerosis y las placas sinoviales de individuos con artritis reumatoide (Berthelot y Wendling, 2020; Chhibber et al., 2016; Mikuls et al., 2014; Reichert et al., 2013), entre otros.

En línea con nuestros resultados, *P. gingivalis* no fue detectada en células mononucleares de sangre periférica de individuos con PA (Bordagaray et al., 2021). Esto podría deberse a la menor prevalencia de *P. gingivalis* en las enfermedades de origen endodóntico (18,4% a 48%) (Bordagaray et al., 2021; Huang et al., 2005; Jiménez et al., 2022; Siqueira et al., 2008; Wang et al., 2010), en comparación con

la prevalencia de 78% a 90,5% de *P. gingivalis* en enfermedades periodontales crónicas (Ardila y Guzmán, 2016; Faghri et al., 2007; Ingalagi et al., 2022; Rafiei et al., 2018; Scapoli et al., 2015; Suwatanapongched et al., 2010; Wang et al., 2020), donde sí se ha descrito la posibilidad de translocación periférica.

De hecho, en un estudio se vió que *P. gingivalis* puede encontrarse en células mononucleares en pacientes con periodontitis, sin diferencias significativas en la supervivencia de *P. gingivalis* tras distintos tiempos posterior a su infección, sin afectar la migración celular (Suwatanapongched et al., 2010). En otro estudio se detectó mediante PCR la presencia del gen fimA (gen que codifica la fimbriolina, subunidad principal de las fimbrias en *P. gingivalis*) en aislados de sangre de pacientes con periodontitis (Pérez et al., 2009).

Adicionalmente, *P. gingivalis* presenta una alta capacidad de invasión de distintas células del hospedero (Andonova et al., 2015; Ardila y Lafaurie, 2010; Berthelot y Wendling, 2020; Bordagaray et al., 2021; Chhibber et al., 2016; Díaz et al., 2012; How et al., 2016; Jiménez et al., 2022; Kitamura et al., 2022; Liljestrand et al., 2016; Mikuls et al., 2014; Mulhall et al., 2020; Orrego-Cardozo et al., 2015; Peña et al., 2012; Piconi et al., 2009; Reichert et al., 2013; Van Winkelhoff et al., 1992), lo que podría determinar que sus subproductos, tales como el ADN bacteriano, no se encuentren de forma libre en sangre periférica sino que interiorizadas en células del hospedero. Así, por ejemplo, existe evidencia de que diferentes cepas de *P. gingivalis* son capaces de invadir células endoteliales umbilicales *in vitro* (Dorn et al., 2000), lo que explicaría, en parte, la asociación entre la enfermedad periodontal y las enfermedades cardiovasculares.

*P. gingivalis* es uno de los patobiontes periodontales más estudiado y asociado a enfermedades periodontales y ENT, como la aterosclerosis, la enfermedad de Alzheimer, el cáncer colorrectal, la artritis reumatoide, la diabetes, el cáncer de páncreas, entre otras (Dominy et al., 2019; Flak et al., 2022; Giri et al., 2022; Hussain et al., 2015; Olsen y Yamazaki, 2019; Perricone et al., 2019). Esto ha demostrado que la translocación de bacterias orales, incluida *P. gingivalis*, puede alterar el equilibrio del microbioma intestinal (Liu et al., 2021; Sohn et al., 2022). Adicionalmente, se ha visto que existe contribución de la carga de *P. gingivalis* a

distintos tejidos patológicos mediante translocación intestinal, como también contribución por medio del complejo de linfonodos mesentéricos (Berg, 1995; Flak et al., 2022; Giri et al., 2022).

### **CARGA DE *P. ENDODONTALIS***

Por su parte, en este estudio se determinó que la carga de *P. endodontalis* fue significativamente mayor en sangre en pacientes con PA respecto a individuos sanos. Esto va en línea con estudios realizados anteriormente, en donde se ha observado que *P. endodontalis* se detecta frecuentemente en células mononucleares de pacientes con PA e incluso controles. Así también *P. endodontalis* fue detectada en canales endodónticos y lesiones periapicales de pacientes con PA (Bordagaray et al., 2021; Jiménez et al., 2022), lo que explicaría su aumento en sangre periférica y su potencial de translocación.

En el presente estudio, *P. endodontalis* no solo se detectó en sangre periférica de pacientes con PA sino también en pacientes sanos. Eso último podría explicarse por una combinación de factores. En primer lugar, *P. endodontalis* puede coexistir en varios hábitats orales (sitios subgingivales), así como también en la mucosa oral (amígdalas y lengua), donde pueden ser fagocitadas por células mononucleares y sus productos de degradación llegar a la circulación general (Lombardo et al., 2012; Scapoli et al., 2015). En segundo lugar, *P. endodontalis* posee capacidad de supervivencia dentro de células mononucleares, lo que podría facilitar su diseminación mediante éstas (Berthelot y Wendling, 2020; Hazzah et al., 2015; Rodríguez et al., 2019). Finalmente, *P. endodontalis* también puede encontrarse en el tracto gastrointestinal, desde donde podría traslocar a la circulación general asociada a cambios en la permeabilidad intestinal (Ahn et al., 2013; Lim et al., 2022; Pihlstrom et al., 2005).

En línea con los resultados de este estudio, se determinó que la respuesta sistémica de IgG anti-*P. endodontalis* fue mayor en individuos con PA respecto de individuos sanos. En conjunto, en la circulación periférica de pacientes con PA han se detectado mayor carga de *P. endodontalis* como de anticuerpos IgG específicos, los que se consideran como un marcador subrogado de la bacteria (Jiménez et al.,

2022). Además, se detectó *P. endodontalis* dentro de los canales endodónticos de los pacientes con PA, lo que se asoció con un aumento de la endotoxemia (Jiménez et al., 2022). Estos antecedentes sostienen que *P. endodontalis* podría traslocar sistémicamente desde el sistema de canales endodónticos y/o las LAOE.

## **NIVELES DE hsCRP**

La hsCRP es una proteína de fase aguda producida por hepatocitos y células del endotelio vascular, y su síntesis es inducida como respuesta al daño tisular por infecciones, inflamación o neoplasias. Su expresión está regulada por citoquinas, particularmente por la IL-6 y, en menor grado, por IL-1 y TNF- $\alpha$ . Además de sus funciones principalmetne pro-inflamatorias, hsCRP es un marcador prototípico de inflamación sistémica y de estratificación de riesgo cardiovascular (Amezcuca et al., 2007; Garrido et al., 2019; Jiménez et al., 2022; Vega et al., 2015).

Si bien se observó una tendencia hacia el aumento de los niveles de hsCRP en sangre periférica de pacientes con PA respecto a controles, esta diferencia no fue estadísticamente significativa. Se ha reportado recientemente que PA se asocia con niveles mayores de hsCRP y otras proteínas proinflamatorias en la circulación en comparación con individuos controles (Garrido et al., 2019; Jiménez et al., 2022). En soporte de lo anterior, un meta análisis y revisión sistemática reciente reportó una asociación entre PA y aumento de los niveles de hsCRP, contribuyendo a la inflamación sistémica de bajo grado (Georgiou et al., 2019). Además, existe evidencia de que los niveles de hsCRP en sangre periférica se relacionan directamente con la severidad de la LAOE, sobre la base del índice periapical (PAI). Específicamente, los grados PAI 2 y 3 se relacionaron con mayores niveles de hsCRP en sangre respecto de los grados 0 y 1 (Sirin et al., 2019).

Se ha descrito que niveles de hsCRP  $> 1$  mg/L prepresentan un mayor riesgo cardiovascular, actuando como un factor de riesgo no clásico. Según la Asociación Americana del Corazón (AHA), los niveles de hsCRP determinan diferentes niveles de riesgo cardiovascular;  $<1$  mg/L bajo riesgo, 1-3 riesgo moderado,  $>3$  mg/L riesgo alto (Fortmann et al., 2004; Georgiou et al., 2019; Pearson et al., 2003). De hecho,

en los rangos de hsCRP entre 1 a 3 mg/L y > 3 mg/L el riesgo cardiovascular aumenta hasta 2 a 4 veces más respectivamente, que en un paciente sano con rangos menores de 1 mg/L de hsCRP (Amezcueta et al., 2007; León et al., 2015; Vega et al., 2015).

En nuestro estudio, los niveles de hsCRP entre PA y controles, los valores de hsCRP en PA (mediana=1,0; RIC=3,0) establecen un riesgo cardiovascular moderado a diferencia del grupo de controles, donde los niveles de hsCRP (mediana=0,5; RIC=0,6) corresponden al riesgo cardiovascular bajo.

### **ASOCIACION ENTRE hsCRP Y CARGA BACTERIANA SISTÉMICA**

En nuestro estudio los niveles de hsCRP séricos no se asociaron con la carga de bacterias totales o de *P. endodontalis* en sangre. A pesar de que no existen reportes similares, otros estudios han relacionado los niveles de hsCRP en sangre con presencia y severidad de periodontitis (Chang et al., 2020; Sezgin et al., 2019). (Cecoro et al., 2020). En línea, se estableció una relación entre el incremento en los niveles de hsCRP séricos y el aumento de la carga de bacterias orales totales en la arteria carótida de pacientes con periodontitis crónica (Xiuyun et al., 2017).

Por otro lado, en un estudio reportó un aumento en los niveles de hsCRP en los tejidos periapicales en pacientes con PA (Garrido et al., 2015), mientras que *P. endodontalis* y bacterias totales fueron detectados en una alta frecuencia en exudados de canales endodónticos y lesiones periapicales (Bordagaray et al., 2021).

En síntesis, las bacterias endodónticas y en particular *P. endodontalis* y hsCRP se detectan en LAOE y sangre periférica de pacientes con PA. Sin embargo, podrían representar mecanismos independientes involucrados en PA.

## CONCLUSIONES

La carga sistémica de *P. endodontalis* es mayor en pacientes con PA en comparación con pacientes sanos, respaldando su potencial de traslocación a la circulación. Ésta no se asoció directamente con la inflamación sistémica de bajo grado determinada sobre hsCRP. De este modo, la translocación de bacterias orales específicas y la inflamación sistémica de bajo grado podrían representar mecanismos independientes que relacionan la PA con el riesgo de enfermedades sistémicas no transmisibles.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahn J, Sinha R, Pei Z, Dominianni C, Wu J y cols. (2013). Human gut microbiome and risk for colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst*, 105(24), 1907-1911. doi:10.1093/jnci/djt300
- Amezcu-Guerra LM, Springall del Villar R y Bojalil Parra R. (2007). [C-reactive protein: cardiovascular issues of an acute-phase protein]. *Arch Cardiol Mex*, 77(1), 58-66.
- Andonova I, Iliev V, Živković N, Sušič E, Bego I y Kotevska V. (2015). Can oral anaerobic bacteria cause adverse pregnancy outcomes? *Pril (Makedon Akad Nauk Umet Odd Med Nauki)*, 36(1), 137-143.
- Arce Paniagua M, Ulloa Carmona M, Pozo Hernández P y Bravo Bown J. (2017). Detección de Porphyromonas gingivalis en Pacientes Adultos con Periodontitis Crónica. *International journal of odontostomatology*, 11, 13-18.
- Ardila CM y Guzmán IC. (2016). Association of Porphyromonas gingivalis with high levels of stress-induced hormone cortisol in chronic periodontitis patients. *J Investig Clin Dent*, 7(4), 361-367. doi:10.1111/jicd.12175
- Ardila CM y Lafaurie GI. (2010). Asociación entre porphyromona gingivalis y proteína C reactiva en enfermedades sistémicas inflamatorias. *Avances en Periodoncia e Implantología Oral*, 22, 45-53.
- Astorga B, Barraza C, Casals JM, Cisterna MJ, Mena D y cols. (2015). Avances en el Estudio de la Diversidad Bacteriana Oral Asociada a Caries Dental Mediante el Estudio Genómico. *International journal of odontostomatology*, 9, 349-356.
- Berg RD. (1995). Bacterial translocation from the gastrointestinal tract. *Trends Microbiol*, 3(4), 149-154. doi:10.1016/s0966-842x(00)88906-4
- Berthelot JMy Wendling D. (2020). Translocation of dead or alive bacteria from mucosa to joints and epiphyseal bone-marrow: facts and hypotheses. *Joint Bone Spine*, 87(1), 31-36. doi:10.1016/j.jbspin.2019.01.004
- Bordagaray MJ, Fernández A, Garrido M, Astorga J, Hoare A y cols. (2021). Systemic and Extraradicular Bacterial Translocation in Apical Periodontitis. *Front Cell Infect Microbiol*, 11, 649925. doi:10.3389/fcimb.2021.649925

- Cecoro G, Annunziata M, Iuorio MT, Nastri L y Guida L. (2020). Periodontitis, Low-Grade Inflammation and Systemic Health: A Scoping Review. *Medicina (Kaunas)*, 56(6). doi:10.3390/medicina56060272
- Chang YQ, Fang FF, Qin SS, Dong YC y Chen B. (2020). [Effect of scaling and root planing on serum C-reactive protein levels in patients with moderate to severe chronic periodontitis: a systematic review and Meta-analysis]. *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*, 38(4), 385-392. doi:10.7518/hxkq.2020.04.006
- Chhibber-Goel J, Singhal V, Bhowmik D, Vivek R, Parakh N y cols. (2016). Linkages between oral commensal bacteria and atherosclerotic plaques in coronary artery disease patients. *NPJ Biofilms Microbiomes*, 2, 7. doi:10.1038/s41522-016-0009-7
- Cruz Quintana SM, Díaz Sjöstrom P, Arias Socarrás D y Mazón Baldeón GM. (2017). Microbiota de los ecosistemas de la cavidad bucal. *Revista Cubana de Estomatología*, 54, 84-99.
- Díaz Zúñiga J, Yáñez Figueroa J, Melgar Rodríguez S, Álvarez Rivas C, Rojas Lagos C y cols. (2012). Virulencia y variabilidad de *Porphyromonas gingivalis* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* y su asociación a la periodontitis. *Revista clínica de periodoncia, implantología y rehabilitación oral*, 5, 40-45.
- Dinakaran V, Rathinavel A, Pushpanathan M, Sivakumar R, Gunasekaran P y cols. (2014). Elevated levels of circulating DNA in cardiovascular disease patients: metagenomic profiling of microbiome in the circulation. *PLoS One*, 9(8), e105221. doi:10.1371/journal.pone.0105221
- Dominy SS, Lynch C, Ermini F, Benedyk M, Marczyk A y cols. (2019). *Porphyromonas gingivalis* in Alzheimer's disease brains: Evidence for disease causation and treatment with small-molecule inhibitors. *Sci Adv*, 5(1), eaau3333. doi:10.1126/sciadv.aau3333
- Dorn BR, Burks JN, Seifert KN y cols. (2000). Invasion of endothelial and epithelial cells by strains of *Porphyromonas gingivalis*. *FEMS Microbiol Lett*, 187(2), 139-144. doi:10.1111/j.1574-6968.2000.tb09150.x
- Eke PI, Dye B A, Wei L, Slade GD, Thornton-Evans GO y cols. (2015). Update on Prevalence of Periodontitis in Adults in the United States: NHANES 2009 to 2012. *J Periodontol*, 86(5), 611-622. doi:10.1902/jop.2015.140520

- Eke PI, Page RC, Wei L, Thornton-Evans G y Genco RJ. (2012). Update of the case definitions for population-based surveillance of periodontitis. *J Periodontol*, 83(12), 1449-1454. doi:10.1902/jop.2012.110664
- Ellulu MS, Patimah I, Khaza'ai H, Rahmat A y Abed Y. (2017). Obesity and inflammation: the linking mechanism and the complications. *Arch Med Sci*, 13(4), 851-863. doi:10.5114/aoms.2016.58928
- Enderica Cárdenas CA y Torracchi Carrasco JS. (2022). Disbiosis bacteriana y su efecto en enfermedades bucales: una revisión bibliográfica. *Bacterial dysbiosis and its effect on oral diseases: a review bibliographic.*, 79(4), 218-223. doi:10.35366/106916
- Faghri J, Moghim S, Abed AM, Rezaei F y Chalabi M. (2007). Prevalence of Porphyromonas gingivalis and Bacteroides forsythus in chronic periodontitis by multiplex PCR. *Pak J Biol Sci*, 10(22), 4123-4127. doi:10.3923/pjbs.2007.4123.4127
- Flak MB, Colas RA, Muñoz-Atienza E, Curtis MA, Dalli J y cols. (2022). Inflammatory arthritis disrupts gut resolution mechanisms, promoting barrier breakdown by Porphyromonas gingivalis. *JCI Insight*, 7(20). doi:10.1172/jci.insight.165600
- Fortmann SP, Ford E, Criqui MH, Folsom AR, Harris TB y cols. (2004). CDC/AHA Workshop on Markers of Inflammation and Cardiovascular Disease: Application to Clinical and Public Health Practice: report from the population science discussion group. *Circulation*, 110(25), e554-559. doi:10.1161/01.Cir.0000148982.95775.Bf
- García-Casal MN y Pons-García HE. (2014). Dieta e inflamación. *Anales Venezolanos de Nutrición*, 27, 47-56.
- García-Rubio A, Bujaldón-Daza AL y Rodríguez-Archilla A. (2015). Lesiones periapicales: diagnóstico y tratamiento. *Avances en Odontoestomatología*, 31, 31-42.
- García de Lorenzo y Mateos A, Acosta Escribano J y Rodríguez Montes JA. (2007). [Clinical importance of bacterial translocation]. *Nutr Hosp*, 22 Suppl 2, 50-55.
- Garrido M, Cárdenas AM, Astorga J, Quinlan F, Valdés M, Chaparro A y cols. (2019). Elevated Systemic Inflammatory Burden and Cardiovascular Risk in Young

- Adults with Endodontic Apical Lesions. *J Endod*, 45(2), 111-115. doi:10.1016/j.joen.2018.11.014
- Garrido M, Dezerega A, Bordagaray MJ, Reyes M, Vernal R y cols. (2015). C-reactive protein expression is up-regulated in apical lesions of endodontic origin in association with interleukin-6. *J Endod*, 41(4), 464-469. doi:10.1016/j.joen.2014.12.021
- Georgiou AC, Crielaard W, Armenis I, De Vries R y Van der Waal SV. (2019). Apical Periodontitis Is Associated with Elevated Concentrations of Inflammatory Mediators in Peripheral Blood: A Systematic Review and Meta-analysis. *J Endod*, 45(11), 1279-1295.e1273. doi:10.1016/j.joen.2019.07.017
- Giri S, Uehara O, Takada A, Paudel D, Morikawa T y cols. (2022). The effect of *Porphyromonas gingivalis* on the gut microbiome of mice in relation to aging. *J Periodontal Res*, 57(6), 1256-1266. doi:10.1111/jre.13062
- Guo J, Yang D, Okamura H, Teramachi J, Ochiai K y cols. (2014). Calcium hydroxide suppresses *Porphyromonas endodontalis* lipopolysaccharide-induced bone destruction. *J Dent Res*, 93(5), 508-513. doi:10.1177/0022034514526886
- Gutmann JL, Baumgartner JC, Gluskin AH, Hartwell GR y Walton RE. (2009). Identify and define all diagnostic terms for periapical/periradicular health and disease states. *J Endod*, 35(12), 1658-1674. doi:10.1016/j.joen.2009.09.028
- Hahn BL y Sohnle PG. (2013). Direct translocation of staphylococci from the skin surface to deep organs. *Microb Pathog*, 63, 24-29. doi:10.1016/j.micpath.2013.05.012
- Hazzah WA, Hashish MH, El-Koraie AF, Ashour MS y Abbass AA. (2015). Circulating bacterial DNA fragments in chronic hemodialysis patients. *Saudi J Kidney Dis Transpl*, 26(6), 1300-1304. doi:10.4103/1319-2442.168689
- Herrera-Silva J, Treviño-Moore A y Medina-Rosales H. (2008). Association between low-grade inflammation markers and body mass index in children with cancer undergoing chemotherapy. 65, 167-178.
- How KY, Song KP y Chan KG. (2016). *Porphyromonas gingivalis*: An Overview of Periodontopathic Pathogen below the Gum Line. *Front Microbiol*, 7, 53. doi:10.3389/fmicb.2016.00053

- Huang DM, Ling JQ, Fu CH, Luo HX y Zhou XD. (2005). [Colonization relationship between *Porphyromonas gingivalis* and *Bacteroides forsythus* in the infected root canals with chronic apical periodontitis]. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue*, 14(5), 531-535.
- Hussain M, Stover CM y Dupont A. (2015). *P. gingivalis* in Periodontal Disease and Atherosclerosis - Scenes of Action for Antimicrobial Peptides and Complement. *Front Immunol*, 6, 45. doi:10.3389/fimmu.2015.00045
- Ingalagi P, Bhat KG, Kulkarni RD, Kotrashetti VS, Kumbar V y cols. (2022). Detection and comparison of prevalence of *Porphyromonas gingivalis* through culture and Real Time-polymerase chain reaction in subgingival plaque samples of chronic periodontitis and healthy individuals. *J Oral Maxillofac Pathol*, 26(2), 288. doi:10.4103/jomfp.jomfp\_163\_21
- Jiménez C, Garrido M, Pussinen P, Bordagaray MJ, Fernández A y cols. (2022). Systemic burden and cardiovascular risk to *Porphyromonas* species in apical periodontitis. *Clin Oral Investig*, 26(1), 993-1001. doi:10.1007/s00784-021-04083-4
- Kitamura K, Shionoya H, Suzuki S, Fukai R, Uda S y cols. (2022). Oral and Intestinal Bacterial Substances Associated with Disease Activities in Patients with Rheumatoid Arthritis: A Cross-Sectional Clinical Study. *J Immunol Res*, 2022, 6839356. doi:10.1155/2022/6839356
- Lasa I, Pozo JLd, Penadés JR y Leiva J. (2005). Biofilms bacterianos e infección. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 28, 163-175.
- León-Pedroza JI, González-Tapia LA, del Olmo-Gil E, Castellanos-Rodríguez D, Escobedo G y González-Chávez A. (2015). [Low-grade systemic inflammation and the development of metabolic diseases: from the molecular evidence to the clinical practice]. *Cir Cir*, 83(6), 543-551. doi:10.1016/j.circir.2015.05.041
- León P, Ilabaca M, Alcota M y González F. (2011). Frecuencia de periodontitis apical en tratamientos endodónticos de pregrado. *Revista clínica de periodoncia, implantología y rehabilitación oral*, 4, 126-129.

- Liljestrand JM, Mäntylä P, Paju S, Buhlin K, Kopra KA y cols. (2016). Association of Endodontic Lesions with Coronary Artery Disease. *J Dent Res*, 95(12), 1358-1365. doi:10.1177/0022034516660509
- Lim JH, Shin J y Park JS. (2022). Effect of a Proton Pump Inhibitor on the Duodenum Microbiome of Gastric Ulcer Patients. *Life (Basel)*, 12(10). doi:10.3390/life12101505
- Liu Y, Huang W, Wang J, Ma J, Zhang M y cols. (2021). Multifaceted Impacts of Periodontal Pathogens in Disorders of the Intestinal Barrier. *Front Immunol*, 12, 693479. doi:10.3389/fimmu.2021.693479
- Lombardo Bedran TB, Marcantonio RA, Spin Neto R, Alves Mayer MP, Grenier D y cols. (2012). Porphyromonas endodontalis in chronic periodontitis: a clinical and microbiological cross-sectional study. *J Oral Microbiol*, 4. doi:10.3402/jom.v4i0.10123
- Luna Jaramillo NA, Santacruz Insuasty AX, Palacio Córdoba BD y Mafla Chamorro AC. (2009). Prevalencia de periodontitis apical crónica en dientes tratados endodónticamente en la comunidad académica de la Universidad Cooperativa de Colombia, Pasto, 2008. *Revista Facultad de Odontología Universidad de Antioquia*, 21, 42-49.
- Madero-Olivero L, Osorio-Llanes E, Mendoza-Torres E y Torres-Jiménez F. (2022). Mecanismos moleculares implicados en la etiopatogenia de la aterosclerosis coronaria asociada a la infección por Porphyromonas gingivalis. *Revista Colombiana de Cardiología*, 29, 199-208.
- Metzger Z, Abramovitz I y Bergenholtz G. (2009). *Apical periodontitis*. *Medicine, Biology, Materials Science* 2009; 7: 113-127.
- Mikuls T R, Payne JB, Yu F, Thiele GM, Reynolds RJ y cols. (2014). Periodontitis and Porphyromonas gingivalis in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatol*, 66(5), 1090-1100. doi:10.1002/art.38348
- Moriyama K, Ando C, Tashiro K, Kuhara S, Okamura S y cols. (2008). Polymerase chain reaction detection of bacterial 16S rRNA gene in human blood. *Microbiol Immunol*, 52(7), 375-382. doi:10.1111/j.1348-0421.2008.00048.x

- Mulhall H, Huck O y Amar S. (2020). Porphyromonas gingivalis, a Long-Range Pathogen: Systemic Impact and Therapeutic Implications. *Microorganisms*, 8(6). doi:10.3390/microorganisms8060869
- Nikitenko VI, Stadnikov AA y Kopylov VA. (2011). Bacterial translocation from the gastrointestinal tract in healthy and injured rats. *J Wound Care*, 20(3), 114-122. doi:10.12968/jowc.2011.20.3.114
- Nodarse Hernández R. (2000). Translocación bacteriana: enfoque microbiológico. *Revista Cubana de Medicina Militar*, 29, 199-205.
- Olsen I y Yamazaki K. (2019). Can oral bacteria affect the microbiome of the gut? *J Oral Microbiol*, 11(1), 1586422. doi:10.1080/20002297.2019.1586422
- Orrego-Cardozo M, Parra-Gil MA, Salgado-Morales YP, Muñoz-Guarín E y Fandiño-Henao V. (2015). Porphyromonas gingivalis y enfermedades sistémicas. *CES Odontología*, 28, 57-73.
- Page RC y Eke PI. (2007). Case definitions for use in population-based surveillance of periodontitis. *J Periodontol*, 78(7 Suppl), 1387-1399. doi:10.1902/jop.2007.060264
- Papapanou PN, Sanz M, Buduneli N, Dietrich T, Feres M y cols. (2018). Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Clin Periodontol*, 45 Suppl 20, S162-s170. doi:10.1111/jcpe.12946
- Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO 3<sup>rd</sup> y cols. (2003). Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation*, 107(3), 499-511. doi:10.1161/01.cir.0000052939.59093.45
- Peña Sisto M, Calzado da Silva M, González Peña M, Cordero García S y Azahares Argüello H. (2012). Patógenos periodontales y sus relaciones con enfermedades sistémicas. *MEDISAN*, 16, 1137-1148.
- Pérez-Chaparro PJ, Lafaurie GI, Gracieux P, Meuric V, Tamanai-Shacoori Z y cols. (2009). Distribution of Porphyromonas gingivalis fimA genotypes in isolates

- from subgingival plaque and blood sample during bacteremia. *Biomédica*, 29(2), 298-306.
- Perricone C, Ceccarelli F, Saccucci M, Di Carlo G, Bogdanos DP y cols. (2019). Porphyromonas gingivalis and rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol*, 31(5), 517-524. doi:10.1097/bor.0000000000000638
- Piconi S, Trabattoni D, Luraghi C, Perilli E, Borelli M y cols. (2009). Treatment of periodontal disease results in improvements in endothelial dysfunction and reduction of the carotid intima-media thickness. *Faseb j*, 23(4), 1196-1204. doi:10.1096/fj.08-119578
- Pihlstrom BL, Michalowicz BS y Johnson NW. (2005). Periodontal diseases. *Lancet*, 366(9499), 1809-1820. doi:10.1016/s0140-6736(05)67728-8
- Rafiei M, Kiani F, Sayehmiri K, Sayehmiri F, Tavirani M y cols. (2018). Prevalence of Anaerobic Bacteria (P.gingivalis) as Major Microbial Agent in the Incidence Periodontal Diseases by Meta-analysis. *J Dent (Shiraz)*, 19(3), 232-242.
- Reichert S, Haffner M, Keyßer G, Schäfer C, Stein JM y cols. (2013). Detection of oral bacterial DNA in synovial fluid. *J Clin Periodontol*, 40(6), 591-598. doi:10.1111/jcpe.12102
- Rodríguez-Laiz GP, Zapater P, Melgar P, Alcázar C, Franco M y cols. (2019). Bacterial DNA translocation contributes to systemic inflammation and to minor changes in the clinical outcome of liver transplantation. *Sci Rep*, 9(1), 835. doi:10.1038/s41598-018-36904-0
- Sakko M, Tjäderhane L y Rautemaa-Richardson R. (2016). Microbiology of Root Canal Infections. *Prim Dent J*, 5(2), 84-89. doi:10.1308/205016816819304231
- Scapoli L, Girardi A, Palmieri A, Martinelli M, Cura F y cols. (2015). Quantitative analysis of Periodontal Pathogens in Periodontitis and Gingivitis. *J Biol Regul Homeost Agents*, 29(3 Suppl 1), 101-110.
- Serrano-Coll HA, Sánchez-Jiménez M y Cardona-Castro N. (2015). Conocimiento de la microbiota de la cavidad oral a través de la metagenómica. *CES Odontología*, 28, 112-118.
- Sezgin Y, Bulut Ş, Bozalioğlu S y Sezgin A. (2019). Levels of High-Sensitivity C-Reactive Protein in Heart Transplant Patients With and Without Periodontitis.

*Exp Clin Transplant*, 17(Suppl 1), 123-127.  
doi:10.6002/ect.MESOT2018.O65

- Siqueira JF Jr, Rôças IN y Silva MG. (2008). Prevalence and clonal analysis of *Porphyromonas gingivalis* in primary endodontic infections. *J Endod*, 34(11), 1332-1336. doi:10.1016/j.joen.2008.08.021
- Sirin DA, Ozcelik F, Uzun C, Ersahan S y Yesilbas S. (2019). Association between C-reactive protein, neutrophil to lymphocyte ratio and the burden of apical periodontitis: a case-control study. *Acta Odontol Scand*, 77(2), 142-149. doi:10.1080/00016357.2018.1522447
- Sohn J, Li L, Zhang L, Settem RP, Honma K y cols. (2022). *Porphyromonas gingivalis* indirectly elicits intestinal inflammation by altering the gut microbiota and disrupting epithelial barrier function through IL9-producing CD4(+) T cells. *Mol Oral Microbiol*, 37(2), 42-52. doi:10.1111/omi.12359
- Soriano G y Guarner C. (2003). Prevención de la translocación bacteriana mediante probióticos y prebióticos. *Gastroenterología y Hepatología*, 26, 23-30.
- Suwatanapongched P, Surarit R, Srisatjaluk R y Offenbacher S. (2010). Translocation of *Porphyromonas gingivalis* infected monocytes and associated cellular responses. *Asian Pac J Allergy Immunol*, 28(2-3), 192-199.
- Vaishnavi C. (2013). Translocation of gut flora and its role in sepsis. *Indian J Med Microbiol*, 31(4), 334-342. doi:10.4103/0255-0857.118870
- Van Winkelhoff AJ, Van Steenberghe TJ y De Graaff J. (1992). *Porphyromonas* (Bacteroides) *endodontalis*: its role in endodontal infections. *J Endod*, 18(9), 431-434. doi:10.1016/s0099-2399(06)80843-5
- Vega Abascal J, Guimarães Mosqueda MR, Garces Hernández Y, García Bermúdez Y y Vega Abascal LA. (2015). Proteína C reactiva de alta sensibilidad y riesgo de enfermedad cardiovascular. *Correo Científico Médico*, 19, 190-201.
- Wang H, Agrawal A, Wang Y, Crawford DW, Siler ZD y cols. (2021). An ex vivo model of medical device-mediated bacterial skin translocation. *Sci Rep*, 11(1), 5746. doi:10.1038/s41598-021-84826-1

- Wang H, Zhang W, Wang W y Zhang L. (2020). The prevalence of fimA genotypes of Porphyromonas gingivalis in patients with chronic periodontitis: A meta-analysis. *PLoS One*, 15(10), e0240251. doi:10.1371/journal.pone.0240251
- Wang Q, Zhou XD, Zheng QH, Wang Y, Tang L y cols. (2010). Distribution of Porphyromonas gingivalis fimA genotypes in chronic apical periodontitis associated with symptoms. *J Endod*, 36(11), 1790-1795. doi:10.1016/j.joen.2010.08.018
- Wazna E y Górski A. (2005). [Bacterial translocation and its clinical significance]. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*, 59, 267-275.
- Wunsch CM y Lewis JP. (2015). Porphyromonas gingivalis as a Model Organism for Assessing Interaction of Anaerobic Bacteria with Host Cells. *J Vis Exp*(106), e53408. doi:10.3791/53408
- Xiuyun R, Chong W, Xin L, Hao L, Qianhui M y cols. (2017). [Effects of oral interventions on carotid artery in rats with chronic periodontitis for the detection of Porphyromonas gingivalis and the expression of C-reactive protein]. *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*, 35(2), 192-197. doi:10.7518/hxkq.2017.02.016
- Zhang J, Xia Y y Sun J. (2021). Breast and gut microbiome in health and cancer. *Genes Dis*, 8(5), 581-589. doi:10.1016/j.gendis.2020.08.002
- Zhou Q, Desta T, Fenton M, Graves DT y Amar S. (2005). Cytokine profiling of macrophages exposed to Porphyromonas gingivalis, its lipopolysaccharide, or its FimA protein. *Infect Immun*, 73(2), 935-943. doi:10.1128/iai.73.2.935-943.2005
- Zhou X, Li J, Guo J, Geng B, Ji W y cols. (2018). Gut-dependent microbial translocation induces inflammation and cardiovascular events after ST-elevation myocardial infarction. *Microbiome*, 6(1), 66. doi:10.1186/s40168-018-0441-4

## ANEXOS

## ANEXO 1: ACTA APROBACIÓN CONSENTIMIENTO INFORMADO



## ACTA DE APROBACION Nº 50

Santiago, 29 de julio de 2020.

El Comité Ético Científico o de Investigación del Hospital Clínico de la Universidad de Chile, integrado por los siguientes miembros:

Dra. Teresa Massardo Vega. Especialista en Medicina Nuclear. Presidenta  
 Sr. Mauricio Venegas Santos. Bioquímico. Vicepresidente.  
 Dra. Aída Verónica Araya Quintanilla. Médico Endocrinóloga. Secretaria de actas.  
 Dr. Sergio Valenzuela Puchulu. Médico Gineco-Obstetra. Integrante.  
 Dr. Juan Carlos Prieto Domínguez. Médico Farmacología Clínica. Integrante.  
 Dra. Ana María Madrid Silva. Gastroenteróloga. Integrante.  
 Srta. Rina Sepúlveda Alfaro. Abogado. Integrante.  
 Dra. Gloria López Stewart. Médico Endocrinóloga. Integrante.  
 Dr. Juan Jorge Silva Solís. Médico Cirujano. Integrante.  
 Dr. Melchor Lemp Miranda. Médico Neurocirujano. Integrante.  
 Sra. Ginette Zúñiga Navarrete. Miembro de la comunidad.

Ha analizado el Proyecto: "Sensing of oral bacterial DNA translocation by circulating monocytes as drivers of low-grade systemic inflammation in apical periodontitis" en español: "Detección de la translocación del ADN bacteriano oral por monocitos circulantes como impulsores de la inflamación sistémica de bajo grado en la periodontitis apical", cuya investigadora principal es la Dra. Marcela Hernández Ríos, de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile. El proyecto será desarrollado en la Clínica Odontológica de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile.

Para estos efectos se tuvo a la vista los siguientes documentos:

- Carta de presentación de proyecto.
- Carta de Compromiso de la Investigadora Principal.
- Carta de Compromiso co-investigadores.
- Curriculum vitae de la Investigadora Principal.
- Protocolo de proyecto.
- Formulario de Solicitud evaluación de proyecto.
- Anexo 1. Ficha Clínica.
- Documento de Consentimiento Informado Voluntarios donantes de sangre sanos, Versión 2.0, fechado 22 de julio de 2020.

- Documento de Asentimiento Informado Voluntarios extracción por ortodoncia, Versión 2.0, fechado 22 de julio de 2020.
- Documento de Consentimiento Informado Tutores de voluntarios extracción por ortodoncia, Versión 1.0, fechado 22 de julio de 2020.
- Revocación del Consentimiento Informado Versión 1.0, fechado 18 de mayo de 2020.

El Proyecto y los documentos señalados en el párrafo precedente han sido analizados a la luz de los postulados de la Declaración de Helsinki, de las pautas Éticas Internacionales para la Investigación Biomédica en Seres humanos CIOMS 2002, de las Guías de Buenas Prácticas Clínicas de ICH y Normativa Nacional Vigente.

**a) Carácter de la población estudiada**

Terapéutica.

**b) Utilidad del Proyecto**

Adecuada.

**c) Riesgos**

Controlados.

**d) Beneficios**

Adecuados.

**e) Confidencialidad del Estudio**

La Investigadora principal asegura la confidencialidad de todos los datos.

Por lo tanto, el Comité estima que el Estudio propuesto estuvo bien justificado y que no significa para los sujetos involucrados riesgos físicos, psíquicos o sociales mayores. Los consentimientos informados son adecuados en forma y fondo.

En virtud de las consideraciones anteriores, el Comité otorga la Aprobación Ética del estudio propuesto en sesión ordinaria del 29 de julio de 2020, la que se extiende por un plazo de 12 meses a contar de esta fecha. Se adjunta Declaración de Cumplimiento de las Buenas Prácticas Clínicas.

**Se debe tener presente que se debe realizar:**

- Envío para aprobación o toma de conocimiento de nueva documentación relacionada al estudio.
- Cambio en los Delegados del Director de la Institución.
- Notificación de reacciones adversas serias o no serias, en que las serias deben ser notificadas en un plazo de 72 horas hábiles de ocurrido el evento.
- Enviar anualmente avances del Proyecto.
- Solicitud de Extensión de plazo de aprobación.
- Enviar Informe Final del Proyecto.

Los ítems mínimos que deben contener los informes semestrales y finales, son los siguientes:

- Cumplimiento de los objetivos
- Número de Sujetos enrolados
- Número y motivo de los sujetos que abandonan o se retiran

Saluda atentamente a Ud.



Teresa Massardo Vega  
Presidenta del Comité Ético Científico  
Hospital Clínico de la Universidad de Chile

## ANEXO 2: CONSENTIMIENTO INFORMADO

### **DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO:** **Voluntarios donantes de sangre sanos (controles)**

#### **TÍTULO DEL PROYECTO**

Nombre del Investigador: Emma Marcela Hernández Ríos.  
Institución: Facultad de Odontología Universidad de Chile  
Teléfono(s): +569 63424263; 29781808  
Servicio o Departamento: Patología y Medicina Orla  
Información del patrocinador Universidad de Chile, Flavio Salazar.

**Invitación a participar:** Le estamos invitando a participar en el proyecto de investigación "Detección de la translocación del ADN bacteriano oral por monocitos circulantes como impulsores de la inflamación sistémica de bajo grado en la periodontitis apical", debido a que usted cumple con los criterios de elegibilidad.

Antes de tomar la decisión de participar lea atentamente este documento.

**Introducción:** La periodontitis apical es una enfermedad que se produce por infección dentaria y solo puede ser resuelta mediante el tratamiento de canal o la extracción del diente afectado. Además, la presencia de esta infección podría afectar la salud general. En este estudio evaluaremos el perfil de bacterias que causan la enfermedad y la respuesta inflamatoria en la lesión dentaria y en la circulación general. Para esto, el estudio incluirá la participación de voluntarios con esta infección dental y sin ella (sanos); en el caso de los voluntarios sanos, haremos una evaluación clínica y radiográfica por especialistas y tomaremos muestras de sangre. El estudio no involucra intervención alguna más allá de realizar el tratamiento dental indicado, por lo tanto, no implica riesgo para los participantes.

**Objetivos:** Caracterizar el perfil de las bacterias y la respuesta inflamatoria en los dientes y en la sangre de los pacientes con periodontitis apical y voluntarios sanos o controles. El estudio incluirá a un número total de 62 sujetos en la Clínica Odontológica de la Facultad de Odontología Universidad de Chile, donde serán atendidos.

**Procedimientos:** Si Ud. acepta participar, será sometido (a) a los siguientes procedimientos durante la primera visita:

Entrevista, examen clínico y radiográfico, limpieza dental, muestra de placa bacteriana y extracción de sangre de su brazo en ayuna (50 ml). Sus muestras serán utilizadas para determinar la presencia de bacterias y respuesta inflamatoria, incluido el examen de laboratorio clínico niveles de proteína C reactiva de alta sensibilidad en sangre.

**Riesgos:** La toma de muestras no conllevará riesgos para Ud. Además, se le realizará el examen clínico radiográfico intraoral sin costos. Durante la extracción de sangre, usted podría experimentar ligeras molestias, tales como dolor leve, mareos o sensación de debilidad general.



Cualquier otro efecto que Ud. considera que puede derivarse de la toma de muestras, deberá comunicarlo a la Dra. Marcela Hernández Ríos en el teléfono +569 63424263.

**Costos:** Los exámenes clínico-radiográficos e insumos serán aportados por los investigadores (Proyecto FONDECYT 1200098) sin costo alguno para Ud. durante el desarrollo de este proyecto. Todos los exámenes o prestaciones que sean necesarios para el estudio o tratamiento habitual de su enfermedad serán financiados por el estudio. Su participación no le representará gastos adicionales.

**Beneficios:** Además del beneficio que este estudio significará para el progreso del conocimiento y el mejor tratamiento de futuros pacientes, su participación en este estudio le traerá los siguientes beneficios: Diagnóstico clínico y radiográfico dental y limpieza dentaria sin costo. Adicionalmente podrá conocer los resultados del análisis de sus niveles de proteína C reactiva de alta sensibilidad sin costo.

**Alternativas:** Si Ud. decide no participar en esta investigación recibirá la evaluación y tratamiento que se aplica habitualmente en forma particular y con los costos normalmente asociados.

**Compensación:** Ud. no recibirá ninguna compensación económica por su participación en el estudio. Sin embargo, debido al requerimiento de ayuna, se le otorgará una colación inmediatamente después de haber donado sangre y en cada ocasión que lo haga.

**Confidencialidad:** Toda la información derivada de su participación en este estudio será conservada en forma de estricta confidencialidad, lo que incluye el acceso de los investigadores o agencias supervisoras de la investigación. Cualquier publicación o comunicación científica de los resultados de la investigación será completamente anónima.

**Información adicional:** Ud. o su médico tratante serán informados si durante el desarrollo de este estudio surgen nuevos conocimientos o complicaciones que puedan afectar su voluntad de continuar participando en la investigación.

**Voluntariedad y Revocación:** Su participación en esta investigación es totalmente voluntaria y se puede retirar en cualquier momento comunicándolo al investigador (mediante un formulario de revocación del consentimiento opcional) y a su médico tratante, sin que ello signifique sanciones o pérdida de beneficios en nuestra institución o modificaciones en el tratamiento habitual de su enfermedad. De igual manera su médico tratante o el investigador podrán determinar su retiro del estudio si consideran que esa decisión va en su beneficio.

**Complicaciones:** En el improbable caso de que Ud. presente complicaciones directamente dependientes de la toma de muestras. En caso de ocurrir, Ud. recibirá el tratamiento odontológico completo de dicha complicación, financiado por el equipo de investigación, y sin costo alguno para Ud. o su sistema previsional. Esto no incluye las complicaciones propias de su enfermedad y de su curso natural.



**Derechos del participante:** Usted recibirá una copia de este documento firmado. Si usted requiere cualquier otra información sobre su participación en este estudio puede comunicarse con:

Investigador: Marcela Hernández Ríos. Teléfonos: Dra. M. Hernández. (+569 63424263). Sra. Bernarda Parada (+569 99699428)

**Otros Derechos del participante**

En caso de duda sobre sus derechos comunicarse con el Comité Ético Científico o de Investigación del Hospital Clínico Universidad de Chile, Teléfono: 229789008, Email: comiteetica@hcuuch.cl, ubicado en Santos Dumont N° 999, 4 Piso Sector D, Comuna de Independencia, Santiago.

**Conclusión:**

Después de haber leído y comprendido la información de este documento, de haber podido aclarar todas mis dudas, entiendo que me puedo retirar cuando lo desee. Otorgo mi consentimiento libre, informado y voluntario para participar en el proyecto "FONDECYT 1200098"

\_\_\_\_\_  
Nombre del sujeto  
Run.

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Fecha y Hora

\_\_\_\_\_  
Nombre del Investigador  
Run.

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Fecha y Hora

\_\_\_\_\_  
Nombre del Director o Delegado  
Run.

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Fecha y Hora

*Si se trata de un sujeto iletrado, no vidente u otra situación, registrar nombre del sujeto y de su apoderado (Testigo).*

\_\_\_\_\_  
Nombre del Testigo  
Run.

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Fecha y Hora



**DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO:**  
**Voluntarios donantes de sangre grupo PA (casos)**

**TÍTULO DEL PROYECTO**

Nombre del Investigador: Emma Marcela Hernández Ríos.  
 Institución: Facultad de Odontología Universidad de Chile  
 Teléfono(s): +569 63424263; 29781808  
 Servicio o Departamento: Patología y Medicina Orol  
 Información del patrocinador Universidad de Chile, Flavio Salazar.

**Invitación a participar:** Le estamos invitando a participar en el proyecto de investigación "Detección de la translocación del ADN bacteriano oral por monocitos circulantes como impulsores de la inflamación sistémica de bajo grado en la periodontitis apical", debido a que usted cumple con los criterios de elegibilidad.

Antes de tomar la decisión de participar lea atentamente este documento.

**Introducción:** La periodontitis apical es una enfermedad que se produce por infección dentaria y solo puede ser resuelta mediante el tratamiento de canal o la extracción del diente afectado. Además, la presencia de esta infección podría afectar la salud general. En este estudio evaluaremos el perfil de bacterias que causan la enfermedad y la respuesta inflamatoria en la lesión dentaria y en la circulación general. Para esto, el estudio incluirá la participación de voluntarios con esta infección dental y sin ella (sanos), haremos una evaluación clínica y radiográfica por especialistas, tomaremos muestras del diente infectado y de sangre, y realizaremos el tratamiento de canal indicado. El estudio no involucra intervención alguna más allá de realizar el tratamiento dental indicado, por lo tanto no implica riesgo para los participantes.

**Objetivos:** Caracterizar el perfil de las bacterias y la respuesta inflamatoria en los dientes y en la sangre de los pacientes con periodontitis apical y voluntarios sanos o controles. El estudio incluirá a un número total de 62 sujetos en la Clínica Odontológica de la Facultad de Odontología Universidad de Chile, donde serán atendidos.

**Procedimientos:** Si Ud. acepta participar, será sometido (a) a los siguientes procedimientos durante la primera visita:  
 Entrevista, examen clínico y radiográfico, limpieza dental, muestra de placa bacteriana y extracción de sangre de su brazo en ayuna (50 ml). Posteriormente, y **solo si tiene infección dentaria** (periodontitis apical) se le realizará el tratamiento de canal indicado, se le tomará una muestra del canal y se le citará a dos controles posteriores, 1 mes y a los 6 meses, en los que se le evaluará clínica y radiográficamente, y se obtendrá una nueva muestra de sangre (una por cada control). Sus muestras serán utilizadas para determinar la presencia de bacterias y



respuesta inflamatoria, incluido el examen de laboratorio clínico niveles de proteína C reactiva de alta sensibilidad en sangre.

**Riesgos:** La toma de muestras no conllevará riesgos para Ud. Además se le realizará el tratamiento indicado para su infección dentaria. Durante la extracción de sangre, usted podría experimentar ligeras molestias, tales como dolor leve, mareos o sensación de debilidad general. En el caso de las muestras de placa bacteriana y canal radicular, no existen riesgos ni molestias propias de la obtención de muestra. El tratamiento de canal puede ocasionar inicialmente sensibilidad en el diente tratado. Cualquier otro efecto que Ud. considera que puede derivarse de la toma de muestras o del tratamiento de canal, deberá comunicarlo a la Dra. Marcela Hernández Ríos en el teléfono +569 63424263.

**Costos:** Los exámenes clínico-radiográficos, insumos y tratamiento de canal serán aportados por los investigadores (Proyecto FONDECYT 1200098) sin costo alguno para Ud. durante el desarrollo de este proyecto. Todos los exámenes o prestaciones que sean necesarios para el estudio o tratamiento habitual de su enfermedad serán financiados por el estudio. Su participación no le representará gastos adicionales.

**Beneficios:** Además del beneficio que este estudio significará para el progreso del conocimiento y el mejor tratamiento de futuros pacientes, su participación en este estudio le traerá los siguientes beneficios: Diagnóstico clínico y radiográfico dental, limpieza dentaria y tratamiento de infección dental sin costo. Adicionalmente podrá conocer los resultados del análisis de sus niveles de proteína C reactiva de alta sensibilidad sin costo.

**Alternativas:** Si Ud. decide no participar en esta investigación recibirá la evaluación y tratamiento que se aplica habitualmente en forma particular y con los costos normalmente asociados.

**Compensación:** Ud. no recibirá ninguna compensación económica por su participación en el estudio. Sin embargo, debido al requerimiento de ayuna, se le otorgará una colación inmediatamente después de haber donado sangre y en cada ocasión que lo haga.

**Confidencialidad:** Toda la información derivada de su participación en este estudio será conservada en forma de estricta confidencialidad, lo que incluye el acceso de los investigadores o agencias supervisoras de la investigación. Cualquier publicación o comunicación científica de los resultados de la investigación será completamente anónima.

**Información adicional:** Ud. o su médico tratante serán informados si durante el desarrollo de este estudio surgen nuevos conocimientos o complicaciones que puedan afectar su voluntad de continuar participando en la investigación.

**Voluntariedad y Revocación:** Su participación en esta investigación es totalmente voluntaria y se puede retirar en cualquier momento comunicándolo al investigador (mediante un formulario de revocación del consentimiento opcional) y a su médico tratante, sin que ello signifique



sanciones o pérdida de beneficios en nuestra institución o modificaciones en el tratamiento habitual de su enfermedad. De igual manera su médico tratante o el investigador podrán determinar su retiro del estudio si consideran que esa decisión va en su beneficio.

**Complicaciones:** En el improbable caso de que Ud. presente complicaciones directamente dependientes de la toma de muestras o el tratamiento de canal, que incluyen dolor, reagudización del cuadro y falta de respuesta positiva al tratamiento. En caso de ocurrir, Ud. recibirá el tratamiento odontológico completo de dicha complicación, financiado por el equipo de investigación, y sin costo alguno para Ud. o su sistema previsional. Esto no incluye las complicaciones propias de su enfermedad y de su curso natural.

**Derechos del participante:** Usted recibirá una copia de este documento firmado. Si usted requiere cualquier otra información sobre su participación en este estudio puede comunicarse con:

Investigador: Marcela Hernández Ríos. Teléfonos: Dra M. Hernández.(+569 63424263). Sra. Bernarda Parada (+569 99699428)

**Otros Derechos del participante**

En caso de duda sobre sus derechos comunicarse con el Comité Ético Científico o de Investigación del Hospital Clínico Universidad de Chile, Teléfono: 229789008, Email: comiteetica@hcuch.cl, ubicado en Santos Dumont N° 999, 4 Piso Sector D, Comuna de Independencia, Santiago.

**Conclusión:**

Después de haber leído y comprendido la información de este documento, de haber podido aclarar todas mis dudas, entiendo que me puedo retirar cuando lo desee. Otorgo mi consentimiento libre, informado y voluntario para participar en el proyecto "FONDECYT 1200098"

\_\_\_\_\_  
Nombre del sujeto  
Run.

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Fecha y Hora

\_\_\_\_\_  
Nombre del Investigador  
Run.

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Fecha y Hora

\_\_\_\_\_  
Nombre del Director o Delegado  
Run.

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Fecha y Hora

*Si se trata de un sujeto iletrado, no vidente u otra situación, registrar nombre del sujeto y de su apoderado (Testigo).*



Nombre del Testigo  
Run.

Firma

Fecha y Hora



## ANEXO 3: FICHA CLÍNICA

## ANEXO 1. FICHA CLÍNICA

DATOS PERSONALES		ID muestra:	
Nombre:			
e-mail:			
Foto:			
Fecha ingreso:		Diente:	
Género: Femenino <input type="checkbox"/> Masculino <input type="checkbox"/>		Fecha nacimiento: Edad:	
Nivel educacional: básica incompleta <input type="checkbox"/> básica completa <input type="checkbox"/> media completa <input type="checkbox"/> superior completa <input type="checkbox"/>			
ANAMNESIS Y EXAMEN FÍSICO			
Fumador (actual)	No <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/>	No cigarrillo:	
Consumo alcohol	No <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/>	Promedio gr/día:	
Enfermedad sistémica actual	No <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/>	Especificar:	
Tratamiento médico los últimos 3 meses	No <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/>	Especificar:	
BMC (µg/ml):		PA (mmHg):	
EXAMEN CLÍNICO INTRAORAL			
Periodontitis crónica	No <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/>	PS prom (mm): NIC prom (mm):	Severidad periodontitis (Page & She)
Gingivitis	No <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/>	Doloraje (fecha):	
COPD	Cartados (N° de dientes):		
	Obturados (N° de dientes):		
	Fondidos (N° de dientes):		
	COPD Total:		
DIAGNÓSTICO:			
Test de sensibilidad (Bricolaje)	Positivo <input type="checkbox"/> Negativo <input type="checkbox"/>	Perforación	Positiva <input type="checkbox"/> Negativa <input type="checkbox"/>
Tamaño lesión (mm)	Vertical (mm):	Horizontal (mm)	PAI:
TRATAMIENTO INDICADO (especificar):			
Fecha de PQM (medicación con Ca(OH) <sub>2</sub> ):	observaciones:		
Fecha de OCR (cemento sellador):	observaciones:		
Control 1mes post tratamiento Fecha:	observaciones:		
Tamaño lesión	Vertical (mm):	Horizontal (mm):	PAI:
Control 6 meses post tratamiento Fecha:	Observaciones:		
Tamaño lesión(mm)	Vertical:	Horizontal:	PAI:



29-07-2020