



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGÍA CONSERVADORA
DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA**

“Niveles de Piridinolina de Enlace Cruzado Carboxiterminal del Telopectido de Colágeno tipo I (ICTP) en Fluido Gingival Crevicular (FGC) de Dientes con Periodontitis Apical Asintomática (PAa)”

Gianfranco Arce Salvi

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

TUTOR PRINCIPAL

Prof. Dra. Andrea Dezerega Piwonka

TUTORES ASOCIADOS

Prof. Dra. Marcela Hernández Ríos

Dra. Silvana Maggiolo Villalobos

TUTOR EXPERTO

Prof. Dr. Mauricio Garrido Flores

**Financiamiento: DI 07/02-2, FONDECYT 1090461
Santiago-Chile
2012**

AGRADECIMIENTOS

A mis profesores guías de tesis: Dra. Marcela Hernández, Dra. Silvana Maggiolo, Dr. Mauricio Garrido y a mi tutora principal Dra. Andrea Dezerega, que tuvieron siempre la mejor disposición para resolver mis dudas, corregir e instruir conocimiento para el desarrollo de este trabajo de investigación, como también para mi formación profesional.

Al equipo del laboratorio de biología periodontal en especial a la bioquímica Jocelyn García y a la técnico Leslie Henríquez, por enseñarme los protocolos y procedimientos del laboratorio, por su compromiso con mi proyecto y la buena voluntad para ayudarme en todo lo que necesitaba en el trabajo experimental de esta investigación.

En especial a la Dra. Andrea Pizarro y nuevamente a la Dra. Andrea Dezerega por sus palabras de aliento, por creer en mí y hacer querer y respetar cada día esta hermosa profesión.

A mi futura colega Valentina Aranda, que me acompaño y coopero con gran entusiasmo y disponibilidad en el presente trabajo.

Y por ultimo a los funcionarios de la facultad de odontología de la Universidad de Chile, por su cooperación y ayuda fiel en todo momento. Personas de gran calidad profesional y humana. Y en especial a la técnica en radiología Susy por el apoyo incondicional, ayuda y sabios consejos.

A todos gracias.

DEDICATORIA

Quiero agradecer y dedicar al mismo tiempo el presente trabajo a mi familia mi madre, mi padre, mi hermana Caterina y mi sobrina Florencia por su apoyo y motivación para poder finalizar este gran proyecto profesional.

A mis amigos y futuros colegas de la universidad: Pamela Bornscheuer, Juan Pablo Cabezas, Constanza Briceño, Sung kim, Consuelo Cáceres, María Fernanda Cortes, Luis Pérez, Carolina Stange, María Jesús Rivera y Gerhart Wegener por todo su apoyo y comprensión, por su amistad y momentos de alegría en este largo camino, por su compañía y ayuda durante interminables horas de estudio, además de momentos de fiestas, celebraciones y excelentes viajes.

A mis grandes amigas y pilares fundamentales en mi vida Adriana Ortiz por su apoyo y sabiduría en todo momento y a María Fernanda Chávez por su preciada amistad y cariño fraternal.

RESUMEN

Introducción: La Periodontitis Apical asintomática (PAa) es una enfermedad destructiva de los tejidos perirradiculares del diente y de etiología infecciosa. Actualmente no está claro la patogénia de la PAa como tampoco lo está un método de estudio no invasivo que refleje el estado de destrucción y reparación de los tejidos periapicales de dientes post tratamiento endodóntico.

El objetivo del presente estudio es comparar los niveles de piridinolina de Enlace Cruzado Carboxiterminal del Telopectido de Colágeno tipo I (ICTP) obtenidos del fluido gingival crevicular (FGC) de dientes con PAa antes y después del tratamiento endodóntico y dientes sanos, para observar si existe asociación entre los niveles de este marcador y la patología en estudio, así como valorar el uso de FGC para el monitoreo de este tipo de enfermedad.

Materiales y métodos: Se obtuvieron muestras de FGC de dientes con diagnóstico de PAa y de dientes sanos (N=19). Las muestras fueron recolectadas al momento del diagnóstico y después de 1 semana post tratamiento endodóntico. Se determinaron los niveles de ICTP mediante el inmuno ensayo enzimático de adsorción EIA y se realizó el análisis estadístico de los resultados por medio del software Stata versión 11.1.

Resultados: El ICTP se genera en FGC en dientes sanos y con PAa. Si bien se observó que los niveles de ICTP fueron ligeramente mayores en FGC de dientes con PAa que en dientes sanos, y que hubo una tendencia a la disminución después del tratamiento endodóntico, las diferencias no fueron estadísticamente significativas.

Conclusiones: Los niveles de ICTP en el FGC no reflejaron el estado de salud periapical, esto podría estar influenciado por estados inflamatorios gingivales subclínicos y/o por el N muestral bajo del presente trabajo.

LISTA DE ABREVIACIONES

Abreviación	Significado	Página
AAE	Asociación Americana de Endodoncia12.....
ADN	Acido Desoxirribonucleico14.....
CPT	Concentración de Proteínas Totales18.....
EIA	Enzyme inmuno assay23.....
FGC	Fluido Gingival Cevicular9.....
GM-CFU	Unidad formadora de colonia- granulocito y Macrofago16.....
GP	Granuloma periapical10.....
ICTP	Piridinolina de Enlace Cruzado Carboxiterminal Del Telopectido de Colágeno tipo I9.....
IFN-g	Interferón gamma15.....
IL	Interleuquina15.....
LPA	Lesion periapical10.....
LPS	Lipopolisacáridos14.....
MMP	Metaloproteinasa de matriz extracelular10.....
NK	Natural killer15.....
PA	Periodontitis Apical11.....
PAa	Periodontitis Apical Asintomática9.....
PMNN	Polimorfonuclear Neutrófilo13.....
QRI	Quiste radicular10.....
RANKL	Ligando del receptor activador para el factor nuclear Kappa-B14.....
SCR	Sistema de canales radiculares12.....
TNF- a	Factor de necrosis tumoral alfa15.....
TRAP	Fosfatasa alcalina ácido tártaro resistente17.....

INDICE DE CONTENIDOS

AGRADECIMIENTOS.....	1
DEDICATORIA.....	2
RESUMEN.....	3
LISTA DE ABREVIACIONES.....	4
INDICE DE CONTENIDOS.....	5
INDICE DE TABLAS.....	7
1 INTRODUCCION.....	8
2 MARCO TEORICO.....	9
2.1 Generalidades de las patologías periapicales.....	9
2.2 Periodontitis apical asintomático.....	11
2.3 Respuesta del hospedero y mediadores metabólicos en periodontitis apical asintomático.....	13
2.4 Catabolismo óseo en periodontitis apical asintomático.....	14
2.5 ICTP	15
2.6 ICTP en F luido gingival crevicular.....	16
2.7 Fluido gingival crevicular y su utilidad en el estudio de la periodontitis apical asintomático.....	17
3 HIPOTESIS Y OBJETIVOS.....	18
3.1 Hipótesis.....	18
3.2 Objetivo general.....	18
3.3 Objetivo específico.....	19

4 MATERIAL Y METODOS.....	19
4.1 Tipo de estudio.....	19
4.2 Selección de la muestra.....	19
4.3 Factores a considerar.....	20
4.4 Obtención de las muestras.....	20
4.5 Procesamiento de las muestras.....	21
4.5.1 Cuantificación de Proteínas Totales.....	21
4.5.2 Determinación de niveles de ICTP.....	22
4.6 Análisis de los datos.....	22
5 RESULTADOS.....	23
5.1 Características generales de los sujetos de estudio.....	23
5.2 Niveles de ICTP y CTP de las muestras.....	24
5.2.1 Dientes con PAa antes del tratamiento v/s dientes sanos.....	24
5.2.2 Dientes con PAa antes v/s dientes con PAa después del tratamiento endodóntico.....	25
5.3 Asociación entre los niveles de ICTP y factores a considerar.....	26
5.3.1 Niveles de ICTP en FGC en dientes enfermos v/s tamaño de la lesión periapical antes del tratamiento.....	26
5.3.2 Niveles de ICTP v/s Genero	27
5.4 Análisis de frecuencia.....	27
5.4.1 Dientes con PAa antes del tratamiento v/s dientes sanos.....	28
5.4.2 Dientes con PAa antes del tratamiento v/s dientes después de una semana del tratamiento endodóntico.....	28
6 DISCUSION.....	29

7 CONCLUSIONES.....	32
8 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	34
9 ANEXOS	
9.1 Anexo n1 consentimiento informado.....	39
9.2 Anexo n2 ficha clinica.....	41

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Características de los pacientes a los cuales se les tomó muestras de FGC de dientes con PAa antes del tratamiento endodóntico.....	24
Tabla 2: Concentración de proteínas totales y niveles de ICTP en FGC de dientes con PAa no tratados V/S dientes sanos.....	25
Tabla 3: Niveles de ICTP y CPT en FGC de dientes con PAa no tratados v/s tratados endodónticamente después de 1 semana.....	25
Tabla 4: Matriz de correlación de Spearman de entre los niveles de ICTP en FGC de dientes con PAa no tratados y el tamaño de la lesión antes del tratamiento endodóntico.....	26
Tabla 5: Niveles de ICTP en el FGC de dientes con PAa no tratados de sujetos según género.....	27
Tabla 6: Frecuencia de casos y controles por medio del test de McNemara en niveles de ICTP en FGC de dientes con PAa no tratados V/S dientes sanos	28
Tabla 7: Frecuencia de casos y controles por medio del test de McNemara en niveles de ICTP en FGC de dientes con PAa no tratados V/S dientes con tratamiento endodóntico después de una semana.....	28

1 INTRODUCCION

La PAa es un proceso patológico inflamatorio y destructivo de los tejidos periodontales del ápice dentario, como consecuencia de una infección de la pulpa dental y se caracteriza por no presentar sintomatología clínica. Dentro de la imagenología de este cuadro patológico, se observa un área radiolúcida apical. (1)(2)(3)

La respuesta inmune innata y adaptativa del hospedero a las especies microbianas que colonizan el sistema de canales radiculares (SCR), da como resultado lesiones periapicales (LPA), en las cuales se evidencia destrucción de ligamento periodontal, cemento y tejido óseo vecino al ápice, a causa de la reabsorción del hueso alveolar, produciendo dos cuadros semejantes entre sí, el quiste radicular inflamatorio (QRI) y el granuloma periapical (GP), cuyo diagnóstico diferencial es sólo histopatológico. (4)(5)

Dentro de la respuesta del hospedero en PAa se ha descrito las metaloproteinasas de matriz extracelular (MMPs), que corresponden a enzimas que actúan influenciadas por citoquinas pro inflamatorias, las cuales están relacionadas con la patogénesis de las LPA, gracias a su actividad gelatinolítica, entre otras.(27)El proceso alveolar, cuando es afectado por la actividad de MMP libera productos como el ICTP, derivado de las fibras de colágeno tipo I, presente en un 90 % de la matriz ósea.(6)(7)(8)Esta proteína ha sido fuertemente correlacionada con enfermedades orales de reabsorción ósea como la periodontitis y la periimplantitis; y su consecuente pérdida de soporte.(9) De esta forma ICTP es un marcador biológico de catabolismo óseo, donde la importancia de su presencia radica en la especificidad que posee al encontrarse en hueso y cartílago, pero escasamente en piel y tejidos blandos.(10)

Los métodos de estudio y diagnóstico para PAa tienen como gran desventaja ser invasivos y no permitir el monitoreo de la evaluación de las LPA tras finalizar el tratamiento. (11) El FGC se ha estado utilizando para el estudio de marcadores de enfermedades periodontales y recientemente su uso se ha extendido para la caracterización de PAa.(12)

A la fecha el estudio de ICTP de dientes con PAa periodontalmente sano no se ha realizado, es por esto que se presenta el siguiente estudio a fin de caracterizar la patología y buscar nuevos métodos no invasivos para el diagnóstico y seguimiento clínico del paciente.

El objetivo del presente estudio es comparar los niveles de ICTP obtenidos del FGC de dientes con PAa antes y después del tratamiento endodóntico y dientes sanos y observar si existe asociación entre los niveles de este marcador y la patología en estudio.

2 MARCO TEORICO

2.1 Generalidades de Periodontitis Apical (PA):

La destrucción de los tejidos duros del diente lleva consecuentemente a la apertura de la cavidad pulpar y la exposición de tejido pulpar al medio oral. Este tejido se caracteriza por ser un tejido conectivo altamente inervado y vascularizado, con múltiples funciones como la nutrición, sensibilidad y defensa del diente, que en condiciones de salud se presenta sin sintomatología y con respuesta positiva a pruebas de estímulos pulpaes(1) (13).

Dentro de las causas más frecuente de la exposición de la pulpa dental está la caries, pero también este tejido se puede exponer a la filtración bacteriana autógena por enfermedad periodontal, cracks, trauma, iatrogenia a través de los túbulos dentinarios expuestos o por medio de la circulación sanguínea periférica, proceso conocido como anacoresis. (9)

Los microorganismos adaptados según su hábitat, protegidos de las líneas de defensa del hospedero, gracias a la ausencia de microcirculación en el canal radicular, y su organización en forma de biofilm, uniéndose a las paredes de los canales, inducen a adquirir propiedades especiales como antigenicidad, actividad mitogénica, capacidad quimiotáctica, destrucción de los tejidos mediado por actividad enzimática y capacidad de activar células del hospedero. (9)

De esta forma se desarrolla un ambiente propicio para el asentamiento de una microbiota mixta predominantemente bacteriana, anaeróbica y oportunista, provocando la inflamación y necrosis de la pulpa dental. (9)(14)(15)(16)

La microbiota al interior del canal radicular en dientes con LPA está compuesta principalmente por anaerobios estrictos del género *Fusobacterium*, *Porphyromona*, *Provetella*, *Eubacterium* y *Peptostreptococcus*. Siendo de mayor predominancia anaerobia en coronas clínicas no expuestas al medio (mayor de 90%) que en aquellas que si están expuestas a la cavidad oral.(15)(17)Por lo tanto, la exposición de la pulpa dental a la boca es la ruta más importante de la infección endodóntica.(9)

Como resultado de la interacción de la respuesta del hospedero a los microorganismos y sus toxinas al interior del SCR (18), se genera una entidad patológica llamada Periodontitis Apical (PA), que corresponde a un grupo de enfermedades inflamatorias multifactoriales, en las cuales se pierden las características normales de los tejidos periradulares del diente y se produce la destrucción de éstos (ligamento periodontal, cemento radicular y hueso alveolar). El diente comprometido presenta clínicamente una respuesta negativa a las pruebas de sensibilidad pulpar. Esta patología comienza como una inflamación aguda del ligamento periodontal apical, pudiendo estar acompañada de síntomas como dolor o sensibilidad a la percusión. (1)(15)(19)

De acuerdo a lo propuesto por la Asociación Americana de Endodoncia (AAE) existen diferentes tipos de diagnósticos a nivel apical, entre los que se encuentran los siguientes (1):

Periodontitis apical sintomática: Inflamación de etiología no necesariamente bacteriana, usualmente del periodonto apical, produciendo sintomatología clínica, incluyendo dolor en la masticación y/o percusión o palpación. Puede o no tener un área radiolúcida.

PAa: Inflamación y destrucción de los tejidos apicales de origen pulpar y sin sintomatología clínica.

Absceso apical agudo: Reacción inflamatoria producto de la infección pulpar de inicio rápido. Dolor espontáneo, sensibilidad a la presión, formación de pus e inflamación de los tejidos asociados.

Absceso apical crónico: Inflamación reaccional producto de la infección pulpar de inicio gradual, poco a ninguna molestia y la descarga intermitente de pus a través de un tracto sinuoso.

Osteítis condensante: Representación radiopaca, difusa, localizada producto de un estímulo inflamatorio de baja intensidad y usualmente se observa en el ápice del diente.

2.2 Periodontitis Apical Asintomática(PAa):

Como se mencionó anteriormente, la PAa es un proceso patológico inflamatorio y destructivo de los tejidos periodontales en la región periapical del diente como consecuencia de una infección de la pulpa dental y se caracteriza por no presentar sintomatología clínica, además de un área radiolúcida apical en la imagen radiográfica. (1)(2)(3)

La PAa histológicamente se caracteriza por el predominio de macrófagos, linfocitos y células plasmáticas, por sobre la cantidad de polimorfonuclear neutrófilo (PMNN) que conforman la mayoría del infiltrado inicial. Esta respuesta inmune innata y adaptativa no es capaz de eliminar por completo a los microorganismos, produciéndose una barrera circunscrita que previene la diseminación de la infección a otras partes del cuerpo. Estas áreas limitadas son conocidas como LPA, identificándose dos tipos: el quiste radicular inflamatorio (QRI) y el granuloma periapical (GP). Un 50% de las LPA se encuentran epitelizadas, en algunos casos la lesión corresponde a un GP que puede evolucionar a un QRI, presentándose como dos entidades con

características histológicas distintas, a pesar de tener la misma sintomatología clínica, por lo tanto el diagnóstico diferencial de este tipo de lesiones es histopatológico. (4)(5)(20)(21)

Histológicamente estas lesiones pueden corresponder a GP, el cual se caracteriza por ser una masa localizada de tejido inflamatorio agudo y crónico que contiene macrófagos, PMNM, linfocitos B y T, islotes celulares de restos epiteliales de Malassez con capacidad proliferativa y organizacional o desarrollar otro tipo de lesión, como el QRI que corresponde a una lesión inflamatoria crónica con una cavidad patológica cerrada epiteliatizada de forma parcial o totalmente por un epitelio escamoso estratificado no queratinizado de base conectivo fibroso, con un infiltrado celular principalmente compuesto por: macrófagos, pequeños vasos sanguíneos y cristales de colesterol. Todo contenido envuelto por una cápsula. (3)

2.3 Respuesta del Hospedero y Mediadores Metabólicos en PAa:

La respuesta inmunoinflamatoria generada por el hospedero a consecuencia de la infección bacteriana, involucra células, metabolitos, moléculas efectoras, anticuerpos (9) y mediadores inflamatorios, los que a su vez van determinando la progresión de la PAa (15). Mientras que su magnitud es directamente proporcional al número y virulencia de los microorganismos presentes en la infección (23).

La forma en que las bacterias ejercen su patogenicidad en los tejidos del hospedero puede ser de forma directa y / o indirecta. Los mecanismos indirectos incluyen factores secretados por las células del hospedero y /o la matriz intercelular de los tejidos conectivos, como enzimas, exotoxinas y productos finales del metabolismo.(14) Los factores bacterianos que causan daños directos en el tejido son el peptidoglicano, ácido lipoteicoico, fimbrias, flagelos, proteínas de membrana externa y vesículas, el ADN, exopolisacaridos y LPS que se desprenden a los tejidos perirradiculares y actúan como modulinas para estimular el desarrollo de las reacciones

inmunitarias del huésped, dando origen a una destrucción grave de los tejidos. (18)

La respuesta pulpar frente a la invasión bacteriana induce la afluencia de PMNN y monócitos principalmente. A medida que avanza la infección hacia el periapice se genera el inicio de la inflamación del ligamento periodontal apical que comprende una hiperemia, congestión vascular, edema, extravasación de PMNN y una reabsorción ósea inicial no observable radiográficamente.(15). El infiltrado celular se hace mixto y a ello se suman otras especies celulares como Linfocito T(LT)-helper, LT citotóxico/supresor, Linfocito B (LB) y células plasmáticas y Natural Killer (NK), que interactúan con mediadores de la inflamación , anticuerpos y enzimas como las Interleuquinas (IL-1B, IL-4, IL-6, IL-8), factores de necrosis tumoral alfa (TNF- α), MMPs , prostaglandinas e inmunoglobulinas (Ig) (11)(14)(15) como IgG y IgA, induciendo una reacción inmunoinflamatoria que genera daño tisular. (18)

Desde el punto histopatológico el infiltrado celular inicial compuesto principalmente por PMNN, tiene un cambio en su población. La mayor parte del contenido celular producto de la respuesta inflamatoria de las PAa pasa a estar compuesto por macrófagos y linfocitos. Los macrófagos que llegan a los tejidos perirradiculares y apicales provienen de los monocitos que circulan a través de los vasos sanguíneos vecinos, y que son atraídos gracias a la acción de quimioquinas. (9)(23)

Los macrófagos son estimulados por la acción de citoquinas pro-inflamatorias como interferón gamma (INF- γ), provenientes de linfocitos T activados y productos bacterianos componente de la pared celular de bacterias Gram negativa, como el LPS. (9) Estos se involucran en un proceso de diferenciación celular a osteoclasto, conocido como osteoclastogénesis, estimulado por la citoquina ligando del receptor activador para el factor nuclear Kappa-B (RANKL), (23) producida principalmente, por los mismos macrófagos presentes en las LPA (24). Dentro de funciones de los

macrófagos está la fagocitosis y lisis bacteriana, como rol principal, pero además controlar el inicio y regulación del proceso inflamatorio al producir IL- 1α , IL- 1β y TNF- α , la activación de osteoclastos y secreción de MMPs y prostaglandinas que participan en la destrucción de tejido óseo (23) y con ellos la reabsorción ósea apical característica en los dientes con esta enfermedad.

2.4 Catabolismo Óseo en PAa:

El proceso alveolar donde se manifiesta las PAa a nivel periapical, como todo tejido óseo, posee componentes tanto orgánicos como inorgánicos. La porción inorgánica del hueso constituye alrededor de un 65 % de su peso seco, principalmente compuesto por elementos como el calcio y fósforo que existen mayoritariamente en forma de cristales de hidroxapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), los cuales están dispuestos en forma ordenada a lo largo de fibras colágenas tipo I. Mientras que la porción orgánica, constituye alrededor del 35% de su peso seco, compuesto casi en su totalidad con 90% de fibras colágenas de tipo I, enlazada a nivel transversal por enlaces cruzados. El resto de esta porción está compuesta por glicoproteínas como osteocalcina, sialoproteína ósea, fosfoproteína, osteonectina, proteínas específicas de hueso, proteína morfogenética ósea y proteoglicanos.(26)

El catabolismo óseo es dependiente de la acción del osteoclasto, célula multinucleada móvil, proveniente de la diferenciación de la célula progenitora de granulocitos y macrófagos (GM-CFU) al interactuar con RANKL. Esta célula se adhiere a la superficie ósea por medio de filamentos de actina creando un cierre hermético, denominado compartimiento subosteoclástico, donde se aloja una porción de la célula con prolongaciones digitiformes y activas, en borde de cepillos, sellada al hueso creando un microambiente ideal para este mecanismo de reabsorción. (26)

Dentro de los osteoclastos, la enzima anhidrasa carbónica cataliza la formación intracelular de ácido carbónico a partir de dióxido de carbono y agua. El ácido carbónico se disocia dentro de la célula en protones e iones

bicarbonatos. Estos últimos, acompañados de Na^+ cruzan el plasmalema y entran en los capilares vecinos. La bomba de protones en el plasmalema del borde en cepillos de los osteoclastos transportan activamente iones H^+ al compartimiento subosteoclástico y reducen el pH hasta un valor aproximado de 4.5 creando un microambiente, para así ejercer su función desmineralizante.(27). El componente inorgánico de la matriz se disuelve a medida que se acidifica el ambiente y los minerales liberados pasan al citoplasma del osteoclasto para ser transportados a los capilares más cercanos.

Mientras ocurre la desmineralización de la fase inorgánica continuamente se va dejando expuesta la fase orgánica del tejido óseo. Las fibras de colágeno I, principal componente de esta fase, se ve sometida a la acción enzimática de proteasas como: cisteínas (principalmente la cisteína lisosomal catepsina K), fosfatasa alcalina ácida tártaro resistente (TRAP) y MMPs. Se ha demostrado la participación de collagenasas como MMP. -1, -13 y -14 y gelatinasas como la MMP-2 y -9(27).

De esta forma al finalizar el proceso de reabsorción ósea se liberan al medio extracelular productos del catabolismo óseo, considerados marcadores de destrucción ósea, como por ejemplo el ICTP, proveniente de la degradación de las fibras colágenas tipo I.

2.5 ICTP:

El tejido óseo y específicamente las fibras de colágeno tipo I, es afectado en el proceso de reabsorción ósea por diferentes tipos de enzimas proteasas como las MMP. Varios tipos de estas enzimas han sido identificadas como participantes de la reabsorción de la matriz orgánica del hueso, como las MMPs 2, 8, 9,13 y 14(6)(7)(30)31)

A consecuencia de la acción enzimática sobre las fibras de colágeno I, se liberan subproductos de esta fibrilla en forma de pequeños fragmentos de 12–20 kDa.(32). Uno de estos fragmentos es conocido como ICTP, considerado marcador biológico de la reabsorción ósea.(32)

La ordenación espacial de las fibras de colágeno tipo I deriva de modificaciones post traducciones al finalizar la síntesis de procolágeno, como la formación de enlaces cruzados a través de la enzima lisil oxidasa.(33) entre dos residuos de piridinolinas y uno de desoxipiridinolinas o entre tres residuos de piridinolina de las regiones de telopéptidos. (30)

La estructura del ICTP derivada de su forma original tiene dos telepéptidos carboxiterminal en la cadena $\alpha 1$ y uno en la región helicoidal de la cadena $\alpha 2$. Este enlace cruzado es esencial para la estabilidad mecánica de una matriz madura y se presenta específicamente en tejido óseo y cartilaginoso, no así en tejidos blandos como la piel. (31)

Es por esto que el ICTP da especificidad y sensibilidad al proceso de reabsorción ósea, representa un potencial valor diagnóstico para la enfermedad periodontal, pudiendo ser utilizada para diferenciar entre inflamación gingival y la destrucción ósea de una periodontitis o una periimplantitis.(13) Además, también esta presente como marcador de enfermedades sistémicas como las artritis reumatoidea, osteoporosis, hiperparatirodismo y deferentes tipos de cáncer como el de pulmón, mamas y próstata. (13)(33)(34)(35)(36) Siendo el ICTP un instrumento útil para la evaluación de las tasas de la remodelación ósea en la enfermedad ósea metabólica como marcador biológico de reabsorción activa de hueso, confirmado a través de estudios histomorfométricos (8)

2.6 ICTP en FGC:

El FGC, en estado de salud, es un extravasado plasmático con elementos que provienen de una mezcla de varios componentes provenientes de los tejidos del huésped y el suero. Sin embargo, durante la inflamación, este exudado contiene placa dental supra y subgingival, además de células del periodonto y de defensa, anticuerpos, citoquinas, enzimas y productos de la degradación tisular.

Estudios han asociado los niveles de ICTP en FGC para identificar y predecir la progresión de la enfermedad periodontal y para monitorear la respuesta al tratamiento, donde los sacos periodontales de la periodontitis crónica han mostrado una cantidad significativamente mayor de niveles de ICTP que los sitios sanos o con diagnóstico de gingivitis, además los niveles de ICTP bajaron significativamente después de tratamiento periodontal no quirúrgico. (36)(37)

Otros estudios correlacionan fuertemente los niveles de ICTP y los niveles de diferentes especies de periodontopatógenos incluyendo *Bacteroides forsythus*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens* y *Treponema denticola*, lo cual indica que existe una relación positiva entre el marcador de reabsorción ósea ICTP y los periodontopatógenos (31)

2.7 FGC y su utilidad en el estudio de la PAa:

Los métodos de estudio y diagnóstico para PAa se basan principalmente en la biopsia periapical y su estudio anatomopatológico, los cuales sólo pueden realizarse posterior a la exodoncia del diente, mediante cirugía periapical o a través del canal radicular, al inicio del tratamiento endodóntico. Estos métodos de estudio tienen como gran desventaja ser invasivos y no permitir el monitoreo de la evaluación de la lesión tras finalizar el tratamiento. (38) Además se debe considerar que para tener una reparación de los tejidos periapicales en dientes con tratamiento de endodoncia pueden pasar hasta 4 años.(39)(40)

El FGC se ha convertido en un excelente método de diagnóstico de la destrucción del periodonto, además de ser un método cómodo, no invasivo y eficaz para el examen de la cavidad oral. (41)

Recientemente, el FGC se ha estado utilizando para la caracterización de PAa.(12) Estudios actuales han descrito la actividad de gelatinasa para

MMP-2 y -9 a partir de muestras de FGC de dientes con LPA en comparación a dientes sanos en el mismo sujeto. (41)

Con esta evidencia se da paso a importantes líneas de investigación y futuros estudios longitudinales para evaluar y demostrar la relación entre la composición del FGC y el estado de catabolismo de dientes con PAa. Pero queda por aclarar varias interrogantes, una de estas es la relación que existe entre el tratamiento endodóntico, la recuperación de los tejidos periapicales y los niveles de ICTP. (33) (34)

Por estas razones, el propósito del presente estudio es comparar los niveles de ICTP obtenidos del FGC de dientes periodontalmente sano con PAa antes y después del tratamiento endodóntico y dientes sanos, utilizando para tal análisis el test de EIA para ICTP y observar si existe asociación entre los niveles de este marcador y la patología en estudio, así como valorar el uso de FGC para el monitoreo de este tipo de enfermedad.

3 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1 Hipótesis:

Los niveles de piridinolina de enlace cruzado carboxiterminal del telopeptido de colágeno tipo I (ICTP), presente en el fluido gingival crevicular (FGC), aumentan en dientes con periodontitis apical asintomática (PAa), en comparación con dientes sanos y disminuyen como efecto del tratamiento de endodoncia.

3.2 Objetivo general:

Comparar los niveles de ICTP en el fluido gingival crevicular (FGC) de dientes con periodontitis apical asintomática (PAa) antes y después del tratamiento endodóntico convencional, y FGC proveniente de dientes sanos.

3.3 Objetivos específicos:

1. Determinar y comparar la concentración de proteínas totales (CTP) presentes en FGC de dientes con PAa antes y después del tratamiento endodóntico y en dientes sanos.
2. Determinar y comparar los niveles de ICTP presentes en el FGC de dientes con PAa antes del tratamiento y dientes sanos.
3. Determinar y comparar los niveles de ICTP en FGC de dientes con PAa antes y después del tratamiento endodóntico.
4. Asociar niveles de ICTP con género y parámetros radiográficos.
5. Asociar los niveles de ICTP con estados de salud y enfermedad del tejido periodontal apical.
6. Valorar el uso del FGC como medidor de los estados de salud y enfermedad del tejido periodontal apical.

4 MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Tipo de estudio:

El trabajo realizado corresponde a un estudio de casos y controles.

4.2 Selección de la muestra:

El presente estudio fue financiado por el proyecto FONDECYT 1090461, dicho proyecto cuenta con la aprobación del Comité de Ética de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile.

Se seleccionaron 19 pacientes con diagnóstico de PAa con 19 dientes

unirradiculares, con indicación de endodoncia y libres de enfermedad periodontal. Los pacientes seleccionados fueron atendidos en la Clínica de Endodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, previa firma de consentimiento informado (Anexo 1), el cual fue explicado por los investigadores y se les entregó una copia a los participantes para su lectura.

Para realizar el diagnóstico de la PAa se registró en una ficha clínica adjunta (Anexo 2) la anamnesis, el examen clínico y radiográfico. Según Gutmann, J.L. y colaboradores, fueron diagnosticados como PAa aquellos dientes que radiográficamente presenten un área radiolúcida apical y en los cuales, los resultados de los test de sensibilidad pulpares fueron negativos y que a la percusión la respuesta fue normal o levemente aumentada. (El frío fue probado con Endolce[®] Coltene Whaledent, Langenau, Germany y el calor con transpoliisopreno).

Se excluyeron del presente estudio a embarazadas, pacientes que presentasen enfermedades autoinmunes y/o periodontales y aquellos pacientes que recibieron en los últimos tres meses medicación de antibióticos, corticoides o antiinflamatorios; también fueron excluidos dientes ya trepanados o con endodoncia previa.(15)

4.3 Factores a considerar:

- Tamaño Radiográfico de la LPA antes del tratamiento endodóntico: Variable de tipo cuantitativa continua, medida en mm^2 . El área se obtuvo mediante el cálculo del diámetro promedio en mm^2 de cada lesión (diámetro vertical y horizontal), lográndose a partir de este dato el radio respectivo, el cual fue utilizado en el cálculo del área (formula πr^2).
- Género: Variable de tipo cualitativa.

4.4 Obtención de las muestras:

De cada paciente se obtuvieron muestras de FGC procedente del diente con PAa antes y después del tratamiento endodóntico y del diente

sano. Para recolectar la muestra, se aislaron los dientes con tómulas de algodón, se secaron suavemente con aire y se introdujo una tira de papel absorbente (Periopaper™ Gingival Fluid Collection Strips; Oraflow, Smithtown, New York, USA) en el surco gingival, una vez posicionado se dejó durante 30 segundos por sitio: mesio-vestibular, medio-vestibular, disto-vestibular, mesio-palatino/lingual, medio-palatino/lingual y disto-palatino/lingual; luego se depositaron en un tubo eppendorf previamente rotulado y se almacenó a - 80° C hasta su análisis.(42)(43)(44)

4.5 Procesamiento de las muestras:

Las muestras de FGC fueron eluidas utilizando amortiguador de elución Tris- HCl pH 7,5, 0,5 M, NaCl 2M, CaCl₂ 250 mM, Tritón X-100 25% con inhibidor de proteasa libres de EDTA (Complete Mini, EDTA-free, REF11836170001, LOT 12910200, Roche Dignostics GmbH, Mannheim, Germany), agregando 40 µl por tira, es decir 240µl por tubo; posteriormente se agitaron mediante vortex por 30 segundos y se incubaron a 4°C durante 30 minutos. Luego, los tubos se centrifugaron a 12.500 rpm, 5 minutos a 4°C, se recuperó el sobrenadante y se repitió el procedimiento, rescatando un volumen final de 480 µl por tubo aproximadamente. Los eluidos fueron conservados a -80°C por una semana hasta la realización del ensayo bioquímico correspondiente.

4.5.1 Cuantificación de Proteínas Totales.:

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

Cada tubo eppendorf estaba constituido finalmente por 50 µl NaCl 0,9%, 2 µl muestra de FGC y 50 µl BCA. Luego los tubos fueron incubados por 1

hora a 60°C. Posteriormente se centrifugaron y el sobrenadante se midió en un espectrofotómetro a 562nm.

4.5.2 Determinación de niveles de ICTP:

Para determinar los niveles de ICTP en las muestras de FGC, se realizó el test de EIA de acuerdo a las indicaciones del fabricante (ICTP EIA C-terminal telopeptide of type I collagen, enzymeimmunoassay™, UniQ®, Orion Diagnostica Oy, Espoo, Finland)

El Kit contenía una placa de ensayo conformada con 96 pocillos, a cada uno de ellos se encontraba unido el anticuerpo anti-conejo específico para ICTP humano. Los estándares y las muestras de eluido de FGC se añadieron a los pocillos.

Luego, se agregó una cantidad determinada de ICTP marcada con enzima peroxidasa conjugada de color rojo de detección anti-conejo de ICTP a los pocillos, compitiendo con una cantidad desconocida de ICTP, produciendo un complejo antígeno-anticuerpo. Luego es seguido por un antígeno de anti-conejo color azul, el cual rompe el complejo y libera el antígeno libre y se elimina. La cantidad de ICTP en el pocillo es inversamente proporcional a la intensidad del color. La intensidad del color se midió en un espectrofotómetro a 450 nm y mediante una curva de absorbancia v/s concentración, confeccionada con los valores de los estándares, se determinaron los niveles de ICTP en cada muestra.

Los niveles de ICTP fueron normalizados por sitio ICTP (ug/L) y por CPT (ug/L).

4.5 Análisis de los datos:

El análisis estadístico se realizó con el programa Stata v11.1 utilizando diversos test:

- Las características de los pacientes a los cuales se les tomó muestras de FGC

de dientes con PAa antes del tratamiento endodóntico fueron analizadas considerando el promedio \pm desviación estándar.

- La distribución de normalidad de los datos se determinó aplicando el test Shapiro-Wilk.
- Al comparar los niveles de ICTP y la CTP entre FGC de dientes con PAa y FGC de dientes controles sin PAa se utilizó el test T pareado.
- Para comparar los niveles de ICTP y CPT entre FGC de dientes con PAa antes y después del tratamiento endodóntico se usó el test T pareado para muestras relacionadas de acuerdo a la distribución de los datos.
- Se utilizó el test no paramétrico de correlación de Spearman, para asociar el tamaño radiográfico de la lesión periapical, antes del tratamiento endodóntico, con los niveles de ICTP.
- Para la asociación entre el género y los niveles de ICTP, se utilizó el test T pareado.
- Para el análisis de frecuencia de dientes con PAa v/s dientes sanos y para dientes con PAa v/s dientes después de una semana de tratamiento endodóntico se realizó el test de McNemara

En todos los estudios se usó un nivel de significancia $p < 0,05$.

5 RESULTADOS

5.1 Características del grupo estudio:

El grupo en estudio estuvo conformado por un total de 19 pacientes con un diagnóstico clínico de PAa, evaluados en la clínica de endodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, en el año 2011.

La distribución por género de la muestra se observa en la **Tabla 1**. La muestra quedó conformada por un total de 5 hombres y 14 mujeres, de los cuales representan un 35.7 % y 64.3 % respectivamente. La edad promedio de los individuos evaluados fue de 42.6 ± 16.53 años.

El tamaño de la lesión periapical radiográfica en dientes con PAa antes del tratamiento endodóntico promedio 46.84 ± 35.39 mm².

Tabla 1: Características de los pacientes a los cuales se les tomó muestras de FGC de dientes con PAa antes del tratamiento endodóntico.

N	Edad(años)	Hombres	Mujeres	Tamaño Rx LPA At(mm ²)
19	42.60 ± 16.53	35.70%	64.30%	46.85 ± 35.39

Datos expresados como promedio \pm DS. RX: Radiografía. At: Antes del tratamiento endodóntico.

5.2 Niveles de ICTP y CPT en FGC de las muestras:

5.2.1 Dientes con PAa antes del tratamiento v/s dientes sanos:

Los niveles de ICTP y de CPT de las muestras de dientes con PAa antes del tratamiento en comparación con dientes sanos se pueden observar en la **Tabla 2**. La CPT en FGC tendió a ser menor en dientes sanos que en dientes con PAa antes del tratamiento endodóntico, sin embargo no fue estadísticamente significativo. Los niveles de ICTP de las muestras de dientes con PAa antes del tratamiento en comparación con dientes sanos se presentan un menor nivel en estos últimos, aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas.

Tabla 2: Concentración de proteínas totales y niveles de ICTP en FGC de dientes con PAa no tratados V/S dientes sanos.

	Dientes con PAa At	Dientes sanos	N	p
ICTP(ug/L)	0.43±0.02	0.36±.035	3	0.05
CPT(ug/L)	0.27±0.23	0.23± 0.20	14	0.23

Datos expresados como promedio DS. At: Antes del tratamiento endodóntico. N: Número de muestras. No hay diferencia estadísticamente significativa ($p>0,05$). ICTP (ug/L) y CPT analizado con test T pareado.

5.2.2 Dientes con PAa antes v/s dientes con PAa después del tratamiento endodóntico:

Los datos en la **Tabla 3** demuestran una tendencia hacia la disminución de los niveles de ICTP y de CPT en FGC en los dientes respectivos después de 7 días de realizado el tratamiento de endodoncia; sin embargo estas diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p>0.05$).

Tabla 3: Niveles de ICTP y CPT en FGC de dientes con PAa no tratados v/s tratados endodónticamente después de 1 semana.

	Dientes con PAa at	1 semana post-tratamiento	N	p
ICTP(ug/L)	0.40±0.05	0.37± 0.04	5	0.09
CPT(ug/L)	0.26±0.22	0.23±0.18	15	0.22

Datos expresados como promedio DS. At: Antes del tratamiento endodóntico.

No hay diferencia estadísticamente significativa ($p > 0,05$). ICTP ($\mu\text{g/L}$) y CPT analizado con test *T* pareado.

5.3 Asociación entre los niveles de ICTP y factores a considerar:

5.3.1 Niveles de ICTP en FGC en dientes enfermos v/s tamaño de la lesión apical antes del tratamiento:

Para determinar si había asociación entre los niveles de ICTP ($\mu\text{g/L}$) y CPT ($\mu\text{g/L}$) encontrados en FGC de dientes con PAa con el tamaño de la LPA (medida en mm^2) antes del tratamiento endodóntico, se utilizó el test no paramétrico de correlación de Spearman, el cual indicó que no se encontró asociación entre los niveles de ICTP y CPT en FGC y el tamaño de la lesión antes del tratamiento endodóntico ($p > 0,05$), lo que se presenta en la **Tabla 4**.

Tabla 4: Matriz de correlación de Spearman de entre los niveles de ICTP en FGC de dientes con PAa no tratados y el tamaño de la lesión antes del tratamiento endodóntico.

	Tamaño de la lesión At (r;p)
ICTP	0.23; > 0.60
CPT	-0.10; > 0.70

At: Antes del tratamiento endodóntico.

5.3.2 Niveles de ICTP v/s Género:

Como se muestra en la **Tabla 5**, se observaron mayores niveles de ICTP en las muestras de dientes tomadas de sujetos de género masculino

que de género femenino. Con respecto a CPT se observó mayor concentración en pacientes de género femenino que de género masculino. En ninguno de los dos casos, tanto para los niveles de ICTP y CPT hubo diferencia significativa ($p>0.05$).

Tabla 5: Niveles de ICTP en el FGC de dientes con PAa no tratados de sujetos según género.

	Femenino (0)	Masculino(1)	P
ICTP(ug/L)	0.37±0.05	0.40±0.05	0.24
CPT(ug/L)	0.29±0.23	0.21±0.05	0.24

Datos expresados como promedio DS. At: Antes del tratamiento endodóntico. No hay diferencia estadísticamente significativa ($p>0,05$). ICTP (ug/L) y CPT analizado con test T pareado.

5.4 Análisis de frecuencia:

5.4.1 Dientes con PAa antes del tratamiento v/s dientes sanos:

El análisis de frecuencia de los niveles de ICTP de las muestras de dientes con PAa antes del tratamiento en comparación con dientes sanos se pueden observar en la **Tabla 6**. Estas diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p>0.05$)

Tabla 6: Frecuencia de casos y controles por medio del test de McNemara en niveles de ICTP en FGC de dientes con PAa no tratados V/S dientes sanos.

PAa	Sanos		TOTAL
	Detectado	No detectado	
Detectado	3	3	6
No detectado	3	6	9
TOTAL	6	9	15

p=1

5.4.2 Dientes con PAa antes del tratamiento v/s dientes después de una semana del tratamiento endodóntico.

El análisis de frecuencia se pueden observar en la **Tabla 7** de los niveles de ICTP de las muestras de dientes con PAa antes del tratamiento en comparación con dientes después de una semana del tratamiento endodóntico. Estas diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p>0.05$)

Tabla 7: Frecuencia de casos y controles por medio del test de McNemara en niveles de ICTP en FGC de dientes con PAa no tratados V/S dientes con tratamiento endodóntico después de una semana.

Pre-tratamiento	Post-tratamiento		TOTAL
	Detectado	No detectado	
Detectado	5	3	8
No detectado	2	7	9
TOTAL	7	10	17

p= 0,65

6 DISCUSIÓN

La PAa es un proceso patológico inflamatorio y destructivo de los tejidos periodontales del ápice dentario, como consecuencia de una infección de la pulpa dental de tipo bacteriana y se caracteriza por no presentar sintomatología clínica.(1)(2)(3) Histológicamente se caracteriza por el predominio de macrófagos, linfocitos y células plasmáticas en áreas limitadas y que son conocidas como LPA, identificándose dos tipos: el QRI y el GP.(4)

El tejido óseo, específicamente las fibras de colágeno tipo I, es afectado en el proceso de reabsorción ósea por diferentes tipos de enzimas como las MMPs. (6)(7)(28)(29) A consecuencia de la acción enzimática sobre las fibras de colágeno I, se liberan subproductos como fragmentos de ICTP, considerados marcadores biológicos de la reabsorción ósea.(32) los cuales son liberados a fluidos corporales vecinos, como al FGC.

El ICTP se utiliza como indicador de catabolismo óseo y representa un potencial valor diagnóstico para la enfermedad periodontal, como periodontitis o periimplantitis. (36), además de otras enfermedades sistémicas como las artritis reumatoidea, osteoporosis, hiperparatiroidismo y diferentes tipos de cáncer como el de pulmón, mamas y próstata. (32)(37)

El presente trabajo muestra por primera vez los niveles de ICTP en FGC de pacientes con PAa en sujetos periodontalmente sanos, punto importante ya que la destrucción ósea presente en enfermedades periodontales hace que los niveles de ICTP proveniente del tejido periodontal destruido por la periodontitis puedan enmascarse y dar resultados inespecíficos.

Si bien se observó, que en el FGC de dientes con PAa, los niveles de ICTP son ligeramente mayores que en dientes sanos, y que tienden a disminuir posterior al tratamiento endodóntico, los resultados del presente

estudio no demostraron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de ICTP, por lo que se concluye de acuerdo a los resultados de este estudio, que los niveles de ICTP en el FGC no reflejarían el estado de salud o enfermedad de los tejidos periapicales y por lo tanto, no se confirma la hipótesis planteada.

Los niveles de ICTP obtenidos no varían significativamente dependiendo si hay o no PAa, esto podría estar influenciado por el n muestral de este estudio. La causa por la cual se obtuvo un n de muestra reducido en este trabajo, podría deberse, principalmente, a la alta prevalencia de enfermedades periodontales en la población chilena, alcanzando un 93,45% entre los 35-44 años y un 97,58% entre los 65-74 años,(45) las cuales eran consideradas dentro de los criterios de exclusión, ya que se produce un cambio general en el FGC, de un extravasado plasmático a un exudado inflamatorio(46) .Otra posible causa para los resultados obtenidos, es la eventual existencia de estados subclínicos de inflamación, ya que, algunos pacientes incorporados en el estudio, tenían antecedentes de haber presentado enfermedad periodontal, estando actualmente de alta en su tratamiento periodontal. (47)

En el presente estudio, no se encontró asociación entre los niveles de ICTP en el FGC y el tamaño de la lesión antes del tratamiento endodóntico. Esto se puede deber a las limitaciones que existen en la técnica radiográfica utilizada, debido a que las radiografías periapicales siempre tienen una distorsión por angulación, adquirida al momento de efectuar la toma radiográfica. Por otro lado para evaluar el tamaño de la lesión periapical a través de una radiografía periapical existen limitaciones, ya que es un estudio plano de una estructura tridimensional, por lo tanto solo se observa los límites de la lesión pero no así la profundidad de esta. Estas limitaciones se relacionan con la cantidad de pérdida ósea causada por la lesión, la ubicación y la variabilidad en la calibración del operador al momento de tomar la radiografía y al momento de realizar la interpretación de las radiografías periapicales. Por lo que, la posibilidad de relacionar los niveles de ICTP en el FGC con el tamaño radiográfico de la lesión, se ven acotadas,

al no haber forma de saber si existe actividad destructiva al momento de la toma de la muestra, pero hasta el momento, la radiografía periapical es un método de estudio complementario empleado para diagnosticar PAa y para poder efectuar los tratamientos de endodoncia, teniendo un costo económico accesible para el paciente y para los trabajos de investigación. (42) (48) (49)

En el presente trabajo de investigación, no se encontró asociación entre los niveles de ICTP en el FGC y el género, de manera significativa, a pesar de que los niveles de ICTP eran relativamente mayores en hombres que en mujeres, mientras que CPT fue levemente mayor en pacientes del género femenino.

Los hallazgos del presente trabajo de investigación no permiten asociar los niveles de ICTP con la etiopatogénia de la PAa presente a nivel del FGC y por lo tanto este último no podría ser considerado como un marcador biológico útil para diagnosticar PAa o para evaluar la evolución del tratamiento endodóntico.

Los resultados de este trabajo de investigación, no logran validar completamente el uso del FGC como posible herramienta de estudio para diagnosticar PAa, pero la bibliografía estudiada sí lo hace, encontrando diferencia estadísticamente significativa en la CPT y en los niveles de MMP-9, MCP-3 (proteína quimiotáctica de monocitos-3) y MMP-13 en el FGC de dientes con PAa y dientes sanos (42)(50)(51)(52)(53). Por lo cual, se sugiere continuar el estudio de FGC, ya que es una muestra fácil de recolectar, sitio-específica, no invasiva y disponible en todo momento, (50) con el objetivo a largo plazo de desarrollar una prueba confiable, de bajo costo, no invasiva, que podría ser usada como complemento de las herramientas que actualmente se utilizan para el diagnóstico de PA (42) buscando, idealmente, mediadores propios para la enfermedad, o con mayor expresión en ésta, además de servir como un método de seguimiento de la terapia endodóntica en los 4 años de recuperación de los tejidos periradiculares y con esto el éxito del tratamiento.(39)(40)

Se sugiere que en el futuro se realicen más estudios para validar la

metodología expuesta en este trabajo de investigación, aumentando el número de los pacientes incluidos en las muestras a fin de poder tener datos suficientes que permitan la realización de comparaciones entre los grupos estudiados, como también ocupando test mas sensibles para identificar ICTP o aumentar cantidades FGC para la muestra.

7 CONCLUSIONES

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

1. Se puede detectar la presencia de ICTP en el FGC tanto en dientes sanos como en dientes con PAa.
2. No existen diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de ICTP en FGC de dientes sanos y enfermos.
3. No existen diferencias estadísticamente significativas entre CPT en FGC de dientes sanos y con PAa.
4. No existen diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de ICTP en FGC de dientes con PAa antes del tratamiento en comparación con los niveles de ICTP en FGC de dientes con PAa después de una semana de realizado el tratamiento.
5. No existen diferencias estadísticamente significativas entre CPT en FGC de dientes con PAa antes del tratamiento en comparación con CPT en FGC de dientes con PAa después de una semana de realizado el tratamiento.
6. No se encontró asociación entre los niveles de ICTP en FGC de dientes con PAa antes del tratamiento y el tamaño radiográfico de las lesiones periapicales.
7. No se encontró relación respecto a los niveles de ICTP en FGC de dientes con PAa antes del tratamiento y el género.
8. Los niveles de ICTP en el FGC no reflejaron el estado de salud/ enfermedad

de los tejidos periapicales.

9. No se puede concluir si el análisis del FGC actuaría como método de estudio de la PAA, ya que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de ICTP en FGC de dientes sanos y enfermos.

De esta forma queda cubierto el cumplimiento del objetivo general y de los objetivos específicos. La hipótesis planteada es rechazada, debido a que no existen diferencias estadísticamente significativas, en los niveles de ICTP en FGC de las diferentes muestras analizadas.

Los resultados obtenidos se pueden deber al bajo número de muestras estudiadas, debido a la dificultad que existe para lograr el cumplimiento de todos los criterios de inclusión, principalmente por la alta prevalencia que existe de enfermedades periodontales.

8 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- (1)AAE. (2009), Consensus Conference Recommended Diagnostic Terminology. *J. Endod.* 35(12):1634.
- (2)Figdor, D. (2002), Apical periodontitis: A very prevalent problem". *Oral Surg, Oral Med, Oral Pat Oral Rad, and Endo.* 94(6), 651-652.
- (3)Carrillo, C., Vera, F., Peñarrocha, M., Martí, E. (2007), The post-endodontic periapical lesion: histologic and etiopathogenic aspects. *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal.* 12(8):585-590.
- (4)Zhang, H., Bain, JL., Caskey, CP., Sandifer, LC., Johnson, RB. (2011), Effects of gender on serum biomarkers of systemic inflammation coincident to experimentally-induced periapical lesions. *Arch Oral Biol.* 56(2):168-76.
- (5)Gutmann, J.L., Baumgartner, J., Gluskin, A., Hartwell, G., Walton, R. (2009), Identify and define all diagnostic terms for periapical/ periradicular health and disease states. *J. Endod.* 35(12):1658-1674.
- (6)Hernandez, M., Sorsa, T., Obregon, F., Tervahartiala, T., Valenzuela, MA., Pozo, P., Dutzan, N., Lesaffre, E., Molas, M., Gamonal. (2009), J. Proteolytic roles of matrix metalloproteinases (MMP)-13 during progression of chronic periodontitis: initial evidence for MMP-13/MMP-9 activation cascade. *J Clin Periodontol.* 36: 1011–1017.
- (7)Hernández, M., Gamonal, J., Tervahartiala, T., Mäntylä, P., Rivera, O., Dezerega, A., Dutzan, N., Sorsa, T. (2010), Associations Between Matrix Metalloproteinase-8 and -14 and myeloperoxidase in Gingival Crevicular Fluid From Subjects With Progressive Chronic Periodontitis: A Longitudinal Study. *J. Periodontol.* 81(11):1644-1652.
- (8)Eriksen, EF., Charles, P., F, Melsen., Mosekilde, L., L, Risteli., Risteli, J. (1993), Marcadores séricos de la formación de colágeno tipo I y la degradación en la enfermedad ósea metabólica: correlación con la histomorfometría ósea. *J Bone Miner Res.* 8 (2) :127-32.
- (9)Nair, P.N.R. (2004), Pathogenesis of Apical Periodontitis and the Causes of Endodontic Failures. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 15(6):348-381.

- (10)Al-Shammari, KF., Giannobile, WV., Aldredge, WA., Iacono, VJ., Eber, RM., Wang, HL., Oringer, RJ. (2001), Effect of non-surgical periodontal therapy on C-telopeptide pyridinoline cross-links (ICTP) and interleukin-1 levels. *J Periodontol.* 72(8):1045-51.
- (11)Radics, T., Kiss, C., Tar, I., Márton, I.J. (2003), Interleukin-6 and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in apical periodontitis: correlation with clinical and histologic findings of the involved teeth. *Oral Microbiology and Immunology.* 18:9-13.
- (12)Loos BG., Tjoa, S.(2005), Host-derived diagnostic markers for periodontitis: do they exist in gingival crevice fluid?. *Periodontol 2000.*39:53-72.
- (13)Bhaskar,S N.(1980), Orban's oral histology and embryology. 9th.Ed.St.Louis ,C.V.Mosby.166.
- (14)Stashenko, P., Teles, R., D'Souza, R. (1998), Periapical inflammatory responses and their modulation. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 9(4):498-521.
- (15)Nair, P.N.R. (1997), Apical periodontitis: a dynamic encounter between root canal infection and host response. *Periodontology 2000.* 13:121-148.
- (16)Rocas, I.n., Siquiera, J.Fjr. (2008).Root canal microbiota of teeth with cornic apical periontonittis. *J Clinic Microbiol*, 46(11): 3599-606.
- (17)Siqueira, J.F,Jr. et al., (2009) Bacteria in the apical root canal of teeth with primary apical periodontitis.*Oral Surg Oral Med Pathol Oral Radiol Endod.*,.107(5):721-6
- (18)Siquiera, J.F., Rocas, I. (2007), Bacterial Pathogenesis and Mediators in Apical Periodontitis. *Braz. Dent. J.* 18(4):267-280.
- (19)Smith, Q.T, Hinrichs J.E, Melnik R.S.(1986) Gingival crevicular fluid myeloperoxidase at periodontitis sites. *Jour of Periodontal research.*21:45
- (20)Marton IJ, Kiss C.(2000). Protective and destructive immune reactions in apical periodontitis. *Oral Microbiol.Immuno.*15:139-150.
- (21)Silva, T., Garlet, G. , Lara, V., Martins, W., Silva, J. , Cunha, F.(2005).Differential expression of chemokines and chemokines receptors in inflammatory periapical diseases. *Oral Microbiol.Immunol.*20:310-316.
- (22)Siqueira, JF JR, (2002), Endodontic infections concepts , paradigms and perspective: *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral radio Endod.* ,94(3)281-93.
- (23)Metzger, Z. (2000), Macrophages in periapical lesions. *Endod Dent*

Traumatol 16:1-8.

(24)Vernal R et al. (2006), RANKL in human periapical granuloma: possible involvement in periapical bone destruction. *Oral dis*, 12(3):283-9.

(25) Leslie .P Gartner y James I. Hiatt. (2002) *Atlas de Histología, Segunda Edición* Capitulo 7 pagina 132-134 .

(26)Teitelbaum S.(2007), Osteoclasts: what do they do and how do they do it? *Am J pathol*.170:427-435.

(27)Belmar, MJ , Pabst, C, Martínez,B, Hernández M, (2008) Gelatinolytic activity in gingival crevicular fluid from teeth with periapical lesions *Oral Surg Oral en Med Oral Pathol Oral en Endod Radiol. ; 105 (6) :801-6.*

(28)Delaisse, JM,. Et al.(1993), (Pro) collagenase (matrix metalloproteinase-1) is present in rodent osteocalst and in the underlying bone resorbing compartement. *J Cell Sci*.,.106(4):1071-82.

(29)Garnero, P., et al.(2003),The type I collagen framents ICTP and CTX reveal distinct enzymatic pathways of bone collagen degradation. *J Bone Miner Res*.18(5):859-67.

(30)Risteli, J et al. (1993),Radioimmunoassay for the pyridinoline cross-linked carboxy- terminal telopeptide of typel collagen: a new serum marker of bone degradation. *Clin Chem*.39(4) 635-640.

(31)Palys, MD., Haffajee, AD,. Socransky, SS,. Giannobile, WV.(1998), Relationship between C-telopeptide pyridinoline cross-links(ICTP) and putative periodontal pathogens in periodontitis. *J Clin Perio*. 25 (11 Pt 1) 865-871.

(32)Giannobile, W.Lynch, S.Denmark, R.Paquette,D,.Fiorellini,J., Williams, R (1995). Crevicular fluid osteocalcin and pyridinoline cross-linked carboxyterminal telopeptide of type I collagen (ICTP) as markers of rapid bone turnover in periodontitis. *J Clin Perio* 22(12): 903–910

(33)Maemura, M., Lino, Y., Yokoe, T., Takei, H., Horiguchi, J., Koibuchi, Y., Ikeda, F., Ohwada, S., Takeyoshi, I., Morishita, Y.(2000),Serum concentration of pyridinoline cross linked carboxyterminal telopeptide of type I collagen in patients with metastatic breast cancer. *Oncol Rep*. 7(6):1333-8.

(34)Maeda, H., Koizumi, M., Yoshimura, K., Yamauchi, T., Kawai, T., Ogata E. (1997) Correlation between bone metabolic markers and bone scan in prostatic cancer. *Urol*. 157(2):539-43.

- (35) Kobayashi T, Gabazza EC, Taguchi O, Risteli J, Risteli L, Kobayashi H, Yasui H, Yuda H, Sakai T, Kaneda M, Adachi Y. (1999), Type I collagen metabolites as tumor markers in patients with lung carcinoma. *Cancer*. ;85(9):1951-7
- (36) Hakala, M., Risteli, L., Manelius, J., Nieminen, P., Risteli, J. (1993), Increased type I collagen degradation correlates with disease severity in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 52(12):866-9.
- (37) Al Shammari, KF., Giannobile, WV., Aldredge, WA., Iacono, VJ., Eber, RM., Wang, HL., Oringer, RJ. (2001) Effect of non-surgical periodontal therapy on C-telopeptide pyridinoline cross-links (ICTP) and interleukin-1 levels. *J Perio*. 72(8):1045-51.
- (38) Radics T. (2003), Interleukin-6 and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in apical periodontitis: correlation with clinical and histologic findings of the involved teeth. *Oral Microbiology and Immunology*. 18:9-13
- (39) Chazel J. C., et al. (2005), A comparative analysis of periapical health based on historical and current data. *Int endod J*. 38(5):277-84.
- (40) Cunha E.M et al. (2005). Unicystic ameloblastoma : a possible pitfall in periapical diagnosis. *Int Endod J*. 38(5):334-40.
- (41) Mundi, V A. (2009), Expresión de metaloproteinasas de matriz extracelular (MMPs)-2, -13 y -14 en dientes con periodontitis apical crónica y tejido periapical sano. Trabajo de Investigación requisitos para optar al título de cirujano dentista, Universidad de Chile .
- (42) Wei, P.F., Ho, K.Y., Ho, Y.P., Wu, Y.M., Yang, Y.H., Tsai, C.C. (2004), The investigation of glutathione peroxidase, lactoferrin, myeloperoxidase and interleukin-1β in gingival crevicular fluid: Implications for oxidative stress in human periodontal diseases. *J. Periodontal Res*. 39:287-293.
- (43) Cao, CF., Smith, QT. (1989), Crevicular fluid myeloperoxidase at healthy, gingivitis and periodontitis sites. *J. Clin. Periodontol*. 16:17-20.
- (44) Espinoza, M. (2011), Niveles de catepsina K en el fluido gingival crevicular de dientes con periodontitis apical asintomática. Trabajo de investigación para optar al título de Cirujano-Dentista. Universidad de Chile.
- (45) Gamonal, J., Mendoza, C., Espinoza, I., Muñoz, A., Urzúa, I., Aranda, W., Carvajal, P., Arteaga, O. (2010), Clinical Attachment Loss in Chilean Adult Population: First Chilean National Dental Examination Survey. *J*

Periodontol. 81(10):1403-1410.

(46) Subrahmanyam, MV., Sangeetha, M. (2003), Gingival crevicular fluid a marker of the periodontal disease activity. Indian Journal of Clinical Biochemistry. 18(1): 5-7.

(47) Restrepo, A., Velasco, S., Franco, L. (2009), Evolución de los modelos que explican la Etiopatogénesis de la Enfermedad Periodontal. Rev. Estomat. 17(2): 52-59.

(48) Patel, S., Dawood, A., Whaites, E., Pitt, T. (2009), New dimensions in endodontic imaging: part 1—conventional and alternative radiographic systems. Int Endod J. 42:447–462.

(49) Gamonal, J., Mendoza, C., Espinoza, I., Muñoz, A., Urzúa, I., Aranda, W., Carvajal, P., Arteaga, O. (2010), Clinical Attachment Loss in Chilean Adult Population: First Chilean National Dental Examination Survey. J Periodontol. 81(10):1403-1410

(50) Dezerega, A., Hernandez, M. (2009), FGC: ¿Nueva Herramienta de Estudio de Periodontitis Apical Crónica? Canal Abierto: Revista de la sociedad de endodoncia de Chile. 21:43-45.

(51) Belmar, M., Pabst, C., Martínez, B., Hernández, M. (2008), Gelatinolytic activity in gingival crevicular fluid from teeth with periapical lesions. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology. 105(6):801-806.

(52) Mardones, J. (2009), Expresión de proteína quimiotáctica de monocitos – 3 (MCP-3/CCL7) en fluido gingival crevicular y en lesiones periapicales de dientes con periodontitis apical crónica. Trabajo de investigación para optar al título de Cirujano-Dentista. Universidad de Chile.

(53) González, P. (2010), Expresión de metaloproteinasa de matriz extracelular-13 (MMP-13) en dientes con periodontitis apical asintomática. Trabajo de investigación para optar al título de Cirujano-Dentista. Universidad de Chile.

ANEXOS

Anexo N°1: Consentimiento Informado.

Trabajo de Investigación: Niveles de piridinolina de enlace cruzado carboxyterminal del telopeptido de colágeno tipo I (ICTP) en Fluido Gingival Crevicular (FGC) de Dientes con Periodontitis Apical Asintomática (PAa).

Objetivos: Comparar los niveles de ICTP en el fluido gingival crevicular en dientes con periodontitis apical asintomática antes y después del tratamiento endodóntico.

Investigador responsable: Dra. Andrea Dezerega; Depto. de Odontología Conservadora, Facultad de Odontología, Universidad de Chile. Valentina Aranda; Tesista Alumna, Facultad de Odontología, Universidad de Chile.

Antecedentes Generales

Las lesiones periapicales (periodontitis apical crónica) se producen generalmente como consecuencia de caries dentales. El tratamiento indicado para estas lesiones es la extracción del diente afectado o el tratamiento endodóntico, con el objetivo de eliminar la infección y evitar las complicaciones de esta patología. El propósito del presente estudio es caracterizar posibles mediadores de destrucción tisular asociados a estas lesiones, en estados de enfermedad, reparación y salud. Este formulario será explicado por el investigador y se entregará a los participantes para su lectura.

Procedimiento

Se incluirán sujetos mayores de 18 años, que en el examen clínico y radiográfico presenten diagnóstico de Periodontitis Apical Asintomática. Cuando esté indicado, serán sometidos a tratamiento endodóntico, durante el cual se les tomará una muestra de fluido del surco dentario mediante tiras de papel absorbente, antes, una semana después del tratamiento, después de 3 y 6 meses postratamiento y de un diente control. El tratamiento endodóntico será gratuito para el paciente y efectuado por un especialista en endodoncia.

La obtención de estas muestras en sí no presenta riesgos ni costos adicionales para el paciente.

El total de muestras y datos obtenidos serán almacenados por el investigador responsable para su utilización exclusiva en el desarrollo del presente estudio. Los datos personales e identificación de los sujetos participantes serán confidenciales. En caso de manifestar interés en los resultados de los análisis efectuados, los interesados pueden acceder a esta información solicitándola al investigador responsable. Los sujetos participantes pueden retirarse del estudio en cualquier momento que estimen conveniente. En este caso, sólo se estudiarán las muestras obtenidas con anterioridad al retiro del sujeto.

Ventajas

Como ventajas de participar en el presente estudio, a todos los participantes del mismo se les realizará en forma gratuita el tratamiento de endodoncia, con sus respectivos controles clínicos y radiografías a los 3, 6 y 9 meses.

Declaro

Haber comprendido las explicaciones que se me han facilitado, en un lenguaje claro y sencillo, y el facultativo me ha permitido realizar todas las observaciones y preguntas necesarias, resolviéndome todas las dudas que he planteado. También comprendo que, en cualquier momento y sin necesidad de dar explicación alguna puedo revocar el consentimiento que ahora presto para participar en el presente Proyecto de Investigación.

Identificación Paciente

Nombre.....
RUT.....
Teléfono.....
Firma.....

Identificación Dentista:

Nombre.....
RUT.....
Firma.....

Identificación Tesista:

Nombre.....
RUT.....
Firma.....

Anexo N°2: Ficha Clínica

Diente a tratar <input style="width: 30px;" type="text"/>	Referido por _____	N° comprobante de pago <input style="width: 30px;" type="text"/>	
APELLIDO PATERNO	APELLIDO MATERNO	NOMBRES	Edad <input style="width: 30px;" type="text"/> Sexo F <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/>
Domicilio _____		Ciudad _____	Teléfono _____
Alumno _____			
Docente _____			

ANAMNESIS Enfermedades Generales _____ Reacciones atípicas frente a determinados fármacos _____ Historia anterior del Diente _____ _____ _____	SINTOMATOLOGÍA ACTUAL <input type="checkbox"/> Dolor — <input type="checkbox"/> Presenta <input type="checkbox"/> Ausente <input type="checkbox"/> Frio <input type="checkbox"/> Moderado <input type="checkbox"/> Espontáneo — <input type="checkbox"/> Esperádico <input type="checkbox"/> Calor <input type="checkbox"/> Severo <input type="checkbox"/> Constante <input type="checkbox"/> Posición decubito <input type="checkbox"/> Localizado <input type="checkbox"/> Provocado <input type="checkbox"/> Dulce <input type="checkbox"/> Irradiado <input type="checkbox"/> Sensación de diente elongado <input type="checkbox"/> Ácido <input type="checkbox"/> Fugaz <input type="checkbox"/> Masticación <input type="checkbox"/> Persistente Duración _____
--	--

EXAMEN CLÍNICO EXTRAORAL
<input type="checkbox"/> Aumento del volumen <input type="checkbox"/> Adenopatía <input type="checkbox"/> Fístula <input type="checkbox"/> Nada especial <input type="checkbox"/> Otros (especifique) _____

EXAMEN CLÍNICO INTRAORAL (Síntomas Objetivos) <input type="checkbox"/> Cambio de color coronario <input type="checkbox"/> Caries <input type="checkbox"/> super. <input type="checkbox"/> prof. <input type="checkbox"/> penetr. <input type="checkbox"/> Cavidad <input type="checkbox"/> super. <input type="checkbox"/> prof. <input type="checkbox"/> penetr. <input type="checkbox"/> Obturación <input type="checkbox"/> super. <input type="checkbox"/> prof. <input type="checkbox"/> penetr. <input type="checkbox"/> Fractura <input type="checkbox"/> super. <input type="checkbox"/> prof. <input type="checkbox"/> penetr. <input type="checkbox"/> Movilidad (grado) _____ <input type="checkbox"/> Saco periodontal (profundidad) _____ <input type="checkbox"/> Oclusión del diente — <input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Inoclusión <input type="checkbox"/> Trauma oclusal Malposición o versión _____	REGION VESTIBULAR (en relación al diente) <input type="checkbox"/> Cambio de coloración <input type="checkbox"/> Dolor a la palpación <input type="checkbox"/> Aumento de volumen — <input type="checkbox"/> Localizado <input type="checkbox"/> Difuso <input type="checkbox"/> Duro <input type="checkbox"/> Blando <input type="checkbox"/> Fístula — <input type="checkbox"/> Activa <input type="checkbox"/> Inactiva	EXAMEN RADIOLÓGICO Reabsorción ósea marginal <input type="checkbox"/> Vertical <input type="checkbox"/> Horizontal <input type="checkbox"/> Discreta <input type="checkbox"/> Marcada <input type="checkbox"/> Franca Conductos Radiculares (claves) Único Vestibular (V) Palatino (P) Mesial (M) Distal (D) Mesio vestibular (mayor) (MV1) Mesio vestibular (menor) (MV2) Disto vestibular (DV) Mesio lingual (ML) Disto lingual (DL) Otro _____ Claves conductos radicales _____
---	---	--

TESTS Frio (F) <input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Aumentado <input type="checkbox"/> Disminuido <input type="checkbox"/> No responde Calor (C) <input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Aumentado <input type="checkbox"/> Disminuido <input type="checkbox"/> No responde Corte dentinario <input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Aumentado <input type="checkbox"/> Disminuido <input type="checkbox"/> No responde Percusión <input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Aumentado Exploración <input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Aumentado <input type="checkbox"/> Disminuido <input type="checkbox"/> No responde Eléctrico (E) _____ D. Control (N° _____) _____ Vitalómetro empleado: _____	RESPUESTA; (dolor) F <input type="checkbox"/> Moderada <input type="checkbox"/> Severa C <input type="checkbox"/> Moderada <input type="checkbox"/> Severa E <input type="checkbox"/> Moderada <input type="checkbox"/> Severa
---	--

Raíz <input type="checkbox"/> Ápice normal <input type="checkbox"/> Curvatura apical <input type="checkbox"/> Dislaceración <input type="checkbox"/> Doble curva <input type="checkbox"/> Límite duplicado <input type="checkbox"/> Rizálisis externa <input type="checkbox"/> Hiper cementosis <input type="checkbox"/> Fractura <input type="checkbox"/> Apicectomizada Área Radiolúcida <input type="checkbox"/> Límites <input type="checkbox"/> Difusos <input type="checkbox"/> Corticalizados <input type="checkbox"/> Netos	Cámara Pulpar <input type="checkbox"/> Nada Especial <input type="checkbox"/> Amplia <input type="checkbox"/> Parcialm. Calcif. <input type="checkbox"/> Totalm. Calcif. <input type="checkbox"/> Obturada <input type="checkbox"/> Reabsorción Int. <input type="checkbox"/> No Observ. a) Normal b) Amplio c) Estrecho d) Curvo e) Bifurcado f) Reabsorción interna g) No visible h) Obturado Línea Periodontal - Raíz Apical <input type="checkbox"/> Normal _____ <input type="checkbox"/> Engrosada _____ <input type="checkbox"/> Ausente _____ Área Periapical <input type="checkbox"/> Aspecto normal <input type="checkbox"/> Osteoesclerosis <input type="checkbox"/> Radiolucidez Tamaño Área Radiolúcida Vertical _____ m.m Horizontal _____ m.m
---	--

