



**UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE ODONTOLÓGÍA  
DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA Y ODONTOLÓGÍA  
CONSERVADORA**

**“NIVELES DE MIELOPEROXIDASA (MPO) EN FLUIDO GINGIVAL  
CREVICULAR (FGC) DE DIENTES CON PERIODONTITIS APICAL  
ASINTOMÁTICA (PAa)”**

**Valentina Andrea Aranda González**

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

**TUTOR PRINCIPAL  
Prof. Dra. Andrea Dezerega Piwonka.**

**TUTORES ASOCIADOS  
Prof. Dra. Marcela Hernández Ríos.  
Dra. Silvana Maggiolo Villalobos.**

**TUTOR EXPERTO  
Prof. Dr. Mauricio Garrido Flores.**

**Financiamiento: DI 07/02-2, FONDECYT 1090461.**

**Santiago - Chile  
2011**

## AGRADECIMIENTOS

Especialmente quiero agradecer a mi familia por su amor, comprensión y apoyo. Sin ellos el lograr este objetivo hubiese sido imposible, ya que me prestaron ayuda y soporte en los momentos más difíciles compartiendo conmigo siempre una palabra de apoyo, un abrazo o tan sólo escucharme cuando lo necesité.

A Gonzalo que con el amor que me brinda día a día me ha apoyado, comprendido y motivado.

A mis amigos de la universidad: Gustavo, Marcela, Andrés, Erwin, Laura, Javiera, Gonzalo, Fernanda, Nadia, Magdalena, Jacqueline; los cuales me llenan de alegría en todo momento, que han sido mi familia durante todo este periodo universitario, mis compañeros de estudio, de fiestas y mis pañuelos de lágrimas.

A mis tutores de tesis Andrea Dezerega, Silvana Maggiolo, Mauricio Garrido y Marcela Hernández agradezco su guía y apoyo en este proceso y principalmente el haberme integrado en un proyecto tan interesante y transmitirme sus conocimientos en el área. A Leslie Hernandez y Jocelyn García pertenecientes al equipo del Laboratorio de Biología Periodontal, por su disposición a responder a mis consultas y por la ayuda en el trabajo experimental de esta investigación.

A los profesores y funcionarios que fueron parte de mi formación profesional.

Faltan palabras para agradecerles todo lo brindado a quienes han sido parte trascendental en mi periodo de formación, sólo quiero manifestar que han dejado una huella indeleble en mi corazón y los llevaré siempre en el recuerdo atesorando cada momento que compartimos.

## RESUMEN

### “Niveles de Mieloperoxidasa (MPO) en Fluido Gingival Crevicular (FGC) de Dientes con Periodontitis Apical Asintomática (PAa)”

**Introducción:** La mieloperoxidasa (MPO), es una peroxidasa con rol defensivo contra los agentes infecciosos y paralelamente provoca daño a los tejidos adyacentes. A la fecha, su presencia no se ha asociado a la periodontitis apical asintomática (PAa).

**Objetivo:** Comparar los niveles de MPO presente en fluido gingival crevicular (FGC) de dientes con PAa antes del tratamiento endodóntico con dientes con PAa después del tratamiento endodóntico y dientes sin PAa.

**Materiales y Métodos:** Se obtuvieron muestras de FGC de dientes con PAa antes del tratamiento endodóntico (n=13) y después de siete días finalizado éste (n=12) y de dientes sin PAa (n=13). Las muestras fueron eluidas y se les realizó cuantificación de proteínas totales. Para determinar los niveles de MPO se realizó test de ELISA y para el análisis estadístico el programa GraphPAD prism. 5.0.

**Resultados:** La MPO se expresa en FGC en dientes sanos y con PAa. Si bien se observó que los niveles de MPO 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 MPO en el FGC no reflejaron el estado de salud periapical, esto podría estar influenciado por estados inflamatorios gingivales subclínicos.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

|  |     |
|--|-----|
| AGRADECIMIENTOS.....   | I   |
| RESUMEN.....   | II  |
| ÍNDICE DE CONTENIDO .....  | III |
| ÍNDICE DE TABLAS .....   | V   |
| ÍNDICE DE GRÁFICOS .....   | VI  |
| LISTA DE ABREVIACIONES.....  | VII |
| <br>   |     |
| 1 INTRODUCCIÓN.....  | 1   |
| 2 MARCO TEÓRICO .....  | 3   |
| 2.1. Generalidades de las Patologías Periapicales.....                                       | 3   |
| 2.2. Periodontitis Apical Asintomática .....   | 4   |
| 2.3. Respuesta del hospedero en Periodontitis Apical Asintomática. ....                      | 7   |
| 2.4. Polimorfonucleares Neutrófilos y Periodontitis Apical Asintomática. ....                | 8   |
| 2.5. Mieloperoxidasa y Periodontitis Apical Asintomática. ....                               | 11  |
| 2.6. Fluido Gingival Crevicular y su relación con Periodontitis Apical<br>Asintomática. .... | 13  |
| 3 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS .....  | 16  |
| 3.1. Hipótesis:.....   | 16  |
| 3.2. Objetivo general:.....  | 16  |
| 3.3. Objetivos específicos:.....   | 16  |
| 4 MATERIALES Y MÉTODOS.....  | 18  |
| 4.1. Tipo de estudio: .....  | 18  |
| 4.2. Selección de la muestra:.....   | 18  |
| 4.3. Factores a considerar: .....  | 19  |
| 4.4. Obtención de las muestras: .....  | 19  |
| 4.5. Procesamiento de las muestras:.....   | 20  |
| 4.6. Análisis de los datos: .....  | 22  |

|     |   |    |
|-----|---|----|
| 5   | RESULTADOS.....   | 24 |
| 5.1 | Características generales de los sujetos de estudio.....          | 24 |
| 5.2 | Niveles de MPO y CPT de las muestras.....                         | 25 |
| 5.3 | Asociación entre los niveles de MPO y factores a considerar. .... | 28 |
| 6   | DISCUSIÓN.....  | 31 |
| 7   | CONCLUSIONES.....   | 36 |
| 8   | REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....                                   | 38 |
| 9   | ANEXOS.....   | 44 |
| 9.1 | Anexo N°1: Consentimiento informado.....                          | 44 |
| 9.2 | Anexo N°2: Ficha Clínica.....                                     | 45 |

## 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: Niveles de MPO y concentración de proteínas totales en FGC de dientes con PAa antes del tratamiento v/s dientes controles sin PAa.....                            | 25 |
| Tabla 3: Niveles de MPO y CPT de dientes con PAa antes v/s dientes con PAa después del tratamiento endodóntico. ....   | 28 |
| Tabla 4: Niveles de MPO en dientes con PAa v/s tamaño de la lesión antes del tratamiento. ....   | 29 |
| Tabla 5: Niveles de MPO en el FGC antes del tratamiento endodóntico en muestras de pacientes con la condición de fumador v/s pacientes con la condición de no fumador..... | 30 |

**ÍNDICE DE GRÁFICOS**

|   |    |
|---|----|
| Gráfico 1: Niveles de MPO (ng/ml) en dientes sin PAa, con PAa antes del tratamiento y después del tratamiento. .... | 26 |
| Gráfico 2: Niveles de MPO (ng/μg) en dientes sin PAa, con PAa antes del tratamiento y después del tratamiento. .... | 26 |
| Gráfico 3: CPT (μg/ml) en dientes sin PAa, con PAa antes del tratamiento y después del tratamiento. ....            | 27 |

## LISTA DE ABREVIACIONES

| <b>Abreviación</b>            | <b>Significado</b>                       | <b>Página</b> |
|-------------------------------|--|---------------|
| AAE                           | Asociación Americana de Endodoncia ..... | 3             |
| PAs                           | Periodontitis Apical Sintomática .....   | 3             |
| PAa                           | Periodontitis Apical Asintomática .....  | 3             |
| PA                            | Periodontitis Apical .....               | 4             |
| PMN                           | Polimorfonuclear Neutrófilo .....        | 5             |
| IL                            | Interleuquina .....                      | 10            |
| C5a                           | Factor C5a del complemento .....         | 10            |
| LTB4                          | Linfocito T B4 .....                     | 10            |
| LPS                           | Lipopolisacáridos .....                  | 11            |
| IFN-g                         | Interferón gamma .....                   | 11            |
| FGC                           | Fluido Gingival Cevicular .....          | 11            |
| MPO                           | Mieloperoxidasa .....                    | 11            |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | Peróxido de hidrógeno .....              | 12            |
| HOCL                          | Ácido hipocloroso .....                  | 12            |
| MMP                           | Metaloproteinasa .....                   | 12            |
| CPT                           | Concentración de Proteínas Totales ..... | 16            |
| BSA                           | Albúmina Sérica de Bovino .....          | 21            |
| ELISA                         | Enzyme-linked immunosorbent assay .....  | 21            |



## 1 INTRODUCCIÓN

La periodontitis apical asintomática (PAa) es una patología infecciosa caracterizada por la destrucción ósea perirradicular asociada a un proceso inflamatorio crónico y por ende a la producción de mediadores inflamatorios. Clínicamente no produce síntomas y radiográficamente puede observarse un área radiolúcida apical, la cual puede corresponder a un quiste radicular inflamatorio o granuloma periapical, cuyo diagnóstico diferencial es histopatológico. [1, 2, 3]

Histológicamente, el granuloma periapical se caracteriza por la presencia de tejido de granulación e infiltrado inflamatorio crónico, linfocitos, células plasmáticas y macrófagos. [4] El quiste radicular inflamatorio se caracteriza por la presencia de una cavidad patológica cerrada parcial o totalmente delimitada por epitelio plano pluriestratificado no queratinizado. [5]

La patogénesis de esta enfermedad es bastante compleja e implica un balance dinámico de la respuesta inmune del hospedero frente a la estimulación antigénica producto de la microbiota localizada en los canales radiculares, donde la respuesta inmune no es capaz de eliminar por completo a los microorganismos, pero sí de producir una barrera circunscrita que previene la diseminación de la infección a otras partes del cuerpo. [6]

La respuesta del hospedero consiste en varias clases de células, entre ellas los polimorfonucleares neutrófilos (PMN). Los PMN constituyen la primera línea de defensa inespecífica contra infecciones bacterianas y fúngicas, [7, 8] éstos son los primeros en llegar al tejido afectado, seguidos por los macrófagos y linfocitos. [7]

En los gránulos primarios de los PMN, se encuentra la mieloperoxidasa, [9] (MPO, peróxido de hidrógeno oxirreductasa) única peroxidasa que cataliza la

conversión del peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y cloruro ( $Cl^-$ ) a ácido hipocloroso ( $HClO$ ) (potente microbicida). Este es un poderoso agente oxidante que contribuye al mecanismo de defensa contra los agentes infecciosos cuando es liberada en el fagosoma. [7, 8] La MPO y  $H_2O_2$ , también pueden ser liberados al exterior de la célula y al reaccionar con cloruro y generar ácido hipocloroso que puede provocar daño a los tejidos adyacentes y contribuir con la patogénesis de la enfermedad. [10]

Los métodos de estudios de PAa existentes, son la biopsia periapical [11] y el análisis de exudado periapical, [12] los cuales son invasivos y no permiten el monitoreo de la evaluación de la lesión, tras finalizar el tratamiento. [13] Sin embargo la caracterización del fluido gingival crevicular (FGC) ha permitido evaluar molecularmente las patologías inflamatorias que comprometen el tejido de soporte periodontal y el hueso alveolar. [13, 14] Este FGC es un extravasado plasmático que puede ser colectado en el surco crevicular. [14, 15] Se ha visto que refleja cambios en su composición de acuerdo al estado de salud/enfermedad de los tejidos periapicales y periodontales. [16, 17] Su recolección es rápida y no invasiva; pudiendo llegar a ser un método efectivo en la realización de estudios longitudinales de PAa en humanos, ya que es accesible antes, durante y después del tratamiento endodóntico, permitiendo asociar las variaciones de los mediadores con los procesos de inflamación, resolución o cicatrización de los tejidos periapicales; de lo cual hasta la fecha, no existen estudios. [13, 14]

Por lo expuesto anteriormente la MPO como marcador de defensa contra los agentes infecciosos, podría liberarse en el FGC en PAa y reflejar los estados de salud y enfermedad de los tejidos periapicales, permitiendo así el monitoreo post tratamiento endodóntico.

## 2 MARCO TEÓRICO

### 2.1. Generalidades de las Patologías Periapicales

El tejido perirradicular normal, consiste en un hueso alveolar intacto alrededor de la raíz, con el espacio del ligamento periodontal uniforme y una respuesta normal a las pruebas de sensibilidad a la percusión. [1] Como consecuencia de un proceso infeccioso proveniente del canal radicular se pierde esta normalidad, produciéndose un proceso inflamatorio, dando origen a las patologías periapicales.

De acuerdo al consenso de la Asociación Americana de Endodoncia (AAE) existen cinco diagnósticos de patologías periapicales, las cuales son el absceso apical agudo, el absceso apical crónico, la osteítis condensante, la periodontitis apical sintomática (PAs) y la periodontitis apical asintomática (PAa).

El absceso apical agudo es una reacción inflamatoria frente a la infección y necrosis pulpar, caracterizada por un comienzo rápido, dolor espontáneo, sensibilidad a la presión, formación de pus e inflamación de los tejidos asociados. [1]

El absceso apical crónico, al igual que el absceso apical agudo, es una reacción inflamatoria frente a la infección y necrosis pulpar, pero se diferencia en que se caracteriza por un comienzo gradual, dolor leve o ausencia de éste y presencia de fístula. [1]

La osteítis condensante es una lesión radiopaca difusa presente en el ápice del diente, que representa una reacción ósea localizada frente a un estímulo inflamatorio. [1]

La Periodontitis Apical (PA) corresponde a un grupo de enfermedades inflamatorias, en respuesta a la infección pulpar, cuando esta patología se produce se pierden las características normales de los tejidos perirradiculares del diente y se produce la destrucción del ligamento periodontal, del cemento radicular y del hueso alveolar. Clínicamente el diente comprometido presenta 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, 4, 18]

Dentro de las PA está la PAa, ésta se caracteriza por la ausencia de dolor y presenta un área radiolúcida periapical, que puede corresponder a un quiste radicular inflamatorio o a un granuloma periapical cuyo diagnóstico diferencial es histopatológico. [1, 2]

También se encuentra la PAs, la que no necesariamente tiene origen infeccioso y se caracteriza por síntomas como dolor a la masticación, percusión y/o palpación, de intensidad leve a moderada y de tipo localizado pudiendo o no estar asociada a un área radiolúcida. Es la única patología periapical en que no habría necesariamente un componente de microorganismos, ya que la causa es traumática, pero si ésta persiste es un terreno propicio para ser colonizado. [1]

## **2.2. Periodontitis Apical Asintomática**

La PAa corresponde a un proceso inflamatorio de origen pulpar que afecta los tejidos perirradiculares del diente. Se caracteriza por no producir síntomas clínicos, dando resultados negativos a los test de sensibilidad pulpar y por presentar un área radiolúcida apical que puede corresponder a un quiste radicular inflamatorio o a un granuloma periapical, cuyo diagnóstico diferencial es

histopatológico. [1, 2] El desarrollo de una u otra lesión no tiene relación con el agente causal. Estos dos tipos de lesiones se diferencian en que los granulomas periapicales corresponden a una densa acumulación de polimorfonucleares neutrófilos (PMN), rodeados por tejido granulomatoso que contiene linfocitos, macrófagos y células plasmáticas. [4] En cambio, el quiste radicular inflamatorio es una lesión que se caracteriza por la presencia de una cavidad patológica cerrada, parcial o totalmente delimitada por epitelio plano pluriestratificado no queratinizado. [5]

La PAa se inicia después de la infección y necrosis pulpar, cuando las bacterias han invadido y colonizado el sistema de canales radiculares, como consecuencia de caries dental, traumatismos o procedimientos iatrogénicos. [4, 18, 19]

En las últimas etapas del proceso infeccioso, es posible observar organizaciones bacterianas semejantes a biofilms adheridas a las paredes del canal. Por ello, en la actualidad la PAa es considerada como una enfermedad inducida por biofilms bacterianos. [18]

Inicialmente, la pulpa dental es infectada por la microbiota oral autógena, lo que puede traer como consecuencia su necrosis. [19] Las bacterias involucradas en la patogénesis de la PAa pueden haber participado en las primeras etapas de la inflamación y necrosis pulpar o pueden haber logrado entrar en el espacio del canal en cualquier momento después de la necrosis pulpar por la circulación sanguínea. [4]

El ambiente endodóntico provee un hábitat para el establecimiento de una flora mixta, predominantemente anaerobios estrictos. [6, 18, 19] La microflora del canal radicular de los dientes con coronas clínicamente intactas, pero con la pulpa

necrótica y periápices enfermos, está dominada por anaerobios estrictos (>90%), por lo general pertenecientes a los géneros *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Eubacterium* y *Peptoestreptococci*. En contraste, en los dientes afectados periapicalmente con conductos radiculares expuestos a la cavidad oral este porcentaje disminuye significativamente (<70%). [6]

Las bacterias al colonizar el canal radicular necrótico, entran en contacto con el ligamento periodontal a través de forámenes apicales o laterales, e inducen una reacción inmunoinflamatoria que comprende una hiperemia, congestión vascular, edema, extravasación de neutrófilos y una reabsorción ósea inicial no observable radiográficamente, lo que recibe el nombre de PAs. [4, 18]

En respuesta, el tejido conectivo periapical del hospedero despliega una serie de mecanismos de defensa, que consisten en la llegada y activación de diversos tipos celulares. Como consecuencia, se destruye el tejido periapical, y el resultado es la formación de una lesión periapical. [6]

La PAa se establece cuando se genera un balance dinámico entre la respuesta del hospedero y la acción de los microorganismos y sus toxinas, en el cual la respuesta inmune no es capaz de eliminar por completo a los microorganismos, pero sí de producir una barrera circunscrita que previene la diseminación de la infección a otras partes del cuerpo. [6]

La PAa no tiene auto-sanación, por lo que el objetivo del tratamiento de la enfermedad consistirá en eliminar o reducir sustancialmente la población microbiana en el sistema de conductos radiculares y prevenir la reinfección por un sellado hermético del conducto radicular, [6, 20] estimular la curación de los tejidos ápico-periapicales y recuperar el sistema de inserción. [21]

La reparación de los tejidos periapicales seguida a la terapia endodóntica puede estar influenciada por factores locales presentes antes y durante el tratamiento tales como la infección, la hemorragia, la compresión de los tejidos y la presencia de cuerpos extraños y factores sistémicos como la edad, nutrición, enfermedades crónicas, trastornos hormonales, osteoporosis, vitaminas, estado circulatorio, estrés y deshidratación. [22]

### **2.3. Respuesta del hospedero en Periodontitis Apical Asintomática.**

La naturaleza polimicrobiana de la flora que infecta el canal radicular tiene características biológicas y patogénicas, tales como: antigenicidad, actividad mitogénica, quimiotactismo y activación de las células del hospedero [6]. Al invadir el canal radicular avanza en profundidad, y sus productos pueden salir hacia el periápice. Como consecuencia de lo anterior, el hospedero desarrolla una respuesta defensiva que consiste en varias clases de células, entre ellas PMN, monocitos, linfocitos T, linfocitos B, macrófagos, células plasmáticas, mastocitos y eosinófilos, [5, 23] además produce mensajeros intercelulares, anticuerpos, y moléculas efectoras como citoquinas y enzimas. [6]

En un granuloma periapical un 50% de las células corresponden a infiltrado inflamatorio y un 50% a células no inflamatorias del tejido conectivo, como fibroblastos, el endotelio vascular, epitelio en proliferación, los osteoblastos y los osteoclastos. [19]

El Sistema Inmune es un complejo entramado de células, diferentes mediadores y receptores encargados de evitar el ingreso de agentes extraños al organismo o, en su defecto, de evitar el daño que pueden producir estos antígenos en caso de traspasar las primeras barreras e introducirse en el organismo. [15]

Desde el punto de vista funcional, la respuesta inmune se puede dividir en inmunidad innata o inespecífica e inmunidad adquirida o específica. [24] Ambos tipos de inmunidad forman un sólo sistema destinado a mantener la integridad funcional y estructural de los individuos; para tal defensa existe una cooperación funcional, coordinada y cooperativa de numerosas células y moléculas. [25]

A diferencia de la inmunidad innata, la inmunidad adaptativa es específica y deja memoria inmunológica, lo que permite al organismo, ante un segundo contacto mínimo con el agente infeccioso, presentar una respuesta más rápida e intensa. [24]

El proceso de defensa avanza con una superposición de acontecimientos: elaboración de mediadores químicos, respuesta vascular, respuesta aguda del sistema inmune innato, formación del tejido de granulación, presentación del antígeno al sistema inmune adaptativo, reabsorción ósea para delimitar la lesión, creando el espacio para la llegada de células defensivas. [21]

La complejidad de la respuesta inflamatoria-inmune, modula en forma diversa las características clínicas y evolutivas de la lesión apical en los distintos individuos. No hay por lo tanto una respuesta determinada y única. [21]

#### **2.4. Polimorfonucleares Neutrófilos y Periodontitis Apical Asintomática.**

Los neutrófilos o leucocitos PMN son células de vida corta, componentes esenciales del sistema inmune innato, constituyendo la primera línea de defensa inespecífica contra infecciones bacterianas y fúngicas (además de las barreras naturales), seguidos por los macrófagos y linfocitos. [7, 8]

Se caracterizan morfológicamente por un núcleo segmentado y un



citoplasma rico en gránulos. Poseen funciones secretoras que las convierten en células efectoras principales del proceso inflamatorio y participan en la regulación del sistema inmune. [26]

PMN derivan de la célula pluripotencial de la médula ósea, por medio del proceso denominado “fagocitopoyesis”. [26]

Durante el proceso de maduración los PMN adquieren la capacidad de adherirse, deformarse, moverse, fagocitar, eliminar microorganismos y secretar mediadores de la inflamación. Su maduración se caracteriza por la aparición en el citoplasma de gránulos de diferentes tipos y tamaños: en la fase de promielocito se forman los gránulos azurófilos o primarios y al entrar en la fase de mielocito se forman los gránulos secundarios. En esta etapa hay una gran actividad de síntesis proteica, gracias a la cual se forman una serie de enzimas que son empacadas en forma de gránulos especiales llamados lisosomas. Para que estas enzimas se viertan a la vacuola fagocitaria, proceso llamado degranulación interna, se requiere la interacción entre microfibrillas y microtúbulos del citoplasma. [26]

Los gránulos primarios contienen una proteína inductora de permeabilidad en la pared bacteriana con la cual se ataca a las bacterias Gram negativas, mieloperoxidasa, proteasas neutras (elastasa, catepsinas G y D), hidrolasas ácidas, beta glucuronidasa, fosfatasa ácida, alfa monocidasa (N-acetil-glucosaminidasa), proteínas catiónicas y las defensinas. [26]

El desplazamiento del PMN desde los capilares sanguíneos hasta la lesión consta de varias etapas las cuales corresponden a la marginación, la adherencia al endotelio, la migración transendotelial para llegar al espacio extravascular, una vez aquí, es necesario que la célula sea atraída hacia el foco de infección, fenómeno denominado quimiotáxis. Este fenómeno es llevado a cabo por medio

de diferentes moléculas como: interleuquina (IL-8), factor C5a del complemento (C5a), linfocito T B4 (LTB4), péptidos de N-formil y factores de activación plaquetaria. Al llegar los PMN al lugar de la lesión, éstos reconocen moléculas específicas en la superficie del invasor para, posteriormente, invaginarlo y destruirlo, proceso llamado fagocitosis. Este proceso es facilitado por medio de proteínas opsónicas, como inmunoglobulinas o fragmento C3b del complemento. [7]

La fagocitosis se produce a través de dos mecanismos: el mecanismo óxido-independiente y el mecanismo óxido-dependiente. [7, 27] De este último todos estos compuestos dependientes del O<sub>2</sub> tienen gran potencial tóxico.

Una vez que el PMN ha cumplido su función, muere por apoptosis y es eliminado por macrófagos para evitar la posible liberación de su contenido citotóxico al medio extracelular, hecho que podría ocurrir en caso de muerte por necrosis. [7]

Los PMN participan en la fase efectora de la respuesta inmune jugando un importante papel en la inflamación y en la patogénesis de la Periodontitis, por lo que posiblemente también en la PAa. [7]

Deficiencias en número y/o función de PMN pueden provocar el desarrollo de enfermedades inflamatorias por consecuencia de una respuesta inmune disminuida. [7]

En la inflamación aguda, el número de PMN en el tejido puede ser extremadamente alto por la gran llegada desde el torrente sanguíneo y por la disminución de su apoptosis debido a la acción de mediadores inflamatorios locales. Así, la capacidad de daño tisular, por medio de la liberación de radicales

de oxígeno y enzimas proteolíticas, será muy alta. Por ejemplo la elastasa puede hidrolizar diferentes proteínas de la matriz extracelular como elastina, fibronectina y colágeno tipo III y IV. La colagenasa también es capaz de degradar el colágeno tisular. [6, 7]

La disminución de la apoptosis se ha asociado con la aparición de diferentes enfermedades inflamatorias, tanto agudas como crónicas y parece estar mediado en gran medida por la excesiva producción de factor estimulador de colonias de granulocitos y del factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos. Otros estudios han demostrado la influencia de lipopolisacáridos (LPS), C5a, LTB4, interferón gama (IFN-g), IL-1b, IL-2, IL-6 e IL-15, en el retraso de la apoptosis. [7]

El tabaco es otro factor que influye en la respuesta de los PMN. Se ha observado un aumento en la apoptosis de los PMN obtenidos del fluido gingival crevicular (FGC) de pacientes fumadores con Periodontitis Crónica. Por tanto, el tabaco se consideraría causa de una deficiente respuesta del huésped. [7]

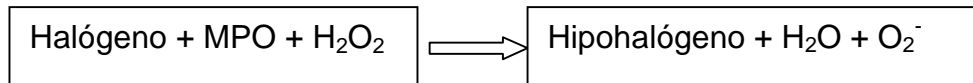
## **2.5. Mieloperoxidasa y Periodontitis Apical Asintomática.**

La mieloperoxidasa (MPO, peróxido de hidrógeno oxirreductasa, E C1.11.1.7.) es una enzima ampliamente distribuida en el organismo y sus fuentes fundamentales las constituyen los leucocitos (PMN y monocitos). En los PMN se encuentra a nivel lisosomal, en los gránulos primarios o azurófilos. [9] Ha sido aislada a partir de diferentes fluidos biológicos (saliva, líquido sinovial y semen, entre otros) y también de diferentes tejidos (corazón, riñón, piel, hígado y placenta). [8]

La MPO es la proteína más abundante en los PMN y es la única peroxidasa

que cataliza la conversión del peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) y halógenos como el cloro a hipo-halógeno como el ácido hipocloroso ( $\text{HOCL}$ , potente microbicida). **(Esquema 1)** Este es un poderoso agente oxidante que contribuye al mecanismo de defensa contra los agentes infecciosos cuando es liberado en el fagosoma. [7, 8] La MPO y  $\text{H}_2\text{O}_2$ , también pueden ser liberados al exterior de la célula y al reaccionar con cloruro y generar ácido hipocloroso puede provocar daño a los tejidos adyacentes y contribuir con la patogénesis de la enfermedad. [10]

**Esquema 1: Reacción mediada por mieloperoxidasa.**



En conjunto los iones de hipoclorito, además de ser tóxicos para las bacterias, pueden ser importantes en la activación de metaloproteinasas (MMP) latentes como la MMP-8 y MMP-9. [28]

La MPO además puede originar de manera directa peróxido de hidrógeno y controla en parte, la reacción de descarboxilación de aminoácidos y degrada muchos de los aminoácidos de la membrana bacteriana. [27]

Diversas patologías se han asociado a un aumento de los niveles de MPO, entre las cuales se pueden mencionar: hipercolesterolemia familiar, síndrome coronario agudo, aterosclerosis, cáncer de hígado, enfermedad de Alzheimer, leucemia mieloide aguda, enfermedades neurológicas degenerativas, enfermedades inflamatorias generalizadas, entre otras. También se ha sugerido que la lesión pulmonar y daño renal glomerular podrían tener relación causal con la MPO. [10, 29, 30, 31, 32, 33, 34]

La deficiencia de mieloperoxidasa, es una inmunodeficiencia de

mecanismos no específico, correspondiendo al defecto más frecuente de los granulocitos. Ocurre con una frecuencia de 1 en 1.400. En esta entidad la digestión intracelular de los gérmenes fagocitados está muy retardada, y se hace más aparente con microorganismos como el estafilococo y la cándida. [35]

En patologías orales, como la enfermedad periodontal, se ha observado niveles más elevados de MPO en FGC en sitios con periodontitis comparado con sitios sin enfermedad. [36] También se ha estudiado en el fluido surcular peri-implantario, observándose en los sitios con inflamación una mayor cantidad de MPO. [37, 38]

En PAa la MPO podría jugar un rol defensivo, contribuyendo al mecanismo de defensa contra los agentes infecciosos, o contribuir con la patogénesis de la enfermedad al provocar daño a los tejidos adyacentes, pero a la fecha su presencia no se ha asociado a esta patología. [7, 8, 10]

## **2.6.Fluido Gingival Crevicular y su relación con Periodontitis Apical Asintomática.**

Los métodos de estudios de PAa existentes, son la biopsia periapical [11] y el análisis de exudado periapical. [12] La biopsia periapical y su estudio anatomopatológico, sólo pueden realizarse posterior a la exodoncia de la pieza o mediante cirugía periapical. En el análisis de exudado periapical las muestras son tomadas a través del canal radicular y sólo pueden obtenerse al inicio del tratamiento de endodoncia, ya que tiene como requisito el no usar irrigantes previo a la toma de muestras; impidiendo, de esta manera, cumplir con el objetivo biológico de los procedimientos de limpieza y remodelado de la terapia endodóntica. [13]

Los métodos de estudio referenciados precedentemente, tienen como gran desventaja el ser invasivos y no permitir el monitoreo de la evaluación de la lesión, tras finalizar el tratamiento. [13]

La caracterización FGC ha permitido evaluar molecularmente las patologías inflamatorias que comprometen el tejido de soporte periodontal y el hueso alveolar; por lo que, en la actualidad, es usada ampliamente para el estudio de marcadores de enfermedades periodontales, permitiendo evaluar la respuesta del huésped. [13, 14]

El FGC es un extravasado plasmático, en condiciones fisiológicas, pero como resultado de la inflamación y el aumento de la permeabilidad vascular y epitelial, se forma un exudado. El FGC se puede colectar en el surco gingival o saco periodontal y está constituido por moléculas derivadas del suero, células hospederas del periodonto, leucocitos y productos bacterianos. [14, 15]

Se ha visto que el FGC refleja cambios en su composición de acuerdo al estado de salud/enfermedad de los tejidos periapicales. [17, 39] Su recolección es rápida y no invasiva; pudiendo llegar a ser un método efectivo en la realización de estudios longitudinales de PAa en humanos, ya que es accesible antes, durante y después del tratamiento endodóntico, permitiendo asociar las variaciones de los mediadores con los procesos de inflamación, resolución o cicatrización de los tejidos periapicales; de lo cual hasta la fecha, no existen estudios. [13, 14]

Estudios previos han asociado los niveles de MPO en FGC con la severidad de periodontitis, encontrando que los sitios de periodontitis mostraban significativamente, mayor cantidad de MPO que los sitios sanos [40] y en los pacientes con periodontitis crónica progresiva, los niveles de MPO del FGC se veían reducidos, en respuesta al tratamiento. [16]

El propósito futuro del presente trabajo de investigación es lograr estudiar la PAa a través del FGC permitiendo obtener mayor conocimiento de la patogenia de la enfermedad, teniendo la posibilidad de aplicar este método de estudio basado en el FGC en la clínica, permitiendo la evaluación de los tratamientos en el tiempo e impidiendo tratamientos endodónticos innecesarios, ya que los resultados de éstos son difíciles de predecir en base a criterios clínicos y radiográficos, considerando que se requiere de hasta 4 años de seguimiento aproximadamente para evaluar la reparación de los tejidos periapicales después de la terapia endodóntica, sin embargo no se puede esperar 4 años para restaurar el diente. [13, 15]

### 3 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

#### 3.1. Hipótesis:

Los niveles de mieloperoxidasa, presente en el fluido gingival crevicular, aumentan en dientes con periodontitis apical asintomática respecto de dientes sin periodontitis apical asintomática y disminuyen como efecto del tratamiento de endodoncia.

#### 3.2. Objetivo general:

Comparar los niveles de MPO en el FGC de dientes con PAa antes del tratamiento endodóntico con dientes controles sin PAa y con dientes con PAa después del tratamiento endodóntico.

#### 3.3. Objetivos específicos:

1. Determinar la concentración de proteínas totales (CPT) presentes en FGC de dientes con PAa antes y después del tratamiento endodóntico y en dientes controles sin PAa.
2. Determinar los niveles de MPO presentes en FGC de dientes con PAa antes y después del tratamiento endodóntico y en dientes controles sin PAa.
3. Comparar la CPT presentes en FGC de dientes con PAa antes y después del tratamiento endodóntico y en dientes sin PAa.



4. Comparar los niveles de MPO en el FGC de dientes con PAa antes del tratamiento y dientes controles sin PAa.
5. Comparar los niveles de MPO en FGC de dientes con PAa antes y después del tratamiento endodóntico.
6. Valorar el uso del FGC como medidor de los estados de salud y enfermedad del tejido periodontal apical.
7. Analizar el uso del FGC como método de estudio de PAa.

## 4 MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1. Tipo de estudio:

El trabajo realizado corresponde a un estudio de caso y control.

### 4.2. Selección de la muestra:

La realización del presente estudio fue financiada por el proyecto FONDECYT 1090461, dicho proyecto contó con la aprobación del Comité de Ética de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile.

Se seleccionaron 12 pacientes que cumplían con los criterios de inclusión, teniendo entre 35-64 años de edad con diagnóstico de PAa en dientes unirradiculares, con indicación de endodoncia, libres de enfermedad periodontal y con al menos un diente sano. Los pacientes fueron atendidos en la Clínica de Endodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, previa firma de consentimiento informado (**Anexo N°1**), el cual fue explicado por los investigadores y se les entregó una copia a los participantes para su lectura.

De ellos se obtuvieron muestras FGC de dientes con PAa y de dientes contralaterales sin PAa.

Para realizar el diagnóstico se registró en una ficha clínica (**Anexo N°2**) la anamnesis, el examen clínico y radiográfico. Se diagnosticó con PAa aquellos dientes que radiográficamente presentaron un área radiolúcida apical y que mostraron resultados negativos frente a los test de sensibilidad pulpar (utilizando para el frío Endolce® Coltene Whaledent y para el calor traspoliisopreno) y que

frente a la percusión manifestaron una respuesta normal o levemente aumentada. [2]

Se excluyeron del presente estudio a embarazadas, pacientes que presentaban enfermedades autoinmunes y/o periodontales y aquellos pacientes que habían recibido medicación de antibióticos, corticoides o antiinflamatorios en los últimos tres meses; también se excluyeron dientes ya trepanados o con endodoncia previa. [16, 41]

#### **4.3. Factores a considerar:**

- Tabaquismo: Variable dicotómica, la respuesta sí correspondió al paciente con la condición de fumador y la respuesta no a los pacientes sin la condición de fumador.
- Tamaño Radiográfico de la lesión periapical antes del tratamiento endodóntico: Variable de tipo cuantitativa continua, medida en  $\text{mm}^2$  en radiografía periapical. El área se obtuvo mediante el cálculo del diámetro promedio en  $\text{mm}^2$  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  $r^2$ ).

#### **4.4. Obtención de las muestras:**

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, los que fueron 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 almacenaron a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis. [39, 42, 43]

De los 12 pacientes seleccionados se obtuvieron 13 muestras de FGC procedente del diente con PAa antes del tratamiento endodóntico y del diente control sin PAa, que correspondió al diente contralateral cuando fue posible o a un diente similar de otro cuadrante. Fueron 13 muestras en 12 pacientes, debido a que uno de los pacientes seleccionados tenía dos dientes a tratar endodónticamente. De los pacientes seleccionados 11 fueron atendidos en la Clínica de Endodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile. A uno de los pacientes no se le realizó el tratamiento de endodoncia, por presentar el canal radicular calcificado. Obteniendo 12 muestras de FGC procedentes de dientes con PAa después de una semana de realizado el tratamiento.

#### **4.5. Procesamiento de las muestras:**

Las muestras de FGC fueron eluídas utilizando amortiguador de elución Tris- HCl pH 7,5, 0,5 M, NaCl 2M,  $\text{CaCl}_2$  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  $\mu\text{l}$  por tira, es decir 240 $\mu\text{l}$  por tubo; posteriormente se agitaron mediante vortex por 30 segundos y se incubaron a  $4^{\circ}\text{C}$  durante 30 minutos. Luego, los tubos se centrifugaron a 12.500 rpm, 5 minutos a  $4^{\circ}\text{C}$ , se recuperó el sobrenadante y se repitió el procedimiento, rescatando un volumen final de 480  $\mu\text{l}$  por tubo. Los eluídos fueron conservados a  $-80^{\circ}\text{C}$  por una semana hasta la realización del

ensayo bioquímico correspondiente.

A cada muestra se le realizó cuantificación de proteínas totales (mg/ml) mediante el método del ácido bicinónico (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.

#### **4.5.1. Determinación de niveles de MPO:**

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

El Kit contenía una placa de ensayo conformada con 96 pocillos, a cada uno de ellos se encontraba unido el anticuerpo anti-human específico para MPO. Los estándares y las muestras de eluido de FGC se añadieron a los pocillos. La MPO presente en las muestras se unió al anticuerpo de captura inmovilizado.

Luego, se agregó un anticuerpo de detección anti-*human* MPO conjugado con biotina a los pocillos, seguido por estreptavidina conjugada con peroxidasa

(HRP), produciendo un sándwich anticuerpo-antígeno-anticuerpo. Se agregó tetrametilbencidina (TMB) como un sustrato colorímetro para la MPO con lo cual la reacción vira a un color azul, proporcional a la cantidad de MPO presente en la muestra. Finalmente, se agregó una solución ácida de detención y la reacción viró a un color amarillo. La intensidad del color se midió en un espectrofotómetro a 450 nm y mediante una curva de absorbancia v/s concentración, confeccionada con los valores de los estándares, se determinaron los niveles de MPO en cada muestra.

Los niveles de MPO fueron normalizados por sitio (MPO ng/ml) y por CPT (MPO ng/ $\mu$ g).

#### **4.6. Análisis de los datos:**

El análisis estadístico se realizó con el programa GraphPAD prism. 5.0. 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-Wik.
- Al comparar los niveles de MPO entre FGC de dientes con PAa y FGC de dientes controles sin PAa se utilizó el test no paramétrico de rangos con signos de Wilcoxon y para la CPT de estas mismas muestras se utilizó el test Mann Whitney.

- Para comparar los niveles de MPO y CPT entre FGC de dientes con PAa antes y después del tratamiento endodóntico se usó el test T-Student 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 la cantidad de MPO.
- Se aplicó el test no paramétrico de rasgos con signos de Wilcoxon, para comparar si los pacientes fumadores tienen mayores niveles de MPO que los no fumadores.

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

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Características generales de los sujetos de estudio.

De los 12 pacientes seleccionados, se obtuvieron 13 muestras de FGC de dientes con diagnóstico de PAa antes del tratamiento endodóntico, y de dientes control sin PAa, dado que uno de los pacientes seleccionados tenía dos dientes a tratar endodónticamente. Uno de los pacientes seleccionados no se efectuó el tratamiento de endodoncia, por lo que el número de muestras de PAa posterior al tratamiento de endodoncia correspondió a 12 muestras.

Las características de los pacientes a los cuales se les tomó muestras de FGC de dientes con PAa antes del tratamiento se observan en la **Tabla 1**. De los 12 pacientes que conformaron el estudio, 3 eran hombres y 9 eran mujeres, correspondiendo al 25% y 75% respectivamente. La edad promedio fue de  $49,3 \pm 10,5$  años. En relación con los datos consignados en la anamnesis, encontramos que un 41,7% de los sujetos fumaban. El tamaño radiográfico promedio de las lesiones periapicales de los dientes con PAa antes del tratamiento endodóntico fue de  $25,8 \pm 14,1$  mm<sup>2</sup>.

**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) | Mujeres (%) | Hombres (%) | Tabaquismo (%) | Tamaño de la lesión de PAa en Rx AT (mm <sup>2</sup> ) |
|----|-------------|-------------|-------------|----------------|--|
| 12 | 49,3±10,5   | 75          | 25          | 41,7           | 25,8±14,1  |

*Datos expresados como promedios±DS.*

*Rx: Radiografía.*

*AT: antes del tratamiento endodóntico.*



## 5.2 Niveles de MPO y CPT de las muestras.

### 5.2.1 Dientes con PAa antes del tratamiento v/s dientes controles sin PAa.

La CPT ( $\mu\text{g/ml}$ ) de las muestras de dientes con PAa antes del tratamiento en comparación con dientes controles sin PAa se pueden observar en la **Tabla 2**. La CPT en FGC tendió a ser menor en dientes controles sin PAa que en dientes con PAa antes del tratamiento endodóntico, sin embargo no fue estadísticamente significativo. Los niveles de MPO de las muestras de dientes con PAa antes del tratamiento en comparación con dientes controles sin PAa no tuvieron diferencias estadísticamente significativas, pero se presenta un menor nivel de MPO en dientes controles sin PAa. Ver **Gráfico 1, 2 y 3**.

**Tabla 2: Niveles de MPO y concentración de proteínas totales en FGC de dientes con PAa antes del tratamiento v/s dientes controles sin PAa.**

|                          | Dientes con PAa AT. | Dientes controles sin PAa. | P         |
|--------------------------|---------------------|----------------------------|-----------|
| CPT ( $\mu\text{g/ml}$ ) | 299,1 $\pm$ 83,5    | 289,7 $\pm$ 170,9          | 0,09 (ns) |
| MPO (ng/ml)              | 208,8 $\pm$ 82,8    | 207,3 $\pm$ 120,8          | 0,48 (ns) |
| MPO (ng/ $\mu\text{g}$ ) | 0,7 $\pm$ 0,2       | 0,7 $\pm$ 0,2              | 0,74 (ns) |

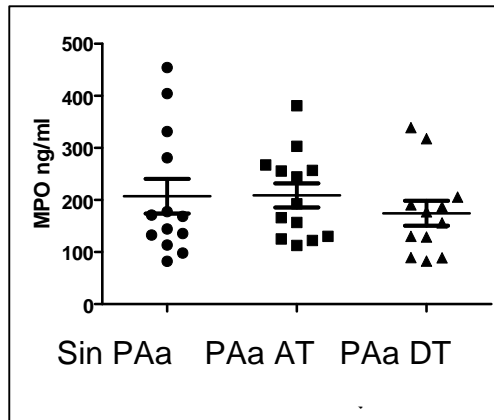
*Datos expresados como promedios $\pm$ DS.*


*CPT: concentración de proteínas totales.*

*AT: antes del tratamiento endodóntico.*

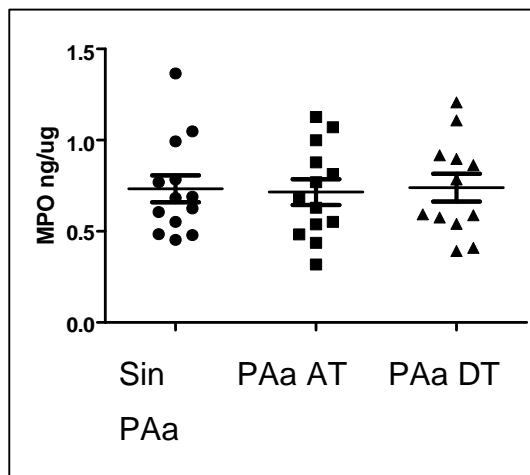
*ns: no hay diferencia estadísticamente significativa (P00,05). CPT analizado con Test Mann Whitney y MPO (ng/ml) y MPO (ng/ $\mu\text{g}$ ) analizado con Test de rangos con signos de Wilcoxon.*


**Gráfico 1: Niveles de MPO (ng/ml) en dientes sin PAa, con PAa antes del tratamiento y después del tratamiento.**



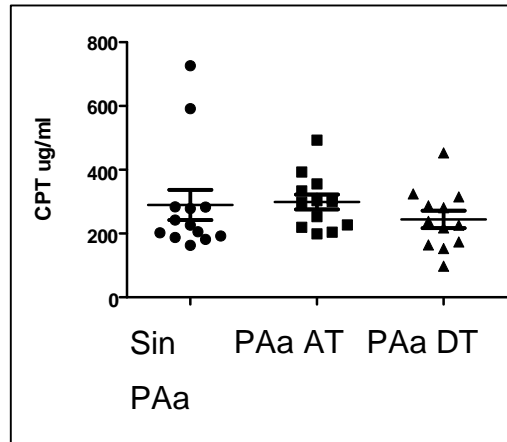
 Representa el promedio  $\pm$  desviación estándar. Siendo la línea del centro el promedio.

**Gráfico 2: Niveles de MPO (ng/ $\mu$ g) en dientes sin PAa, con PAa antes del tratamiento y después del tratamiento.**



 Representa el promedio  $\pm$  desviación estándar. Siendo la línea del centro el promedio.

**Gráfico 3: CPT ( $\mu\text{g/ml}$ ) en dientes sin PAa, con PAa antes del tratamiento y después del tratamiento.**



—|— Representa el promedio  $\pm$  desviación estándar. Siendo la línea del centro el promedio.

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

En la **Tabla 3** se muestran los resultados de los datos que demuestran una tendencia hacia la disminución de la CPT y de los niveles de MPO en el FGC de los dientes con PAa después de 7 días de realizado el tratamiento de endodoncia; estas diferencias fueron estadísticamente significativas para la CPT ( $\mu\text{g/ml}$ ), sin embargo no lo fueron para los niveles de MPO tanto en su expresión en ng por sitio (MPO ng/ml), como en su expresión normalizada por CPT (MPO ng/ $\mu\text{g}$ ). Ver **Gráfico 1, 2 y 3**.

**Tabla 3: Niveles de MPO y CPT de dientes con PAa antes v/s dientes con PAa después del tratamiento endodóntico.**

|                    | Dientes con PAa AT. | Dientes con PAa DT. | P         |
|--------------------|---------------------|---------------------|-----------|
| <b>CPT (µg/ml)</b> | 299,1 ± 83,5        | 244,3 ± 95,5        | 0,01*     |
| <b>MPO (ng/ml)</b> | 208,8 ± 82,9        | 174,5 ± 83,3        | 0,10 (ns) |
| <b>MPO (ng/µg)</b> | 0,7 ± 0,3           | 0,7 ± 0,3           | 0,86 (ns) |

*Datos expresados como promedios±DS.*

*CPT: concentración de proteínas totales.*

*AT: antes del tratamiento endodóntico.*

*DT: después de 7 días de realizado el tratamiento endodóntico.*

*\*Diferencia estadísticamente significativa analizado con Test Paired t. (P<0,05).*

*ns: no existe diferencia estadísticamente significativa (P00,05). Analizado con Test T-Student.*

### **5.3 Asociación entre los niveles de MPO y factores a considerar.**

#### **5.3.1 Niveles de MPO en dientes con PAa v/s tamaño de la lesión apical antes del tratamiento endodóntico.**

Para determinar si hay asociación entre los niveles de MPO (ng/ml) encontrados en FGC de dientes con PAa con el tamaño de la lesión apical (medida en mm<sup>2</sup>) antes del tratamiento endodóntico y entre los niveles de MPO (ng/µg) en FGC en dientes con PAa y el tamaño de la lesión apical (medida en mm<sup>2</sup>) antes del tratamiento, se utilizó el test no paramétrico de correlación de Spearman obteniéndose un valor para el p value de 0,99 y 0,98 respectivamente,

lo cual señala que no existe relación entre las variables. Por ende no se encontró asociación entre los niveles de MPO en FGC y el tamaño de la lesión antes del tratamiento endodóntico ( $p>0,05$ ), lo que se observa en la **Tabla 4**.

**Tabla 4: Niveles de MPO en dientes con PAa v/s tamaño de la lesión antes del tratamiento.**

| Niveles de MPO    | P         |
|-------------------|-----------|
| MPO (ng/ $\mu$ g) | 0,98 (ns) |
| MPO (ng/ml)       | 0,99 (ns) |

*Rx: Radiografía.*

*AT: antes del tratamiento endodóntico.*

*ns: no existe diferencia estadísticamente significativa ( $P00,05$ ). Analizado con Test de correlación de Spearman.*

### 5.3.2 Niveles de MPO v/s tabaquismo.

Al aplicar el test de rangos con signos de Wilcoxon para comparar el nivel de MPO (ng/ml) entre fumadores y no fumadores y el nivel de MPO (ng/ $\mu$ g) entre fumadores y no fumadores, se obtuvo un  $p$ -value=0,56 y  $p$ -value=0,14 respectivamente. Por ende no se observaron mayores niveles de MPO en las muestras de dientes tomadas de sujetos con la condición de fumadores con respecto a los no fumadores y no se obtuvo diferencia estadísticamente significativa ( $p>0,05$ ). (**Tabla 5**).

**Tabla 5: Niveles de MPO en el FGC antes del tratamiento endodóntico en muestras de pacientes con la condición de fumador v/s pacientes con la condición de no fumador.**

| Niveles de MPO | P         |
|----------------|-----------|
| MPO (ng/μg)    | 0,14 (ns) |
| MPO (ng/ml)    | 0,56 (ns) |

*ns: no existe diferencia estadísticamente significativa (P<0,05). Analizado con test de rangos con signos de Wilcoxon.*

## 6 DISCUSIÓN

La PAa corresponde a una respuesta inmunoinflamatoria local, que produce la destrucción del tejido periapical del diente, cuya patogénesis implica el balance dinámico entre la respuesta del hospedero frente a la microbiota localizada en los canales radiculares. La respuesta del hospedero involucra células como monocitos, macrófagos, eosinófilos, linfocitos, células plasmáticas, mastocitos y PMN. [6]

Los PMN son células del sistema inmune innato, que constituyen la primera línea de defensa inespecífica contra infecciones bacterianas y fúngicas. [7, 8] Producen enzimas que son empacadas en gránulos llamados lisosomas. [26] Al llegar los PMN al lugar de la lesión, éstos reconocen moléculas específicas en la superficie del invasor para, posteriormente, invaginarlo y destruirlo, proceso llamado fagocitosis. [7] Deguchi y colaboradores fueron los primeros en demostrar el daño periodontal producido por los PMN. Observaron el aumento de la adherencia de PMN a fibroblastos del ligamento periodontal al ser estimulados por lipopolisacáridos. [7]

Dentro de los mediadores que pudiesen participar en el proceso de PAa estaría la MPO. La MPO es una enzima (peróxido de hidrógeno oxirreductasa) cuya fuente fundamental la constituyen los leucocitos (PMN y monocitos). [8] Se ha demostrado su presencia en enfermedades como hipercolesterolemia familiar, síndrome coronario agudo, aterosclerosis, cáncer de hígado, enfermedad de Alzheimer, leucemia mieloide aguda, enfermedades neurológicas degenerativas, enfermedades inflamatorias generalizadas, enfermedad periodontal, entre otras. [10, 29, 30, 31, 32, 33, 34]

El presente trabajo de investigación estudió, por primera vez, la presencia

de MPO en FGC en dientes con PAa.

El FGC es un extravasado plasmático y ha sido un método de estudio en diversas patologías, tanto en medicina, como en odontología, en las que se encuentran las enfermedades periodontales. Pero, en PAa, hasta la fecha hay escasos estudios, iniciándose en el año 2008 con el estudio de Belmar y colaboradores, en el cual se describió que la actividad de MMP-2 y MMP-9 era mayor en dientes con PAa que en dientes sanos. [15]

En el presente trabajo de investigación se demuestra, por primera vez, la presencia de MPO en FGC de dientes con PAa. Si bien se observó, que en el FGC de dientes con PAa, los niveles de MPO son ligeramente mayores que en dientes sin PAa, y que tienden a disminuir posterior al tratamiento endodóntico, las diferencias no fueron estadísticamente significativas y por lo tanto, no se confirma la hipótesis planteada.

Los niveles de MPO obtenidos no varían significativamente dependiendo si hay o no PAa, esto puede ser efectivamente así, o bien, 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, [44] 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 [14] y debido a que se han descrito diferencias estadísticamente significativas en los niveles de MPO de FGC entre dientes sanos y dientes con enfermedad periodontal, considerando de esta manera a la MPO como un marcador útil para diagnosticar enfermedad periodontal, pero sin ser específica para los subtipos de ésta. [16, 36, 42] 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 el área de periodoncia. [45]

La PAa se caracteriza por la presencia de un área radiolúcida apical, vista radiográficamente.

En el presente estudio, no se encontró asociación entre los niveles de MPO en el FGC y el tamaño de la lesión antes del tratamiento endodóntico.

Para evaluar el tamaño de la lesión periapical a través de una radiografía periapical existen limitaciones, ya que es un estudio bidimensional de una estructura tridimensional. 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 MPO en el FGC con el tamaño radiográfico de la lesión, se ven acotadas, 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. Además, ha sido implementada en otros estudios similares. [39, 43, 46]

Al considerar el factor tabaquismo, no se encontró relación de éste con los niveles de MPO, pese a que se ha descrito que el tabaco es un factor que influye en la respuesta de los PMN. En estudios se ha observado un aumento en la apoptosis de los PMN obtenidos del FGC de pacientes fumadores con Periodontitis Crónica. Por tanto, el tabaco se consideraría causa de una deficiente respuesta del huésped. [7] Otro estudio encontró un aumento en la

producción de  $H_2O_2$  durante el estallido oxidativo de los PMN expuestos a tabaco *in vitro*. A su vez, en otro trabajo se observó una mayor fagocitosis por parte de PMN en saliva al estar expuestos a tabaco. [7] Por lo tanto, se esperaba que en pacientes con la condición de fumadores existieran mayores niveles de MPO en FGC de dientes con PAa en comparación con los no fumadores, ya que ocurriría una desviación en la función de los PMN hacia actividades destructivas, [47] pero esta relación no se dio. Se sugiere como posible causa la cantidad de cigarrillos diarios fumados, la cual era baja, considerando a los pacientes estudiados fumadores livianos. [47]

Durante o posterior al tratamiento endodóntico de una PAa, se puede generar una persistencia de la enfermedad por la eliminación inadecuada de la infección dentro del canal radicular y/o su posterior reinfección. Aún, siguiendo los procedimientos más estrictos, la PA puede persistir, evidenciándose cómo una radiolucidez asintomática y esto se puede deber a la complejidad del sistema de conductos radiculares formado por los canales principales y accesorios, sus ramificaciones y anastomosis donde la infección residual se perpetúa. [48] El conocimiento de la etiopatogenia de las enfermedades está dirigido a encontrar nuevos métodos diagnósticos, evaluar los tratamientos en el tiempo, evitando así los tratamientos endodónticos innecesarios, [13] ya que los resultados de éstos son difíciles de predecir en base a criterios clínicos y radiográficos, considerando que se requiere de 4 años de seguimiento, aproximadamente, para evaluar la reparación de los tejidos periapicales después de la terapia endodóntica. [13, 15]

Los hallazgos del presente trabajo de investigación no permiten asociar la MPO con la patogenia de la PAa presente a nivel del FGC, ni permiten considerarla aún como un biomarcador útil para diagnosticar PAa, tampoco para evaluar la evolución del tratamiento endodóntico.

Por otro lado, la existencia de una tendencia a que en el FGC de los dientes con PAa, antes del tratamiento, tengan mayor CPT que los dientes sin PAa y la disminución ocurrida después del tratamiento endodóntico, la cual fue un resultado con diferencias estadísticamente significativas, sugiere un posible papel de la CPT como marcador para la PAa. Por lo que, es valorable el uso del FGC como medidor de estados de salud y enfermedad periodontal, situación que habría que evaluar con una muestra de mayor tamaño.

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 controles sanos. [13, 15, 17, 39, 49] 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, [13] 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 PAa, [39] buscando, idealmente, mediadores propios para la enfermedad, o con mayor expresión en ésta.

Se sugiere que en el futuro se realicen más estudios para validar la metodología expuesta en este trabajo de investigación, aumentando el tamaño de las muestras a fin de poder tener datos suficientes que permitan la realización de comparaciones entre los grupos estudiados.

## 7 CONCLUSIONES

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

1. Se puede detectar la presencia de la mieloperoxidasa (MPO) en el fluido gingival crevicular (FGC) tanto en dientes sanos como en dientes con periodontitis apical asintomática (PAa).
2. No existen diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de MPO en FGC de dientes sanos y enfermos.
3. No existen diferencias estadísticamente significativas entre la concentración de proteínas totales (CPT) en FGC de dientes sanos y enfermos.
4. No existen diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de MPO en FGC de dientes con PAa antes del tratamiento en comparación con los niveles de MPO en FGC de dientes con PAa después de una semana de realizado el tratamiento.
5. Existen diferencias estadísticamente significativas entre la CPT en FGC de dientes con PAa antes del tratamiento en comparación con La CPT en FGC de dientes con PAa después de una semana de realizado el tratamiento.
6. No se encontró asociación entre los niveles de MPO 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 MPO en FGC de dientes con PAa antes del tratamiento y la condición de tabaquismo.
8. Los niveles de MPO 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 MPO en FGC de dientes sanos y enfermos.

## 8 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- <sup>1</sup> AAE. (2009), Consensus Conference Recommended Diagnostic Terminology. *J. Endod.* 35(12):1634.
- <sup>2</sup> 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.
- <sup>3</sup> Mundi, V., Dezerega, A., Osorio, C., Dutzan, N., Franco, ME., Ortega, AV., Hernández, M. (2011), Inmunodetección de metaloproteinasas de matriz extracelular (MMPs)-2, -9, -13 y -14 en lesiones apicales asociadas con periodontitis apical asintomática. *Rev. Clin. Periodoncia Implantol. Rehabil. Oral.* 4(1):17-21.
- <sup>4</sup> Nair, P.N.R. (1997), Apical periodontitis: a dynamic encounter between root canal infection and host response. *Periodontology* 2000. 13:121-148.
- <sup>5</sup> 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.
- <sup>6</sup> Nair, P.N.R. (2004), Pathogenesis of Apical Periodontitis and the Causes of Endodontic Failures. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 15(6):348-381.
- <sup>7</sup> Barbieri, G., Flores, J., Vignoletti, F. (2005), El neutrófilo y su importancia en la enfermedad periodontal. *Avances en Periodoncia.* 17(1):11-16.
- <sup>8</sup> García, O., Pereira, N., Flores, R. (1998), Enzimas generadoras de especies reactivas del oxígeno: mieloperoxidasa. *Rev. Cubana Invest. Bioméd.* 17(3):190-197.
- <sup>9</sup> Kowolik, MJ., Grant, M. (1983), Myeloperoxidase activity in human gingival crevicular neutrophils. *Arch. Oral Biol.* 28:293-295.
- <sup>10</sup> Klebanoff, SJ. (1999), Myeloperoxidase. *Proc. Assoc. Am Physicians.* 111(5):383-389.

- <sup>11</sup> 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.
- <sup>12</sup> Shimauchi, H., Miki, Y., Takayama, S., Imai, T., Okada, H. (1996), Development of a quantitative sampling method for periapical exudates from human root canals. *J. Endod.* 22(11):612-615.
- <sup>13</sup> 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.
- <sup>14</sup> Subrahmanyam, MV., Sangeetha, M. (2003), Gingival crevicular fluid a marker of the periodontal disease activity. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 18(1): 5-7.
- <sup>15</sup> 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.
- <sup>16</sup> 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.
- <sup>17</sup> 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.
- <sup>18</sup> Siquiera, J.F., Rocas, I. (2007), Bacterial Pathogenesis and Mediators in Apical Periodontitis. *Braz. Dent. J.* 18(4):267-280.

- <sup>19</sup> Stashenko, P., Teles, R., D'Souza, R. (1998), Periapical inflammatory responses and their modulation. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 9(4):498-521.
- <sup>20</sup> Nair, P.N., Henry, S., Cano, V., Vera, J. (2005), Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after "one-visit" endodontic treatment. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology.* 99(2): 231-252.
- <sup>21</sup> Maresca, B.M., Monjes, J.F., Monjes, E.F., Taddeila, E.M. (2005), Biología molecular como instrumento de una terapia endodóntica. *RAAO.* 44(2).
- <sup>22</sup> Martin, R., Ezpeleta, L., Alvarez, J. (2011), Cierre apical posterior al tratamiento de conductos. *Histología de la reparación apical. Gaceta Dental.* 222:112-119
- <sup>23</sup> Teixeira-Salum, T.B., Rodrigues DB., Gervásio AM., Souza CJ., Rodrigues V., Loyola AM. (2010), Distinct Th1, Th2 and Treg cytokines balance in chronic periapical granulomas and radicular cysts. *J. Oral Pathol. Med.* 39(3): 250-256.
- <sup>24</sup> Palomo, I., Ferreira V., Sepúlveda, C., Roseblatt, S., Vergara U. (2002), *Fundamentos de Inmunología Básica y Clínica.* Editorial Universidad de Talca. Capítulo 4: 89.
- <sup>25</sup> Abbas, A., Lichtman, A., Pober, J. (1999), *Inmunología Celular y Molecular.* Mc Graw-Hill/Interamericana. Tercera edición.
- <sup>26</sup> Rojas W., Cano L. (2001), *Inmunología. Corporación para Investigaciones Biológicas.* Duodécima edición. Capítulo 2: 9-31.
- <sup>27</sup> Rojas W., Cano L. (2001), *Inmunología. Corporación para Investigaciones Biológicas.* Duodécima edición. Capítulo 6: 69-79.
- <sup>28</sup> McCulloch C.A.G. (1994), Host enzymes in gingival crevicular fluid as diagnostic indicators of periodontitis. *J. Clin. Periodontol.* 21(7): 497-506.
- <sup>29</sup> Cos, Y., Torres, I., Marsán, V., Macías, C. (2004), Defectos en la fagocitosis. Aspectos clínicos, moleculares y terapéuticos. *Rev. Cubana Hematol. Inmunol. Hemoter.* 20(1).



- <sup>30</sup> Emingil, G., Afacan, B., Tervahartiala, T., Töz, H., Atilla, G., Sorsa, T. (2010), GCF and serum myeloperoxidase and matrix metalloproteinase-13 levels in renal transplant patients. *Archives of Oral Biology*. 55(10):719-727.
- <sup>31</sup> Hoy, A., Leininger-Muller, B., Kutter, D., Siest, G., Visvikis, S. (2002), Growing significance of myeloperoxidase in non-infectious diseases. *Clin. Chem. Lab. Med.* 40:2-8.
- <sup>32</sup> Lanza, F. (1998), Clinical manifestation of myeloperoxidase deficiency. *J. Mol. Med.* 76(10):676-681.
- <sup>33</sup> Lee, R. (2011), Myeloperoxidase as a Biomarker in Acute Coronary Syndrome: Beware of the Pitfalls. *Archives of Medical Research*.
- <sup>34</sup> Puntoni, M., Sbrana, F., Bigazzi, F., Minichilli, F., Ferdeghini, E., Sampietro, T. (2011), Myeloperoxidase modulation by LDL apheresis in Familial Hypercholesterolemia. *Lipids in Health and Disease*. 10:185.
- <sup>35</sup> Rojas W., Cano L. (2001), *Inmunología*. Corporación para Investigaciones Biológicas. Duodécima edición. Capítulo 20:263-272.
- <sup>36</sup> Smith, Q.T., Hinrichs, J.E., Melnyk, R.S. (1986), Gingival crevicular fluid myeloperoxidase at periodontitis sites. *Journal of Periodontal Research*. 21: 45-55.
- <sup>37</sup> Güncü, GN., Tözüm, TF., Güncü, MB., Yamalik, N., Tümer, C., Karabulut, E., Kiliñç, K. (2008), Myeloperoxidase as a measure of polymorphonuclear leukocyte response in inflammatory status around immediately and delayed loaded dental implants: a randomized controlled clinical trial. *Clin. Implant. Dent. Relat. Res.* 10(1):30-39.
- <sup>38</sup> Tözüm, TF., Akman, AC., Yamalik, N., Tulunoglu, I., Turkyilmaz, I., Karabulut, E., Kiliñç, K., Cehreli, MC. (2007), Analysis of the inflammatory process around endosseous dental implants and natural teeth: myeloperoxidase level and nitric oxide metabolism. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*. 22(6):969-979.

- <sup>39</sup> Burgener, B., Ford, A., Situ, H., Fayad, M., Hao, J., Wenckus, C., Johnson, B., BeGole, E., George, A. (2010), Biologic Markers for Odontogenic Periradicular Periodontitis. *J Endod.* 36(8):1307–1310.
- <sup>40</sup> 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-1beta in gingival crevicular fluid: Implications for oxidative stress in human periodontal diseases. *J. Periodontal Res.* 39:287-293.
- <sup>41</sup> 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. Periodontol.* 25(11):865-871.
- <sup>42</sup> Cao, CF., Smith, QT. (1989), Crevicular fluid myeloperoxidase at healthy, gingivitis and periodontitis sites. *J.Clin. Periodonol.* 16:17-20.
- <sup>43</sup> 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.
- <sup>44</sup> 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.
- <sup>45</sup> 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.
- <sup>46</sup> 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.
- <sup>47</sup> Johnson, G., Guthmiller, J. (2008), Impacto del tabaquismo en la enfermedad y el tratamiento periodontales. *Periodontology 2000 (Ed Esp).* 19:120-128.

<sup>48</sup> Nair, P.N. (2006), On the causes of persistent apical periodontitis: a review. *Int Endod J.*; 39(4): 249–281.

<sup>49</sup> 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.

## 9 ANEXOS

## 9.1 Anexo N°1: Consentimiento Informado.

|  |
|--|
| COMITE ASESOR<br>DE BIOÉTICA<br>FONDECYT |
|--|

Formulario de Consentimiento Informado Fecha Edición: 04.05.09

Trabajo de Investigación: Caracterización del estado oxidativo y proteólisis apical crónica en el fluido gingival crevicular: ¿una nueva herramienta en la búsqueda de marcadores precoces de pronóstico?.

Investigador Responsable: Marcela Hernández Ríos. Dpto. Patología. Facultad de Odontología. Universidad de Chile. Fono 9781808. email:chernandezrios@gmail.com

Presidente del Comité Científico: Dr. Francisco Campos. Fono: 9781701

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 Crónica. Cuando esté indicado, serán sometidos a diagnóstico, 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 posttratamiento y de un diente control. El financiamiento del tratamiento endodóntico será responsabilidad del paciente.

En los pacientes que presenten indicación de extracción dentaria, a las lesiones asociadas se les tomará una biopsia y/o se extirpará el tejido a partir del diente extraído. Tanto la biopsia como la extracción se realizarán en forma gratuita para el paciente. La obtención de estas muestras en sí no presenta riesgos ni costos adicionales para el paciente y una vez analizadas serán descartadas. Lo anterior significa que no se harán exámenes genéticos en las muestras.

El total de muestras y datos obtenidos serán almacenadas por el investigador responsable para su utilización exclusiva en el desarrollo del presente estudio, y no usarán para ningún trabajo futuro. 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, sin perjuicio de su tratamiento odontológico. En este caso, solo se estudiarán las muestras obtenidas con anterioridad al retiro del sujeto.

Beneficio

Como beneficio de participar en el presente estudio, a todos los pacientes participantes del mismo se les obsequiarán elementos de higiene dental. Además, el diagnóstico de biopsias y radiografías con fines de este estudio no tendrán costo económico.

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.

|                                 |                                |                                       |
|---------------------------------|--------------------------------|---------------------------------------|
| <b>Identificación Paciente:</b> | <b>Identificación Dentista</b> | <b>Identificación Jefe de Clínica</b> |
| Nombre                          | Nombre                         | Nombre                                |
| RUT                             | RUT                            | RUT                                   |
| Teléfono                        | Teléfono                       | Teléfono                              |
| Firma                           | Firma                          | Firma                                 |

## 9.2 Anexo N°2: Ficha Clínica.

|   |         |    |  |                    |       |
|---|---------|----|--|--------------------|-------|
| NOMBRE:   |         |    |  |                    |       |
| SEXO:   | F       | M  |  | FECHA              |       |
| TELÉFONO:   |         |    |  | EDAD:              |       |
| ANAMNESIS:  |         |    |  |                    |       |
| TABAQUISMO  | NO      | SÍ |  | Nº                 |       |
| ENFERMIDADES GENERALES                            | NO      | SÍ |  | CIGARRILLOS/DÍA    |       |
| TRATAMIENTOS MÉDICOS                              |         |    |  | CUÁL               |       |
| ACTUALES  | NO      | SÍ |  |                    |       |
| O ÚLTIMOS 6 MESES                                 |         |    |  | CUÁL               |       |
| EXAMEN CLÍNICO:                                   |         |    |  |                    |       |
| DIENTE A TRATAR:                                  | +       | -  |  | DOLOR              | SÍ NO |
| PERCUSIÓN   | NO      | SÍ |  | ESPONTÁNEO         |       |
| MOVILIDAD   | SÍ      | NO |  |                    |       |
| TRAUMA OCLUSAL                                    |         |    |  | GRADO:             |       |
| VESTÍBULO:  | FÍSTULA |    |  | AUMENTO DE VOLUMEN |       |
| ENROJECIMIENTO                                    |         |    |  |                    |       |
| GINGIVITIS O PERIODONTITIS:                       | SÍ      | NO |  |                    |       |
| CARIES O RESTO RADICULAR                          | SÍ      | NO |  | VITALOMETRÍA       | + -   |
| RADIOGRAFÍA:                                      |         |    |  |                    |       |
| TAMAÑO DE LA LESIÓN (MM)                          | VERTIC  |    |  | HORIZONTAL         |       |
|   | AL      |    |  |                    |       |
| DIAGNÓSTICO:                                      |         |    |  |                    |       |
| <b>PRIMER CONTROL (POST-OBTURACIÓN)</b>           |         |    |  |                    |       |
| FECHA   |         |    |  |                    |       |
| RADIOGRAFÍA:                                      |         |    |  |                    |       |
| TAMAÑO DE LA LESIÓN (MM)                          |         |    |  |                    |       |
| SIGNOS O SÍNTOMAS                                 | SÍ      | NO |  | PERCUSIÓN          | + -   |
| <b>SEGUNDO CONTROL (3 MESES POST- OBTURACIÓN)</b> |         |    |  |                    |       |
| FECHA   |         |    |  |                    |       |
| RADIOGRAFÍA:                                      |         |    |  |                    |       |
| TAMAÑO DE LA LESIÓN (MM)                          | VERTIC  |    |  | HORIZONTAL         |       |
| SIGNOS O SÍNTOMAS:                                | AL      |    |  | PERCUSIÓN          | + -   |
| <b>TERCER CONTROL: 4 MESES POST- OBTURACIÓN)</b>  |         |    |  |                    |       |

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

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

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

Alumno \_\_\_\_\_

Docente \_\_\_\_\_

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

**EXAMEN CLÍNICO EXTRAORAL**

Aumento del volumen  Adenopatía  Fístula  Nada especial  Otros (especifique) \_\_\_\_\_

|  |  |   |
|--|--|---|
| <p><b>EXAMEN CLÍNICO INTRAORAL (Sistemas Objetivos)</b></p> <p><input type="checkbox"/> Cambio de color coronario</p> <p><input type="checkbox"/> Caries <input type="checkbox"/> superf. <input type="checkbox"/> prof. <input type="checkbox"/> penetr.</p> <p><input type="checkbox"/> Cavidad <input type="checkbox"/> superf. <input type="checkbox"/> prof. <input type="checkbox"/> penetr.</p> <p><input type="checkbox"/> Obturación <input type="checkbox"/> superf. <input type="checkbox"/> prof. <input type="checkbox"/> penetr.</p> <p><input type="checkbox"/> Fractura <input type="checkbox"/> superf. <input type="checkbox"/> prof. <input type="checkbox"/> penetr.</p> <p><input type="checkbox"/> Movilidad (grado) _____</p> <p><input type="checkbox"/> Saco periodontal (profundidad) _____</p> <p><input type="checkbox"/> Oclusión del diente <input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Inoclusión <input type="checkbox"/> Trauma oclusal</p> <p>Malposición o versión _____</p> | <p><b>REGION VESTIBULAR</b><br/>(en relación al diente)</p> <p><input type="checkbox"/> Cambio de coloración</p> <p><input type="checkbox"/> Dolor a la palpación</p> <p><input type="checkbox"/> Aumento de volumen <input type="checkbox"/> Localizado <input type="checkbox"/> Difuso <input type="checkbox"/> Duro <input type="checkbox"/> Blando</p> <p><input type="checkbox"/> Fístula <input type="checkbox"/> Activa <input type="checkbox"/> Inactiva</p> | <p><b>EXAMEN RADIOLÓGICO</b></p> <p><b>Reabsorción ósea marginal</b></p> <p><input type="checkbox"/> Vertical <input type="checkbox"/> Nada Especial</p> <p><input type="checkbox"/> Horizontal <input type="checkbox"/> Amplia</p> <p><input type="checkbox"/> Discreta <input type="checkbox"/> Parcialm. Calcif.</p> <p><input type="checkbox"/> Marcada <input type="checkbox"/> Totalm. Calcif.</p> <p><input type="checkbox"/> Franca <input type="checkbox"/> Obturada</p> <p><input type="checkbox"/> Reabsorción Int. <input type="checkbox"/> No Observ.</p> <p><b>Conductos Radiculares (claves)</b></p> <p>Único <input type="checkbox"/> Normal</p> <p>Vestibular (V) <input type="checkbox"/> Amplio</p> <p>Palatino (P) <input type="checkbox"/> Estrecho</p> <p>Mesial (M) <input type="checkbox"/> Curvo</p> <p>Distal (D) <input type="checkbox"/> Bifurcado</p> <p>Mesio vestibular (mayor) (MV1) <input type="checkbox"/> Resabsorción interna</p> <p>Mesio vestibular (menor) (MV2) <input type="checkbox"/> No visible</p> <p>Disto vestibular (DV) <input type="checkbox"/> Obturado</p> <p>Mesio lingual (ML) _____</p> <p>Disto lingual (DL) _____</p> <p>Otro _____</p> <p>Claves conductos radiculares _____</p> |
|--|--|---|

|   |   |
|---|---|
| <p><b>TESTS</b></p> <p>Frio (F) <input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Aumentado <input type="checkbox"/> Disminuido <input type="checkbox"/> No responde</p> <p>Calor (C) <input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Aumentado <input type="checkbox"/> Disminuido <input type="checkbox"/> No responde</p> <p>Corte dentinario <input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Aumentado <input type="checkbox"/> Disminuido <input type="checkbox"/> No responde</p> <p>Percusión <input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Aumentado</p> <p>Exploración <input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Aumentado <input type="checkbox"/> Disminuido <input type="checkbox"/> No responde</p> <p>Eléctrico (E) _____ D. Control (Nº _____ ) _____</p> <p>Vitalómetro empleado: _____</p> <p><b>Tipo de Respuesta</b></p> <p>F <input type="checkbox"/> Moderada <input type="checkbox"/> Severa</p> <p>C <input type="checkbox"/> Moderada <input type="checkbox"/> Severa</p> <p>E <input type="checkbox"/> Moderada <input type="checkbox"/> Severa</p> | <p><b>RESPUESTA: (dolor)</b></p> <p><b>Reabsorción ósea marginal</b></p> <p><input type="checkbox"/> Vertical <input type="checkbox"/> Nada Especial</p> <p><input type="checkbox"/> Horizontal <input type="checkbox"/> Amplia</p> <p><input type="checkbox"/> Discreta <input type="checkbox"/> Parcialm. Calcif.</p> <p><input type="checkbox"/> Marcada <input type="checkbox"/> Totalm. Calcif.</p> <p><input type="checkbox"/> Franca <input type="checkbox"/> Obturada</p> <p><input type="checkbox"/> Reabsorción Int. <input type="checkbox"/> No Observ.</p> <p><b>Conductos Radiculares (claves)</b></p> <p>Único <input type="checkbox"/> Normal</p> <p>Vestibular (V) <input type="checkbox"/> Amplio</p> <p>Palatino (P) <input type="checkbox"/> Estrecho</p> <p>Mesial (M) <input type="checkbox"/> Curvo</p> <p>Distal (D) <input type="checkbox"/> Bifurcado</p> <p>Mesio vestibular (mayor) (MV1) <input type="checkbox"/> Resabsorción interna</p> <p>Mesio vestibular (menor) (MV2) <input type="checkbox"/> No visible</p> <p>Disto vestibular (DV) <input type="checkbox"/> Obturado</p> <p>Mesio lingual (ML) _____</p> <p>Disto lingual (DL) _____</p> <p>Otro _____</p> <p>Claves conductos radiculares _____</p> <p><b>Linea Periodontal - Raíz</b></p> <p><b>Raíz</b></p> <p><input type="checkbox"/> Ápice normal <input type="checkbox"/> Normal</p> <p><input type="checkbox"/> Curvatura apical <input type="checkbox"/> Engrosada</p> <p><input type="checkbox"/> Dislaceración <input type="checkbox"/> Ausente</p> <p><input type="checkbox"/> Doble curva</p> <p><input type="checkbox"/> Límite duplicado</p> <p><input type="checkbox"/> Rizálisis externa <input type="checkbox"/> Aspecto normal</p> <p><input type="checkbox"/> Hiper cementosis <input type="checkbox"/> Osteoesclerosis</p> <p><input type="checkbox"/> Fractura <input type="checkbox"/> Radiolucidez</p> <p><input type="checkbox"/> Apicectomizada</p> <p><b>Área Radiolúcida</b></p> <p><input type="checkbox"/> Netos</p> <p><input type="checkbox"/> Límites <input type="checkbox"/> Difusos</p> <p><input type="checkbox"/> Corticalizados</p> <p><b>Tamaño Área Radiolúcida</b></p> <p>Vertical _____ m.m.</p> <p>Horizontal _____ m.m.</p> |
|---|---|