



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

Asociación entre el nivel de riesgo cardiovascular y los niveles de proteína C reactiva en fluido gingival crevicular de mujeres adultas chilenas con salud periodontal y periodontitis

Nayib Ignacio Hussein Rojas

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE

CIRUJANO DENTISTA

TUTOR PRINCIPAL

Dra. Johanna Contreras Balbontín

TUTORES ASOCIADOS

Dra. Patricia Hernández Ríos

Dra. Marcela Hernández Ríos

TUTOR EXPERTO

Dra. Alicia Morales Chvets

Adscrito a Proyecto FIOUCh 17-004

Santiago – Chile

2018



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

Asociación entre el nivel de riesgo cardiovascular y los niveles de proteína C reactiva en fluido gingival crevicular de mujeres adultas chilenas con salud periodontal y periodontitis

Nayib Ignacio Hussein Rojas

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE

CIRUJANO DENTISTA

TUTOR PRINCIPAL

Dra. Johanna Contreras Balbontín

TUTORES ASOCIADOS

Dra. Patricia Hernández Ríos

Dra. Marcela Hernández Ríos

TUTOR EXPERTO

Dra. Alicia Morales Chvets

Adscrito a Proyecto FIOUCh 17-004

Santiago – Chile

2018

DEDICATORIA

“Sólo cabe confiar en la calidad de determinados valores y en la luz que se haya en la conducción técnica en el momento mismo de los acontecimientos.”

(Revista Estadio N° 1751).

AGRACEDIMIENTOS

En primer lugar, me gustaría agradecer enormemente a mi familia por su apoyo constante e incondicional durante todo este proceso universitario, por darme la energía diaria para enfrentar cada obstáculo, y por enseñarme valores para ser una buena persona y profesional.

Quiero agradecer a mis amigos por estar siempre en los buenos y malos momentos, por las alegrías que me dieron cada día y por hacer que este viaje haya sido inolvidable.

Gracias Dra. Johanna Contreras, Dra. Patricia Hernández, Dra. Marcela Hernández y Dra. Alicia Morales, por darme la oportunidad de aprender junto a ustedes y por recibirme bien desde el primer momento. Gracias por todo lo que me han enseñado, por su entrega, disposición, paciencia y profesionalismo que permitieron que este trabajo tenga la calidad que requiere.

Gracias a todas las personas que trabajan en el servicio de Diagnóstico, Radiología, en el Laboratorio de Biología Periodontal y el área de Odontología Conservadora, por ayudarme a desarrollar esta investigación. Gracias a Claudia Da Venezia por haber permitido que yo llegara a esta investigación y por acompañarme durante todo el proceso.

Agradezco haber sido alumno del Dr. Mauricio Ruiz y Dra. Andrea Maturana, por su vocación, por sus valores, sus consejos y por enseñarme a trabajar siempre de la mejor manera, por exigir siempre un buen nivel académico y porque son destacables personas.

Gracias Coni por acompañarme de la mejor manera en el fin de este camino, por tus palabras, tu cariño y la motivación que me entregaste todos los días.

ÍNDICE

1. RESUMEN.	2
2. INTRODUCCIÓN.	4
3. HIPÓTESIS.	12
4. OBJETIVOS.	12
4.1 OBJETIVO GENERAL.....	12
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.	12
5. METODOLOGÍA.....	13
1. Diseño.	13
2. Cálculo muestral.....	13
3. Selección de muestra y población en estudio.....	13
4. Examen y mediciones clínicas generales.....	14
5. Examen y mediciones periodontales.	15
6. Alineación	16
7. Mediciones biológicas.....	16
8. Muestras de fluido gingival crevicular.....	17
9. Plan de análisis de los datos.	18
6. RESULTADOS.	19
7. DISCUSIÓN.	24
8. CONCLUSIÓN.	30
9. BIBLIOGRAFÍA.	31
10. ANEXOS.	44
I) FICHA CLÍNICA.	44
II) CONSENTIMIENTO INFORMADO.....	46
III) ACTA DE APROBACIÓN DE PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN.	55

1. RESUMEN.

Introducción: Las enfermedades periodontales (EP) son un proceso disbiótico multifactorial que involucra la inflamación de los tejidos gingivales en respuesta a la acumulación de placa bacteriana. Algunos factores de riesgo de las EP son compartidos con enfermedades sistémicas de importancia, como lo son las enfermedades cardiovasculares (ECV). Las ECV representan la primera causa de muerte en Chile y el mundo, siendo relevantes en mujeres adultas menores de 45 años. La literatura señala la existencia de una asociación entre periodontitis y ECV, mediante el aumento de biomarcadores inflamatorios como proteína C reactiva (PCR). Se ha detectado la presencia de PCR en fluido crevicular gingival (FCG), sin embargo, no está clara la asociación entre el nivel de riesgo cardiovascular y los niveles de PCR en FGC de mujeres adultas con salud periodontal y periodontitis.

Metodología: Estudio cuantitativo, analítico y de corte transversal. Se incluyeron mujeres chilenas entre 18 y 44 años con salud periodontal (n=23) y periodontitis (n=17). Se realizó una anamnesis y examen clínico periodontal. Se consignó el índice de masa corporal, presión arterial, hemoglobina glicosilada, perfil lipídico y niveles de PCR séricos. Se obtuvieron muestras de FGC para determinar los niveles de PCR en FGC, y se asociaron con el estado periodontal y el nivel de riesgo cardiovascular. El análisis estadístico se realizó con el programa STATA®12.0 ($p < 0.05$).

Resultados: Los niveles de PCR en FGC del grupo periodontitis fueron mayores comparados con los niveles de PCR en FGC del grupo sano, con una diferencia estadísticamente significativa ($p = 0.00$). Se observó una asociación significativa entre altos niveles de PCR en FGC y tener periodontitis ($p = 0.03$, CI 1.19-36.31). Las pacientes con niveles de PCR en FGC > 3 mg/L tienen 6.48 veces más probabilidad de presentar alto riesgo cardiovascular ($p = 0.04$, CI 1.05-39.66), ajustado a los clásicos factores de riesgo cardiovascular.

Conclusiones: Las mujeres adultas chilenas menores de 45 años incluidas en esta investigación que presentan periodontitis tienen mayores niveles de PCR en el FGC comparado a las que presentan salud periodontal, y existe una asociación significativa entre niveles elevados de PCR en el FGC y alto riesgo cardiovascular.

2. INTRODUCCIÓN.

Las enfermedades periodontales (EP) se caracterizan por un proceso disbiótico multifactorial que involucra la inflamación de los tejidos gingivales en respuesta a la acumulación de placa bacteriana (Lockhart y cols., 2012). Estas condiciones inflamatorias pueden presentarse con destrucción de los tejidos de soporte del diente, incluyendo el cemento radicular, ligamento periodontal y hueso alveolar (Lockhart y cols., 2012; Baser y cols., 2014). Las formas más comunes de EP (Armitage, 2004), son la gingivitis y periodontitis inducidas por placa bacteriana. La gingivitis es la presencia de inflamación gingival sin pérdida de inserción del tejido conectivo (Armitage, 1995), en tanto que la periodontitis se define como la presencia de inflamación gingival asociada a una migración patológica de la inserción epitelial en las superficies radiculares, acompañada de pérdida del tejido conectivo y hueso alveolar (Armitage, 1995).

Estudios epidemiológicos han demostrado que la mayoría de la población adulta tiene periodontitis, con diversos grados de severidad, constituyéndose en una de las principales causas de pérdida dentaria (Burt, 2005). En Chile, el 90,89% de los sujetos entre los 35-44 años y el 100% de los sujetos entre los 65-74 años, necesitan tratamiento periodontal (Gamonal y cols., 1998).

Entre los factores de riesgo de las EP se encuentran factores locales, sistémicos y genéticos (Borrell y Papanou, 2005; Lockhart y cols., 2012), algunos de los cuales son comunes con otras enfermedades sistémicas crónicas de importancia, como lo son las enfermedades cardiovasculares (ECV). Tales factores de riesgo en común son: la edad, sexo (hombres), bajo nivel educacional, estrés y tabaquismo; por lo que no es extraño que un gran número de pacientes con periodontitis presenten ECV (Kannel, 1983; Peacock y cols., 1995; Hujoel y cols., 2000; Greenland y cols., 2003; Borrell y Papanou, 2005; Hyman, 2006; Smith, 2006).

Las ECV afectan al corazón y a los vasos sanguíneos; sus mayores componentes son definidos como enfermedades del sistema circulatorio y corresponden a: a) enfermedad isquémica del corazón, b) enfermedad cerebrovascular y c) enfermedad vascular periférica (arterias, arteriolas y capilares); este conjunto de patologías tienen un carácter crónico y un curso progresivo de largos años, sin embargo, pueden presentarse con eventos clínicos agudos como accidentes cerebrovasculares, infarto agudo al miocardio (IAM) o síndromes coronarios (Lockhart y cols., 2012).

Aproximadamente el 30% de las muertes a nivel mundial corresponden a las ECV, convirtiéndose en la causa número uno de muerte (Paquette y cols., 2007; Roger y cols., 2012). En Chile, según datos del Ministerio de Salud, representan el 27.1% del total de las defunciones, convirtiéndose en la principal causa de muerte en el país, siendo las enfermedades cerebrovasculares la primera causa específica de las defunciones con un 34%, seguidas por las isquémicas del corazón, con un 28% (MINSAL, 2011). La enfermedad cerebrovascular y la enfermedad coronaria son, a partir de los 45 años, las causas que producen más muertes en las mujeres chilenas. La mortalidad intrahospitalaria por IAM, es significativamente mayor en las mujeres, independiente de la edad (Nazzal y Alonso, 2013). En cuanto al riesgo, se ha demostrado que este aumenta en las mujeres jóvenes al compararlas con hombres de la misma edad (Vaccarino y cols., 1998; Champney y cols., 2009). Esto podría explicarse por el retraso en el diagnóstico, menor aplicación de terapias indicadas en guías clínicas y la alta prevalencia de factores de riesgo (Nazzal y Alonso, 2013).

Las ECV tienen factores de riesgo tradicionales, los cuales son multifactoriales e incluyen factores genéticos, medioambientales y del estilo de vida. Existen factores de riesgo no modificables como etnia, edad, sexo e historia de ECV, y factores de riesgo modificables, tales como dislipidemia, diabetes mellitus, hipertensión arterial, obesidad, tabaquismo, estrés, bajo nivel socioeconómico y educacional, inactividad física y dieta aterogénica. El riesgo cardiovascular se

incrementa cuando los factores se interrelacionan entre sí (Paquette y cols., 2007; Lockhart y cols., 2012).

La aterosclerosis tiene un rol central en el desarrollo de las ECV (Kinane y Lowe, 2000; Paquette y cols., 2007). Esta condición, corresponde al engrosamiento de la capa íntima y media arterial debido a la acumulación de lípidos y proteínas plasmáticas, que favorecen la formación de una placa aterosclerótica, a la cual se adhieren y penetran monocitos durante las fases tempranas de su formación (Beck y cols., 1996, 2000; Kinane y Lowe, 2000; Libby, 2002, 2006; Paquette y cols., 2007).

La inflamación juega un rol esencial y continuo en la patogénesis de las EP y ECV (Falk y cols., 1995; Tonetti, 2009; Loss, 2000; Loss y cols., 2009; Lockhart y cols., 2012). Se ha demostrado que la destrucción de los tejidos periodontales ocurre debido al desbalance entre citoquinas proinflamatorias y antiinflamatorias, en respuesta a la presencia de bacterias patogénicas (Cetinkaya y cols., 2013), así mismo la presencia de citoquinas proinflamatorias en la capa íntima arterial, promueven la expresión de moléculas de adhesión producidas por las células endoteliales, favoreciendo el crecimiento de placas de ateroma (Cybulsky y cols., 1991; Gertzten y cols., 1999; Cybulsky y cols., 2001; Sever y cols., 2003). Por lo tanto, un aumento de las condiciones inflamatorias, pueden liderar la ruptura de una placa aterosclerótica, produciendo la oclusión de vasos sanguíneos y causando catástrofes clínicas como IAM o accidentes cerebrovasculares (Lockhart y cols., 2012).

Dentro de los estudios que vinculan las EP con las ECV, una revisión sistemática encontró que la periodontitis puede estar modestamente asociada con aterosclerosis, IAM y eventos cardiovasculares (Scannapieco y cols., 2003). Se ha demostrado que pacientes con periodontitis, tienen un 20% más de riesgo de tener ECV que aquellos pacientes con salud periodontal (Meurman y cols., 2004). También se ha evidenciado que mujeres con bajo número de dientes (<10) tienen

mayor riesgo de desarrollar una enfermedad coronaria, comparado a mujeres con al menos 25 dientes (Hung y cols., 2004). Del mismo modo, un estudio demostró que individuos con mayor número de dientes perdidos, tienen un aumento significativo del riesgo de morir por un IAM o un accidente cerebrovascular (Abnet y cols., 2005).

De acuerdo a la literatura, el manejo terapéutico de la condición periodontal puede prevenir el inicio y la progresión de enfermedades que inducen aterosclerosis (Paquette y cols., 2007).

Entre los mecanismos propuestos que vinculan la enfermedad periodontal y enfermedad cardiovascular, están:

- i) Bacteremia asociada a patógenos periodontales.

La bacteremia es la presencia de bacterias circulando en la sangre (Navarro y cols., 2017). La bacteremia que se origina en boca, es un evento que puede ocurrir múltiples veces al día en sujetos con distintos grados de gingivitis o periodontitis (Mask, 2000; Lockhart y cols., 2009, 2012). Se ha demostrado que existe una fuerte asociación, entre la incidencia de bacteremia después del cepillado e índices severos de enfermedad periodontal (Lockhart y cols., 2009).

Los patógenos periodontales que circulan en sangre pueden depositarse en placas de ateroma (Lockhart y cols., 2012). Se ha demostrado en cultivos *in vitro* que *Porphyromonas gingivalis*, tiene la capacidad de invadir y adherirse a células endoteliales aórticas humanas e inducir una respuesta pro coagulante que podría contribuir al desarrollo de aterosclerosis (Dorn y cols., 1999; Roth y cols., 2006; Deng y cols., 2010). Del mismo modo, sujetos con IAM o muerte por enfermedad coronaria, son más frecuentemente seropositivos a *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* que aquellos controles sanos (Haraszthy y cols., 2000). Pese a esto, actualmente cultivar microorganismos viables desde ateromas humanos es difícil, de esta forma, se ha planteado que más que la presencia de

un microorganismo, la carga patogénica total puede ser un marcador de riesgo relevante que podría participar en el desarrollo de aterosclerosis (Weiss y cols., 1996; Zhu y cols., 2000; Hujoel y cols., 2001).

ii) Mimetismo molecular contra proteínas de shock térmico.

El mimetismo molecular ocurre cuando secuencias de péptidos propios y/o externos producen la activación cruzada de células B o T autorreactivas, las que pueden promover autoinmunidad o patología tisular (Kohm y cols., 2003). Se ha demostrado, que la activación cruzada de autoanticuerpos contra proteínas de shock térmico, podría ser una potencial explicación de la relación entre EP y ECV (Seymour y cols., 2007; Hernández Ríos P y cols., 2017).

Se ha planteado que el daño endotelial puede agravarse por una respuesta inmune a las proteínas de shock térmico de bacterias periodontopatógenas (Seymour y cols., 2007). Estudios en modelos experimentales promueven la hipótesis de que esta reacción cruzada, tiene un rol en acelerar el proceso de aterosclerosis (Nakashima y cols., 1994).

iii) Biomarcadores de inflamación sistémica.

La inflamación sistémica puede ser medida con diversos biomarcadores (Lockhart y cols., 2012). Un biomarcador muy bien estudiado es proteína C reactiva (PCR) (Megson y cols., 2010; Lockhart y cols., 2012). La PCR es un reactante de fase aguda sintetizado predominantemente por hepatocitos, y producido en respuesta a estímulos inflamatorios, traumas, infecciones, hipoxia y calor (Ebersole y Cappelli, 1984; Paquette y cols., 2007; Megson y cols., 2010). Las proteínas reactantes de fase aguda son un grupo de proteínas plasmáticas, funcional y estructuralmente heterogéneas, que varían sus concentraciones al estímulo de ciertas citoquinas que participan en procesos inflamatorios (Archana y cols., 2015). Los niveles de PCR aumentan sus concentraciones en suero dentro de las 24 a 48 horas luego de ocurrir un daño agudo en los tejidos, y disminuye al resolverse la inflamación

(Pepys, 1981; Shine y cols., 1981). La PCR es altamente estable en el plasma sanguíneo, tiene una prolongada vida media y al estar directamente involucrada en el aumento de la respuesta inmune innata, es una atractiva herramienta para visualizar inflamación sistémica (Ridker, 2003).

La PCR es reconocida por fosfocolina, un compuesto químico intermedio en la síntesis de fosfatidilcolina en los tejidos y presente en las membranas plasmáticas de células muertas y algunas bacterias. Al producirse un daño en la membrana plasmática, se expone fosfocolina y así se reconoce PCR, activando la cascada clásica del complemento mediante el factor C1q, caracterizado por formación de inmunocomplejos antígeno-anticuerpo. De esta manera, se promueve la fagocitosis, y simultáneamente se estimula la liberación de citoquinas proinflamatorias como interleukina-6, interleukina-1 y factor de necrosis tumoral α (Archana y cols., 2015; Nehring y Bhimji, 2017).

La PCR juega un rol esencial en la patogénesis de la aterosclerosis a través de diferentes mecanismos, tales como, la desregulación de la expresión de moléculas de adhesión producidas por células endoteliales, la inhibición de la síntesis del óxido nítrico endotelial, y el aumento de la expresión y actividad de la molécula inhibitoria del activador de plasminógeno (Okuda y cols., 2004; Pussinen y Matila, 2004; Chun y cols., 2005; Offenbacher y cols., 2005).

La Asociación Americana del corazón (*AHA*) ha definido categorías de riesgo cardiovascular de acuerdo con los niveles séricos de PCR de alta sensibilidad (hsPCR); de esta forma valores de PCR < 1.0 mg/L indican bajo riesgo de desarrollar ECV, valores entre 1.0 y 3.0 mg/L indican moderado riesgo y valores > 3.0 mg/L indican alto riesgo cardiovascular (Ridker y cols., 2007). Múltiples estudios han demostrado que los altos niveles séricos de PCR son un predictor independiente de un futuro evento cardiovascular en pacientes que se encuentran en aparente estado de salud (Beck y cols., 2000; Ridker, 2003; Mora y cols., 2006; Ridker y cols., 2008). Se ha evidenciado que hombres clínicamente sanos con altos niveles séricos de PCR, presentan tres veces más riesgo de tener un IAM y

dos veces más riesgo de tener un accidente cerebrovascular (Ridker y cols., 1997). Mientras que en mujeres, PCR es el más fuerte predictor de riesgo cardiovascular al ser comparado con otros biomarcadores séricos como haptoglobina, fibrinógeno y lipoproteína (Ridker y cols., 2000, 2002).

La inflamación periodontal también se asocia con el aumento de biomarcadores inflamatorios sistémicos como PCR (Cairo y cols., 2008; Higashi y cols., 2008; Paraskevas y cols., 2008). Diversos estudios han evaluado los niveles séricos de PCR en pacientes con periodontitis, y han demostrado una correlación positiva entre periodontitis y elevados niveles séricos de PCR (Tuter y cols., 2007; Haba y cols., 2011; Pradeep y cols., 2012). Además, existe evidencia que demuestra que la terapia periodontal puede reducir significativamente los niveles séricos de PCR en pacientes con periodontitis, llegando incluso a concluir que pacientes que clínicamente responden bien a la terapia periodontal, tienen 4 veces más probabilidades de reducir sus niveles séricos de PCR que aquellos que responden pobremente a la terapia (D' Aiuto y cols., 2004).

La PCR también ha sido detectada en el fluido gingival crevicular (FGC) (Megson y cols., 2010). El FGC es un trasudado derivado del suero que está presente en el surco gingival, que contiene moléculas producidas localmente y diversos componentes séricos (McCulloch, 1994; Megson y cols., 2010; Alrowis y cols., 2014). Debido a esto, muchos de los constituyentes del FGC, como PCR, son potenciales biomarcadores utilizados para evaluar el inicio y la progresión de las EP, y para correlacionar condiciones inflamatorias locales y el riesgo de desarrollar patologías sistémicas, tales como las ECV (Loss y Tjoa, 2005; Gupta, 2012).

La evidencia indica que los niveles de PCR en FGC son significativamente mayores en sujetos con periodontitis comparado a sujetos sanos (Kumari y cols., 2014; Zhang y cols., 2016). Pese a que previamente se ha descrito que el sexo femenino es un grupo de riesgo susceptible a desarrollar tanto EP como ECV, y que PCR es el más fuerte biomarcador inflamatorio utilizado para determinar

riesgo cardiovascular, existe escasa evidencia que evalúe la asociación entre los niveles de PCR en FGC y distintas condiciones periodontales en mujeres.

Debido a que las EP y las ECV son patologías con alta prevalencia en la población mundial, representando un potencial impacto en la salud pública, alterando la calidad de vida de los individuos y que además comparten un mecanismo patogénico común, es fundamental realizar investigaciones que asocien ambas condiciones de modo de proporcionar conocimiento que contribuya a la prevención de las ECV mediante el control de los factores de riesgo (Gamonal y cols., 1998, 2010; Kinane y Lowe, 2000; Beck y cols., 2000; Paquette y cols., 2007; Lockhart y cols., 2012).

3. HIPÓTESIS.

Los niveles de proteína C reactiva en el fluido gingival crevicular de mujeres adultas chilenas, son mayores en aquellas con periodontitis comparados con las que presentan salud periodontal, aumentando el nivel de riesgo cardiovascular en las primeras.

4. OBJETIVOS.

4.1 OBJETIVO GENERAL.

Asociar los niveles de proteína C reactiva en el fluido gingival crevicular con el estado periodontal y factores clásicos de riesgo cardiovascular de mujeres adultas chilenas menores de 45 años.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- a) Determinar y comparar los niveles de proteína C reactiva en el fluido gingival crevicular de mujeres adultas chilenas menores de 45 años, que asisten a la Clínica Odontológica de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, que presenten salud periodontal y periodontitis.
- b) Asociar los niveles de proteína C reactiva en el fluido gingival crevicular de mujeres adultas chilenas menores de 45 años, que asisten a la Clínica Odontológica de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, con el estado periodontal y otros factores clásicos de riesgo cardiovascular.

5. METODOLOGÍA.

1. Diseño.

Se realizó un estudio de tipo cuantitativo, analítico y de corte transversal.

2. Cálculo muestral.

El cálculo del tamaño muestral fue realizado considerando una diferencia en la media entre sujetos sanos y con periodontitis de los niveles de proteína C reactiva en fluido crevicular gingival, de 0.39 mg/L, con un poder estadístico de un 90%, un nivel de confianza de 99% y una desviación estándar de 0.16mg/L (Kumari y cols., 2014). Cada grupo debía estar compuesto por un "n" de al menos 4 individuos. El grupo sano estaba compuesto por 23 pacientes, y el grupo periodontitis por 17 pacientes.

3. Selección de muestra y población en estudio.

Se realizó una técnica de muestreo por conveniencia en la cual se reclutaron individuos que consultaban por atención dental en la Clínica Odontológica de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, que abarcó pacientes provenientes de diversos sectores de Santiago, entre los años 2017 y 2018. A los voluntarios que cumplieron con los criterios de inclusión se les invitó a participar del estudio y firmaron un consentimiento informado, previamente aprobado por el Comité Ético y Científico de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile (Anexo N° II).

Los criterios de inclusión fueron los siguientes: mujeres entre 18 y 44 años, que poseían al menos 12 dientes en boca. Se excluyeron aquellas pacientes diagnosticadas con enfermedades sistémicas, incluyendo historia de enfermedades cardiovasculares, aterosclerosis, hipertensión arterial, enfermedades inflamatorias agudas y diabetes; presencia lesión periapical

concomitante; embarazadas; así como mujeres bajo tratamiento antiinflamatorio, antibiótico o inmunomodulador dentro de los 6 meses previos al estudio.

El protocolo fue aprobado por el Comité Ético y Científico de la Facultad de Odontología de Universidad de Chile (Informe N° 2017/02), y la investigación se realizó de acuerdo a las normas establecidas por la legislación chilena vigente y la Declaración de Helsinki (Anexo N° III).

4. Examen y mediciones clínicas generales.

Se realizó una anamnesis clínica, cuyos datos fueron registrados en una ficha especialmente diseñada para el estudio (Anexo N° I). Ésta última incluyó datos auto-reportados relacionados con la edad, historia médica personal e historia familiar de enfermedad cardiovascular. En relación al hábito tabáquico, los pacientes fueron divididos en 2 categorías: no fumadores y fumadores actuales de tabaco en cualquiera de sus formas (cigarros, cigarrillos y pipas).

Se consignaron mediciones antropométricas y de presión arterial en las participantes, realizadas por un operador entrenado. El índice de masa corporal (IMC) se calculó en base al peso (kg) dividido por la altura al cuadrado. El IMC fue categorizado como normopeso ($IMC < 25 \text{ kg/m}^2$), sobrepeso ($25 < IMC < 30 \text{ kg/m}^2$) y obesidad ($IMC > 30 \text{ kg/m}^2$). Además, se realizaron 2 mediciones de presión arterial sanguínea (PA) luego de un descanso de 5 minutos al menos, en el brazo derecho de cada sujeto, en una posición sentada y utilizando un esfigmomanómetro manual. Los promedios de ambas mediciones fueron utilizados para la realización de los análisis estadísticos.

Se consignaron como pacientes hipertensos a aquellos que presentaron medidas de presión arterial sanguínea mayor que el valor normal aceptado (sistólica $> 139 \text{ mm Hg}$ y/o diastólica $> 89 \text{ mm Hg}$), durante los momentos de toma de presión arterial.

5. Examen y mediciones periodontales.

A todos los participantes se les realizó un examen clínico periodontal, el cual fue ejecutado por 3 investigadores previamente alineados.

Utilizando un espejo intraoral y una sonda periodontal manual Carolina del Norte (Hu-Friedy, Chicago, IL, USA), a cada individuo se le realizó un examen de boca completa donde se consignó el índice gingival (IG) (Loe H, 1967) en 4 sitios por diente (mesiovestibular, mediovestibular, distovestibular y mediolingual o palatino), así como el índice de sangrado del surco, la profundidad al sondaje (PS), la posición de la encía (PE) y nivel de inserción clínica (NIC) en 6 sitios por diente: mesiovestibular, mediovestibular, distovestibular; mesiolingual, mediolingual y distolingual o palatino.

El índice dicotómico de sangrado del surco (IS) se define como el porcentaje de sitios que sangran hasta 15 segundos después de introducir una sonda periodontal hasta el fondo del surco gíngivo-dentario (Muhlemann HR y Son S, 1971).

La profundidad al sondaje fue registrada como la distancia en milímetros desde el margen gingival hasta la base del surco gíngivo-dentario, y el nivel de inserción clínica se definió como la distancia en milímetros desde la unión amelo-cementaria hasta la base del surco gíngivo-dentario, con la punta de la sonda periodontal en posición paralela al eje mayor del diente.

Las mujeres fueron clasificadas según su estado periodontal en los siguientes grupos:

- Sanas: PS < 4mm, IG < 1.
- Periodontitis: ≥ 5 dientes con PS ≥ 4 mm y NIC ≥ 1 mm, IS > 20%.

Además, se solicitó un set de radiografías retroalveolares periapicales totales a cada una de las participantes del estudio, para identificar la presencia de reabsorción ósea marginal y descartar la existencia de lesiones periapicales.

Una vez realizado el diagnóstico, a cada paciente se le explicó su condición periodontal y el estado de su cavidad oral. En caso de requerir tratamiento odontológico, se le entregó una interconsulta a la especialidad correspondiente.

6. Alineación

Se realizó una alineación intra e interoperador de los dentistas que realizaron las mediciones periodontales, a través de pruebas de repetitividad que se efectuaron en una muestra de 20 personas. Los 20 sujetos fueron sometidos a 2 exámenes periodontales con 14 días de separación (Benguigui C y cols., 2010). En cada examinación se evaluaron los niveles de PS, NIC e IG, obteniéndose un kappa > al 80%.

7. Mediciones biológicas.

Un operador entrenado obtuvo las muestras de sangre en ayunas, de al menos 10 horas, de las participantes del estudio, a través de la punción venosa de la vena antecubital. Para ello, se aplicó un torniquete entre 1 a 2 pulgadas sobre la fosa antecubital. Luego de la antisepsia del sitio, la muestra fue tomada con una jeringa de aguja de calibre 24. El torniquete fue liberado a medida que comenzó el flujo de sangre. Luego de obtener 3 mL de sangre, se colocó una bola de algodón estéril en el sitio de punción, y la aguja se retiró. Se indicó a las participantes aplicar una leve presión digital en el sitio por unos minutos para evitar la salida de sangre.

Las muestras fueron enviadas al laboratorio del Hospital Clínico de la Universidad de Chile para las mediciones séricas de porcentaje de hemoglobina glicosilada (HbA1c), perfil lipídico (colesterol total, triglicéridos, lipoproteínas de alta y baja densidad) y niveles séricos de PCR.

Dislipidemia fue definida según la clasificación de *American Heart Association*, con valores de colesterol total > 200 mg/dL, LDL > 130 mg/dL, HDL < 35 mg/dL, triglicéridos > 150 mg/dL o una combinación de cada uno.

Los resultados de los exámenes sanguíneos fueron enviados al correo electrónico de cada paciente, indicando que si los valores estaban alterados, se recomendaba visitar a su médico tratante.

8. Muestras de fluido gingival crevicular.

Las muestras de FGC fueron obtenidas por 3 investigadores previamente alineados y se obtuvieron a partir de 4 sitios periodontales por cada participante: el sitio con la mayor PS de cada uno de los cuadrantes, en caso de las mujeres con periodontitis; y un sitio en cada cuadrante con PS<4 mm y sin sangrado al sondaje, en participantes sanas.

El método de recolección FGC se realizó de acuerdo a lo reportado en la literatura (Hernández M y cols., 2009). Luego de aislar el diente con tómulas de algodón, la placa supragingival se removió con curetas (Gracey, Hu-Friedy), sin tocar la encía marginal. El sitio crevicular fue secado suavemente con el aire de la jeringa triple proveniente del sillón dental. El FGC fue colectado con tiras de papel (PerioPaper™), colocadas en el surco o saco periodontal hasta sentir una leve resistencia, por 30 segundos. Las tiras contaminadas con sangre o saliva se excluyeron de las muestras.

El fluido fue eluido y almacenado a -20° C hasta su análisis. Los niveles de PCR se determinaron mediante ELISA comercial o inmunoensayo multiplex en una plataforma Luminex de acuerdo con las recomendaciones del fabricante. Los resultados se expresaron como miligramo de PCR por litro de elución.

9. Plan de análisis de los datos.

Se comenzó realizando un análisis exploratorio de datos, considerando el modelamiento de la base de datos en los casos de presencia de datos perdidos (“missing”) y “outliers”, de manera de ajustarla lo mejor posible con el fin de evitar sesgos y errores aleatorios.

La descripción de las variables de estudio se realizó a través de las medidas de frecuencia absoluta en el caso de las variables categóricas según corresponda: presencia o ausencia de periodontitis, tabaquismo, nivel educacional, hipertensión arterial y dislipidemia; medianas en el caso de la edad, IMC, hemoglobina glicosilada y niveles séricos de PCR. Para probar normalidad en las variables continuas se utilizó la prueba de Shapiro–Wilk.

Para el análisis bivariado se procedió a realizar pruebas estadísticas de t de Student no pareado (para variables continuas, en caso de distribuirse normal) o U de Mann Whitney, en caso de que las variables fueran no paramétricas. Para ver asociación entre variables categóricas se utilizó la prueba Chi cuadrado.

Para el análisis de magnitud de asociación del estado periodontal con niveles de PCR > 3 mg/mL en el FGC se procedió a la realización de un modelo de regresión logística múltiple, obteniéndose “Odds Ratio”. La magnitud de asociación entre PCR > 3mg/mL en FGC y niveles séricos de riesgo CV, se determinó mediante análisis bivariado y multivariado, ajustando por factores de RCV clásicos.

La información recopilada fue transcrita en una planilla de cálculo Excel para Windows® 2012 y para los análisis estadísticos se utilizó el Programa STATA®12.0.

6. RESULTADOS.

Todos los resultados se expresaron en mediana (recorrido intercuartílico) o en frecuencia absoluta (%).

La Tabla 1 muestra los parámetros demográficos, mediciones clínicas generales y parámetros hematológicos de las pacientes sanas (n=23) y con periodontitis (n=17). La edad fue mayor en el grupo con periodontitis comparado al grupo sano, con una diferencia estadísticamente significativa (p 0.01). Existe una diferencia estadísticamente significativa (p 0.03) en el nivel educacional entre ambos grupos, debido a que en el grupo con periodontitis las pacientes tenían educación media completa y superior, mientras que en el grupo sano solo habían pacientes con educación superior. El tabaquismo fue más frecuente en las pacientes sanas comparadas con el grupo periodontitis, sin diferencia estadísticamente significativa. El IMC del grupo con periodontitis fue mayor al IMC del grupo sano, con una diferencia estadísticamente significativa (p 0.04). La HTA fue mayor en las pacientes con periodontitis comparado a las pacientes sanas, con una diferencia estadísticamente significativa (p 0.03). Los valores de dislipidemia y HbA1c no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos. La PCR sérica fue mayor en el grupo periodontitis comparado al grupo sano, sin embargo, no presentaron diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 1. Parámetros demográficos, mediciones clínicas generales y características hematológicas de las pacientes sanas y periodontitis.

Variable	Sanos (n=23)	Periodontitis (n=17)	p
Edad (años)	24 (2)	29 (9)	0.01*
Nivel educacional	MC: 0 (0%) S: 23 (100%)	MC: 3 (17.6%) S: 14 (82.3%)	0.03*
Tabaquismo	6 (26%)	3 (17.6%)	0.57
IMC (kg/m ²)	21 (3)	24.5 (4.7)	0.04*

HTA	0 (0%)	3 (17.6%)	0.03*
Dislipidemia	6 (26.1%)	4 (23.5%)	0.85
HbA1c (%)	5.18 (0.13)	5.2 (0.3)	0.54
PCR sérica (mg/L)	1.7 (3.27)	2.27 (2.29)	0.98

MC: educación media completa. S: educación superior. IMC: índice de masa corporal. HTA: hipertensión arterial. HbA1c: hemoglobina glicosilada. PCR: proteína C reactiva. p : valor p . Los valores fueron expresados en mediana (recorrido intercuartílico) o en frecuencia absoluta (%). Todos los valores de p fueron aproximados al centésimo. * Valor p estadísticamente significativo: $p < 0.05$.

La Tabla 2 presenta los parámetros clínicos periodontales de los sitios evaluados para obtener las muestras de FGC en las pacientes sanas y con periodontitis. Todos los valores fueron mayores en el grupo con periodontitis comparado al grupo sano, con diferencias estadísticamente significativas (p 0.00).

Tabla 2. Parámetros clínicos periodontales de los sitios evaluados para obtener las muestras de FGC de las pacientes sanas y periodontitis: índice gingival (IG), sangrado al sondaje (SS), profundidad al sondaje (PS) y nivel de inserción clínica (NIC) promedios por paciente.

Variable	Sanos (n=23)	Periodontitis (n=17)	p
IG	0 (0.25)	1 (0.25)	0.00*
SS	0% (0%)	100% (25%)	0.00*
PS (mm)	2 (0.5)	4 (0.25)	0.00*
NIC (mm)	0.5 (0.5)	2 (0.75)	0.00*

IG: índice gingival. SS: sangrado al sondaje. PS: profundidad al sondaje. NIC: nivel de inserción clínica. mm: milímetros. p : valor p . Todos los valores fueron expresados en mediana (recorrido intercuartílico). Todos los valores de p fueron aproximados al centésimo. * Valor p estadísticamente significativo: $p < 0.05$.

Los niveles de PCR en FGC de las pacientes sanas y con periodontitis se muestran en la Tabla 3. Los niveles de PCR en FGC del grupo periodontitis fueron mayores comparados con los niveles de PCR en FGC del grupo sano, con una diferencia estadísticamente significativa (p 0.00).

Tabla 3. Niveles de proteína C reactiva (PCR) en FGC de las pacientes sanas y periodontitis.

Variable	Sanos (n=23)	Periodontitis (n=17)	p
PCR en FGC (mg/L)	1.27 (7.2)	11.3 (42.08)	0.00*

PCR: proteína C reactiva. FGC: fluido gingival crevicular. p : valor p . Todos los valores fueron expresados en mediana (recorrido intercuartílico). Todos los valores de p fueron aproximados al centésimo. * Valor p estadísticamente significativo: $p < 0.05$.

En la Tabla 4 se presenta la frecuencia de pacientes de los grupos sano y periodontitis con niveles de PCR en FGC > 3 mg/L. La frecuencia de pacientes con niveles elevados de PCR en FGC fue mayor en el grupo periodontitis comparado con el grupo sano, con una diferencia estadísticamente significativa (p 0.00).

Tabla 4. Frecuencia de pacientes de los grupos sanos y periodontitis con niveles elevados de PCR en FGC (> 3 mg/L).

Variable	Sanos (n=23)	Periodontitis (n=17)	p
Pacientes con PCR en FGC > 3 mg/L	8 (34.7%)	13 (76.5%)	0.00*

PCR: proteína C reactiva. FGC: fluido gingival crevicular. Todos los valores fueron expresados en frecuencia absoluta (%). Todos los valores de p fueron aproximados al centésimo. * Valor p estadísticamente significativo: $p < 0.05$.

En el análisis de regresión logística de la Tabla 5 se muestra la asociación entre altos niveles de PCR en FGC (> 3 mg/L), los parámetros clínicos periodontales (IG, SS, PS y NIC) y presentar periodontitis. Los parámetros clínicos periodontales no presentaron diferencias estadísticamente significativas. Se observó una

asociación significativa entre altos niveles de PCR en FGC y tener periodontitis (p 0.03, CI 1.19-36.31), demostrando que las pacientes con periodontitis tienen 6.57 veces más probabilidad de tener PCR en FGC > 3 mg/L.

Tabla 5. Asociación entre altos niveles de PCR en FGC, los parámetros clínicos periodontales y presentar periodontitis.

Variable	OR	p	95% CI
IG	0.89	0.79	0.4-2.0
SS	0.74	0.68	0.18-3.08
PS	1.33	0.30	0.77-2.29
NIC	0.69	0.10	0.43-1.08
Periodontitis	6.57	0.03*	1.19-36.31

IG: índice gingival. SS: sangrado al sondaje. PS: profundidad al sondaje. NIC: nivel de inserción clínica. OR: odds ratio. p : valor p . CI: Intervalo de confianza. Todos los valores de p fueron aproximados al centésimo. * Valor p estadísticamente significativo: $p < 0.05$.

En la Tabla 6 se presenta la asociación entre alto riesgo cardiovascular y niveles de PCR en FGC > 3 mg/L. El modelo¹ representa un análisis de regresión bivariado, indicando que las pacientes con niveles de PCR en FGC > 3 mg/L tienen 7.1 más probabilidad de presentar alto riesgo cardiovascular (p 0.01, CI 1.57-32.05). El modelo² representa un análisis de regresión multivariado, que indica que las pacientes con niveles de PCR en FGC > 3 mg/L tienen 6.48 veces más probabilidad de presentar alto riesgo cardiovascular (p 0.04, CI 1.05-39.66), ajustado a los clásicos factores de riesgo cardiovascular (edad, nivel educacional, tabaquismo, IMC, HTA, dislipidemia).

Tabla 6. Asociación entre alto riesgo cardiovascular y PCR en FGC > 3 mg/L.

Variable	OR	<i>p</i>	95% CI
Modelo ¹	7.11	0.01*	1.57-32.05
Modelo ²	6.48	0.04*	1.05-39.66

OR: odds ratio. *p*: valor *p*. CI: Intervalo de confianza. Todos los valores de *p* fueron aproximados al centésimo. * Valor *p* estadísticamente significativo: $p < 0.05$. Modelo¹: análisis de regresión bivariado, asociando altos niveles de PCR en FGC con alto riesgo cardiovascular. Modelo²: análisis de regresión multivariado, asociando altos niveles de PCR en FGC con alto riesgo cardiovascular, ajustado a los clásicos factores de riesgo cardiovascular.

7. DISCUSIÓN.

El objetivo de este estudio fue determinar los niveles de PCR en FGC de mujeres adultas chilenas menores de 45 años, y asociarlos con el estado periodontal y el nivel de riesgo cardiovascular.

Generalmente los estudios que evalúan los niveles de PCR en FGC incluyen a pacientes del sexo femenino y masculino (Baser y cols., 2014; Pradeep y cols., 2014; Zhang y cols., 2016). A diferencia de lo reportado en la literatura, en esta investigación fue minimizada la influencia del sexo al incluir solo a mujeres, debido las mujeres adultas chilenas tienen mayor riesgo de mortalidad intrahospitalaria por IAM en comparación a los hombres, independiente de la edad, y el riesgo cardiovascular aumenta en mujeres jóvenes al compararlas con hombres de la misma edad (Nazzal y Alonso, 2013); son un grupo susceptible a desarrollar periodontitis (Aguilera-Barreiro y cols., 2014; Araujo y cols., 2015; Martelli y cols., 2017); y existe escasa evidencia que evalúe la asociación entre ECV y periodontitis (Gamonal y cols., 1998, 2010; Kinane y Lowe, 2000; Beck y cols., 2000; Paquette y cols., 2007; Lockhart y cols., 2012).

La evidencia muestra que la destrucción de los tejidos periodontales, la pérdida de inserción clínica y la prevalencia de la periodontitis aumentan con la edad (Burt, 1994; Van der Velden, 1984; Gamonal y cols., 1998, 2010), por lo tanto, no es de extrañar que la edad de los pacientes con periodontitis fuera mayor en comparación al grupo sano, con una diferencia estadísticamente significativa.

Existe una diferencia estadísticamente significativa en el nivel educacional entre ambos grupos, debido a que el grupo con salud periodontal presentó más años de escolaridad (universitaria y técnica), mientras que el grupo con periodontitis incluyó individuos con educación media completa. Estos resultados concuerdan con lo publicado en otros estudios (Gamonal y cols., 1998, 2010; Vano y cols., 2014), lo que podría indicar que la periodontitis se asocia con menos años de escolaridad.

Existe clara evidencia que soporta que el hábito tabáquico influye negativamente en los tejidos periodontales (Chambrone y cols., 2013), aumentando entre dos y ocho veces más el riesgo de desarrollar periodontitis en comparación a los no fumadores (Palmer y cols., 2005; Johnson y Guthmiller, 2007). Un gran porcentaje de los pacientes de esta investigación eran fumadores. El consumo de sustancias de abuso en Chile parece estar comenzando desde edades cada vez más tempranas, siendo más probable el consumo de cigarrillos en estudiantes (Gaete y cols., 2016). La última Encuesta Nacional de Salud muestra que el consumo de cigarrillos aumenta con los años de escolaridad, indicando que con 12 o más años de estudio el 38,9% de la población es fumadora (MINSAL, 2016-2017). Es relevante destacar esto, ya que el comienzo de las ECV ocurre a edades tempranas, y el tabaquismo es uno de los factores de riesgo descritos (Paquette y cols., 2007; Castro y cols., 2012; Lockhart y cols., 2012).

En relación con las mediciones clínicas generales, llama la atención que el IMC a pesar de estar dentro de los valores normales de peso saludable (Deshpande y Amrutiya, 2017), fue mayor en el grupo periodontitis comparado con el grupo sano, con una diferencia estadísticamente significativa. Es importante mencionar que de acuerdo a los datos obtenidos en la última encuesta de salud en Chile, el 90% de la población femenina es sedentaria, el 36,4% tiene sobrepeso, y el 33,7% tiene obesidad (MINSAL, 2016-2017). Además, esto podría ser explicado sobre la base de que los pacientes con periodontitis presentarían hábitos de higiene oral, alimenticios y/o estilos de vida menos saludables en comparación con los pacientes sanos. Por otro lado, pese a que se ha reportado una asociación entre HTA y periodontitis, no existe evidencia suficiente para considerarla como factor de riesgo (Martín-Cabezas y cols., 2016). En este estudio, al medir la presión arterial, tres pacientes con periodontitis presentaron niveles de presión arterial por sobre los valores normales, existiendo así una diferencia estadísticamente significativa en comparación al grupo sano. Esto podría ser explicado debido a un aumento del estrés y ansiedad durante el procedimiento, o a que las cifras tensionales se asocian con una condición sistémica subclínica que aún no había sido diagnosticada (Mask, 2000; Baser y cols., 2014).

La PCR es uno de los biomarcadores inflamatorios presentes en el FGC (Loss y Tjoa, 2005; Gupta, 2012), y el más fuerte predictor de riesgo cardiovascular en mujeres (Ridker y cols., 2000, 2002). Al determinar los niveles de PCR en FGC de pacientes sanos y con periodontitis, los resultados de esta investigación son concordantes con la literatura (Kumari y cols., 2014; Pradeep y cols., 2014; Kinney y cols., 2014; Zhang y cols., 2016; Duzagac y cols., 2016), demostrando que los niveles de PCR en FGC son mayores en los pacientes con periodontitis comparados con los que presentan salud periodontal, con una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.00$). Los mayores niveles de PCR en el FGC de los pacientes con periodontitis podrían ser explicados por: i) en condiciones inflamatorias locales los volúmenes de FGC aumentan significativamente, aumentando también las concentraciones de PCR (Lamster y Ahlo, 2007); ii) pese a que PCR es sintetizada predominantemente por hepatocitos, estudios han demostrado que existe una producción extra hepática de PCR en los tejidos periodontales, particularmente en linfocitos, macrófagos, células endoteliales y fibroblastos de ligamento periodontal, los cuales secretan PCR al FGC (Megson y cols., 2010; Pejsic y cols., 2011; Hernández-Caldera y cols., 2017); iii) la existencia de una condición inflamatoria sistémica subclínica que aún no es diagnosticada (Mask, 2000; Baser y cols., 2014).

Múltiples investigaciones han establecido una correlación positiva y significativa entre las concentraciones de PCR en suero y en FGC (Pradeep y cols., 2010, 2012; Karla y cols., 2013; Priyanka y cols., 2013; Kumari y cols., 2014) de pacientes sanos y con periodontitis. Se clasificaron a los pacientes con elevados niveles de PCR en FGC (> 3 mg/L). La frecuencia de pacientes con altos niveles de PCR en FGC fue mayor en el grupo periodontitis comparado con el grupo sano, con una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.00$). Sobre la base de nuestros resultados y en línea con la literatura, los niveles de PCR en FGC son un reflejo del estado periodontal (Sander y cols., 2009; Pradeep y cols., 2010, 2012; Karla y cols., 2013; Priyanka y cols., 2013; Kumari y cols., 2014; Kinney y cols., 2014). Sin embargo, el rol de PCR en la periodontitis no está claro (Baser y cols., 2014). Un estudio propuso que PCR puede mejorar selectivamente la actividad

microbicida de monocitos y neutrófilos dentro de sitios inflamados al amplificar la generación intracelular de especies reactivas de oxígeno, sin aumentar el daño a los tejidos normales circundantes (Zeller y Sullivan, 1992). Otros estudios plantean que los niveles de PCR en FGC y en los tejidos periodontales provienen de un origen sistémico (Mask, 2000; Baser y cols., 2014), sin embargo los estudios recientes han demostrado también un origen local en el periodonto (Hernández-Caldera y cols., 2017).

Para determinar la fuerza de asociación entre los altos niveles de PCR en FGC (> 3 mg/L) y los parámetros clínicos, se realizó un análisis de regresión logística multivariado. No se encontró una asociación significativa entre los altos niveles de PCR en FGC y los parámetros periodontales individuales. Estos resultados podrían explicarse por: i) cada parámetro clínico al ser evaluado de forma individual no es suficiente para establecer una asociación con altos niveles de PCR en FGC; ii) la muestra poblacional no es suficiente para establecer la fuerza de asociación con diferencias significativas; iii) los mayores niveles locales de PCR no sólo están determinados por la inflamación local, sino que provienen de un origen sistémico (Mask, 2000; Baser y cols., 2014). Los estudios que asocian positivamente los parámetros clínicos y altos niveles de PCR en FGC emplean metodologías distintas a la aplicada en esta investigación, utilizando test de Spearman y/o de Pearson, y no análisis de regresión múltiple (Kumari y cols., 2014; Zhang y cols., 2016).

Al evaluar la asociación niveles de PCR en FGC > 3 mg/L y presentar periodontitis, al igual que la evidencia científica (Sander y cols., 2009; Kinney y cols., 2014), los resultados de este estudio indican que existe una asociación significativa entre los altos niveles de PCR en FGC y tener periodontitis, demostrando que las pacientes con periodontitis tienen 6.57 veces más probabilidad de tener mayores niveles de PCR en FGC. Sobre estos resultados se puede interpretar que los altos niveles de PCR en FGC dependen fundamentalmente del estado periodontal.

El nivel de riesgo cardiovascular de los individuos se determinó a través de los valores de PCR en suero, utilizando el valor corte de PCR > 3 mg/L para definir alto riesgo cardiovascular, en línea con las recomendaciones de la AHA (Ridker y cols., 2007). Las pacientes con niveles de PCR en FGC > 3 mg/L tienen 7.11 veces más probabilidad de tener alto riesgo cardiovascular (p 0.01, CI 1.57-32.05). Al ajustar a los clásicos factores de riesgo cardiovascular, las pacientes con altos niveles de PCR en FGC tienen 6.48 veces más probabilidad de tener alto riesgo cardiovascular (p 0.04, CI 1.05-39.66). De esta manera, las condiciones inflamatorias locales características de la periodontitis, podrían tener un rol importante en el aumento de la inflamación sistémica y consecutivamente favorecer el inicio y la progresión del proceso de aterosclerosis, llegando a causar catástrofes clínicas como IAM o accidentes cerebrovasculares. Recíprocamente, el estado inflamatorio sistémico podría exacerbar los cuadros inflamatorios locales provocados por la presencia de placa bacteriana, favoreciendo la respuesta inmuno-inflamatoria provocada por la periodontitis (Lockhart y cols., 2012).

Actualmente, el tratamiento de las ECV está enfocado fundamentalmente en la prevención de los factores de riesgo (MINSAL, 2011). Existen condiciones que determinan un alto riesgo cardiovascular, tales como: haber presentado un evento cardiovascular hace menos de 6 meses, dislipidemia severa, diabetes mellitus, enfermedad renal crónica e hipertensión arterial refractaria (MINSAL, 2011). Pese a que los factores de riesgo son los mismos en hombres y mujeres, se ha evidenciado que antecedentes de preeclampsia, diabetes gestacional, hipertensión inducida por el embarazo y menopausia, se asocian a un aumento del riesgo cardiovascular en mujeres (MINSAL, 2011; Simões-Wust y cols., 2014). Considerando que en esta investigación se demostró que en mujeres menores de 45 años los niveles de PCR en FGC son mayores en aquellas con periodontitis comparado a las que presentan salud periodontal, y a su vez presentar altos niveles de PCR en FGC se asocian significativamente con alto riesgo cardiovascular en la población estudiada, sería relevante gestionar la realización de políticas públicas que incluyan un protocolo odontológico que considere el

diagnóstico precoz y el tratamiento oportuno de la periodontitis en el enfoque terapéutico de las ECV de mujeres adultas menores de 45 años. Existe evidencia que sustenta que tanto los niveles de PCR en suero como en FGC disminuyen significativamente luego de la terapia periodontal (Pradeep y cols., 2012; Kinney y cols., 2014), y de esta forma, el manejo terapéutico de la condición periodontal puede prevenir el inicio y la progresión de enfermedades que inducen aterosclerosis (Paquette y cols., 2007).

Del mismo modo, debido a que los altos niveles de PCR en FGC se asociaron significativamente con un aumentado nivel de riesgo cardiovascular, sería novedoso utilizar el FGC como una herramienta diagnóstica no invasiva para reflejar el estado sistémico y determinar el nivel de riesgo cardiovascular de mujeres adultas chilenas menores de 45 años.

Este es el primer estudio que evalúa la asociación entre el nivel de riesgo cardiovascular y los niveles de PCR en FGC de mujeres adultas chilenas con salud periodontal y periodontitis. Una limitación de esta investigación es el pequeño tamaño de la muestra. Es necesario fomentar la realización de estudios longitudinales con un mayor tamaño muestral para confirmar los hallazgos de esta investigación.

8. CONCLUSIÓN.

Las mujeres adultas chilenas menores de 45 años incluidas en esta investigación que presentan periodontitis tienen mayores niveles de PCR en el FGC comparado a las que presentan salud periodontal, y existe una asociación significativa entre niveles elevados de PCR en el FGC y alto riesgo cardiovascular. Sería interesante utilizar el FGC como un método diagnóstico no invasivo para determinar el nivel de riesgo cardiovascular. Es necesario realizar estudios con una muestra más grande y heterogénea, y evaluar la asociación entre los distintos estadios periodontales (salud, gingivitis y periodontitis) y el nivel de riesgo cardiovascular, para confirmar los hallazgos de esta investigación y poder extrapolar los datos a la población general, con el objetivo de gestionar la realización de políticas públicas que consideren el diagnóstico precoz y tratamiento oportuno de las EP en el enfoque preventivo/terapéutico de las ECV.

9. BIBLIOGRAFÍA.

Abnet, C. C., Qiao, Y. L., Dawsey, S. M., Dong, Z. W., Taylor, P. R., & Mark, S. D. (2005). Tooth loss is associated with increased risk of total death and death from upper gastrointestinal cancer, heart disease, and stroke in a Chinese population-based cohort. *Int J Epidemiol*, 34(2), 467-474.

Aguilera-Barreiro de, L. A., Davalos-Vazquez, K. F., Jimenez-Mendez, C., Jimenez-Mendoza, D., Olivarez-Padron, L. A., & Rodriguez-Garcia, M. E. (2014). The relationship of nutritional status, body and mandibular bone mineral density, tooth loss and fracture risk (FRAX) in pre-and postmenopausal women with periodontitis. *Nutr Hosp*, 29(6), 1419-1426.

AlRowis, R., AlMoharib, H. S., AlMubarak, A., Bhaskardoss, J., Preethanath, R. S., & Anil, S. (2014). Oral fluid-based biomarkers in periodontal disease - part 2. Gingival crevicular fluid. *J Int Oral Health*, 6(5), 126-135.

Araujo, V. M., Melo, I. M., & Lima, V. (2015). Relationship between Periodontitis and Rheumatoid Arthritis: Review of the Literature. *Mediators Inflamm*, 2015, 259074.

Archana, V., Ambili, R., Nisha, K.J., Seba, A., & Preeja, C. (2015). Acute-phase reactants in periodontal disease: current concepts and future implications. *Journal of investigative and clinical dentistry*, 6 2, 108-17.

Armitage, G. C. (1995). Clinical evaluation of periodontal diseases. *Periodontol 2000*, 7, 39-53.

Armitage, G. C. (2004). Periodontal diagnoses and classification of periodontal diseases. *Periodontol 2000*, 34, 9-21.

Baser, U., Oztekin, G., Ademoglu, E., Isik, G., & Yalcin, F. (2014). Is the severity of periodontitis related to gingival crevicular fluid and serum high-sensitivity C-reactive protein concentrations? *Clin Lab*, 60(10), 1653-1658.

- Beck, J. D., Slade, G., & Offenbacher, S. (2000). Oral disease, cardiovascular disease and systemic inflammation. *Periodontol 2000*, 23, 110-120.
- Beck, J., Garcia, R., Heiss, G., Vokonas, P. S., & Offenbacher, S. (1996). Periodontal disease and cardiovascular disease. *J Periodontol*, 67(10 Suppl), 1123-1137.
- Benguigui, C., Bongard, V., Ruidavets, J. B., Chamontin, B., Sixou, M., Ferrieres, J., et al. (2010). Metabolic syndrome, insulin resistance, and periodontitis: a cross-sectional study in a middle-aged French population. *J Clin Periodontol*, 37(7), 601-608.
- Borrell, L. N., & Papapanou, P. N. (2005). Analytical epidemiology of periodontitis. *J Clin Periodontol*, 32 Suppl 6, 132-158.
- Burt, B. (2005). Position paper: epidemiology of periodontal diseases. *J Periodontol*, 76(8), 1406-1419.
- Burt, B. A. (1994). Periodontitis and aging: reviewing recent evidence. *J Am Dent Assoc*, 125(3), 273-279.
- Cairo, F., Castellani, S., Gori, A. M., Nieri, M., Baldelli, G., Abbate, R., et al. (2008). Severe periodontitis in young adults is associated with sub-clinical atherosclerosis. *J Clin Periodontol*, 35(6), 465-472.
- Castro, M., Delgado, T., Fernández, Á., Murillo, N., Ortiz, A., Rosso, H., et al. (2016). DETECCIÓN DE FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR EN ADOLESCENTES QUE ASISTEN A ENSEÑANZA SECUNDARIA PÚBLICA DE MONTEVIDEO. *Enfermería: Cuidados Humanizados*(2), 85-93%V 81.
- Cetinkaya, B., Guzeldemir, E., Ogus, E., & Bulut, S. (2013). Proinflammatory and anti-inflammatory cytokines in gingival crevicular fluid and serum of patients with rheumatoid arthritis and patients with chronic periodontitis. *J Periodontol*, 84(1), 84-93.

- Chambrone, L., Preshaw, P. M., Rosa, E. F., Heasman, P. A., Romito, G. A., Pannuti, C. M., et al. (2013). Effects of smoking cessation on the outcomes of non-surgical periodontal therapy: a systematic review and individual patient data meta-analysis. *J Clin Periodontol*, 40(6), 607-615.
- Chun, Y. H., Chun, K. R., Olguin, D., & Wang, H. L. (2005). Biological foundation for periodontitis as a potential risk factor for atherosclerosis. *J Periodontal Res*, 40(1), 87-95.
- Cybulsky, M. I., & Gimbrone, M. A., Jr. (1991). Endothelial expression of a mononuclear leukocyte adhesion molecule during atherogenesis. *Science*, 251(4995), 788-791.
- Cybulsky, M. I., Iiyama, K., Li, H., Zhu, S., Chen, M., Iiyama, M., et al. (2001). A major role for VCAM-1, but not ICAM-1, in early atherosclerosis. *J Clin Invest*, 107(10), 1255-1262.
- D'Aiuto, F., Ready, D., & Tonetti, M. S. (2004). Periodontal disease and C-reactive protein-associated cardiovascular risk. *J Periodontal Res*, 39(4), 236-241.
- Deng, H., Wu, Y. F., Ding, Y., Miao, D., Gao, L., & Guo, S. J. (2010). [Invasion of four common periodontal pathogens into vascular endothelial cells in vitro]. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*, 45(4), 203-206.
- Deshpande, N. C., & Amrutiya, M. R. (2017). Obesity and oral health - Is there a link? An observational study. *J Indian Soc Periodontol*, 21(3), 229-233.
- Dorn, B. R., Dunn, W. A., Jr., & Progulske-Fox, A. (1999). Invasion of human coronary artery cells by periodontal pathogens. *Infect Immun*, 67(11), 5792-5798.
- Duzagac, E., Cifcibasi, E., Erdem, M. G., Karabey, V., Kasali, K., Badur, S., et al. (2016). Is obesity associated with healing after non-surgical periodontal therapy? A local vs. systemic evaluation. *J Periodontal Res*, 51(5), 604-612.

Ebersole, J. L., & Cappelli, D. (2000). Acute-phase reactants in infections and inflammatory diseases. *Periodontol 2000*, 23, 19-49.

Falk, E., Shah, P. K., & Fuster, V. (1995). Coronary plaque disruption. *Circulation*, 92(3), 657-671.

Gaete, J., Olivares, E., Rojas-Barahona, C. A., Rengifo, M. J., Labbé, N., Lepe, L., et al. (2016). Consumo de tabaco y alcohol en adolescentes de 10 a 14 años de la ciudad de San Felipe, Chile: prevalencia y factores asociados. *Revista médica de Chile*, 144, 465-475.

Gamonal, J. A., Lopez, N. J., & Aranda, W. (1998). Periodontal conditions and treatment needs, by CPITN, in the 35-44 and 65-74 year-old population in Santiago, Chile. *Int Dent J*, 48(2), 96-103.

Gamonal, J., Mendoza, C., Espinoza, I., Munoz, A., Urzua, I., Aranda, W., et al. (2010). Clinical attachment loss in Chilean adult population: First Chilean National Dental Examination Survey. *J Periodontol*, 81(10), 1403-1410.

Gerszten, R. E., Garcia-Zepeda, E. A., Lim, Y. C., Yoshida, M., Ding, H. A., Gimbrone, M. A., Jr., et al. (1999). MCP-1 and IL-8 trigger firm adhesion of monocytes to vascular endothelium under flow conditions. *Nature*, 398(6729), 718-723.

Gonzalez Navarro, B., Jane Salas, E., Estrugo Devesa, A., Lopez Lopez, J., & Vinas, M. (2017). Bacteremia Associated With Oral Surgery: A Review. *J Evid Based Dent Pract*, 17(3), 190-204.

Greenland, P., Knoll, M. D., Stamler, J., Neaton, J. D., Dyer, A. R., Garside, D. B., et al. (2003). Major risk factors as antecedents of fatal and nonfatal coronary heart disease events. *Jama*, 290(7), 891-897.

- Gupta, G. (2012). Gingival crevicular fluid as a periodontal diagnostic indicator--I: Host derived enzymes and tissue breakdown products. *J Med Life*, 5(4), 390-397.
- Haba, D., Teslaru, S., Ungureanu, D., Hodorog, D., Alecu, C., Benghiac, A. G., et al. (2011). Evaluation of serum and gingival crevicular fluid C-reactive protein and IL-6 levels in patients with periodontitis and transient ischemic attacks. *Rom J Morphol Embryol*, 52(4), 1243-1247.
- Haraszthy, V. I., Zambon, J. J., Trevisan, M., Zeid, M., & Genco, R. J. (2000). Identification of periodontal pathogens in atheromatous plaques. *J Periodontol*, 71(10), 1554-1560.
- Hernandez-Caldera, A., Vernal, R., Paredes, R., Veloso-Matta, P., Astorga, J., & Hernandez, M. (2017). Human periodontal ligament fibroblasts synthesize C-reactive protein and Th-related cytokines in response to interleukin (IL)-6 transsignalling. *Int Endod J*.
- Hernandez Rios, M., Sorsa, T., Obregon, F., Tervahartiala, T., Valenzuela, M. A., Pozo, P., et al. (2009). Proteolytic roles of matrix metalloproteinase (MMP)-13 during progression of chronic periodontitis: initial evidence for MMP-13/MMP-9 activation cascade. *J Clin Periodontol*, 36(12), 1011-1017.
- Hernandez-Rios, P., Pussinen, P. J., Vernal, R., & Hernandez, M. (2017). Oxidative Stress in the Local and Systemic Events of Apical Periodontitis. *Front Physiol*, 8, 869.
- Higashi, Y., Goto, C., Jitsuiki, D., Umemura, T., Nishioka, K., Hidaka, T., et al. (2008). Periodontal infection is associated with endothelial dysfunction in healthy subjects and hypertensive patients. *Hypertension*, 51(2), 446-453.
- Hujoel, P. P., Drangsholt, M. T., Spiekerman, C., & DeRouen, T. A. (2001). Periodontal disease and risk of coronary heart disease. *Jama*, 285(1), 40-41.

- Hujoel, P. P., White, B. A., Garcia, R. I., & Listgarten, M. A. (2001). The dentogingival epithelial surface area revisited. *J Periodontal Res*, 36(1), 48-55.
- Hung, H. C., Joshipura, K. J., Colditz, G., Manson, J. E., Rimm, E. B., Speizer, F. E., et al. (2004). The association between tooth loss and coronary heart disease in men and women. *J Public Health Dent*, 64(4), 209-215.
- Hyman, J. (2006). The importance of assessing confounding and effect modification in research involving periodontal disease and systemic diseases *J Clin Periodontol* (Vol. 33, pp. 102-103). United States.
- Johnson, G. K., & Guthmiller, J. M. (2007). The impact of cigarette smoking on periodontal disease and treatment. *Periodontol 2000*, 44, 178-194.
- Kalra, N., Pradeep, A. R., Priyanka, N., & Kumari, M. (2013). Association of stem cell factor and high-sensitivity C reactive protein concentrations in crevicular fluid and serum in patients with chronic periodontitis with and without type 2 diabetes. *J Oral Sci*, 55(1), 57-62.
- Kannel, W. B. (1983). High-density lipoproteins: epidemiologic profile and risks of coronary artery disease. *Am J Cardiol*, 52(4), 9b-12b.
- Kinane, D. F., & Lowe, G. D. (2000). How periodontal disease may contribute to cardiovascular disease. *Periodontol 2000*, 23, 121-126.
- Kinney, J. S., Morelli, T., Oh, M., Braun, T. M., Ramseier, C. A., Sugai, J. V., et al. (2014). Crevicular fluid biomarkers and periodontal disease progression. *J Clin Periodontol*, 41(2), 113-120.
- Kohm, A. P., Fuller, K. G., & Miller, S. D. (2003). Mimicking the way to autoimmunity: an evolving theory of sequence and structural homology. *Trends Microbiol*, 11(3), 101-105.

- Kumari, M., Pradeep, A. R., Priyanka, N., Kalra, N., & Naik, S. B. (2014). Crevicular and serum levels of monocyte chemoattractant protein-4 and high-sensitivity C-reactive protein in periodontal health and disease. *Arch Oral Biol*, 59(6), 645-653.
- Lamster, I. B., & Ahlo, J. K. (2007). Analysis of gingival crevicular fluid as applied to the diagnosis of oral and systemic diseases. *Ann N Y Acad Sci*, 1098, 216-229.
- Libby, P. (2006). Inflammation and cardiovascular disease mechanisms. *Am J Clin Nutr*, 83(2), 456s-460s.
- Libby, P., Ridker, P. M., & Maseri, A. (2002). Inflammation and atherosclerosis. *Circulation*, 105(9), 1135-1143.
- Lockhart, P. B., Bolger, A. F., Papapanou, P. N., Osinbowale, O., Trevisan, M., Levison, M. E., et al. (2012). Periodontal disease and atherosclerotic vascular disease: does the evidence support an independent association?: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*, 125(20), 2520-2544.
- Lockhart, P. B., Brennan, M. T., Thornhill, M., Michalowicz, B. S., Noll, J., Bahrani-Mougeot, F. K., et al. (2009). Poor oral hygiene as a risk factor for infective endocarditis-related bacteremia. *J Am Dent Assoc*, 140(10), 1238-1244.
- Loe, H. (1967). The Gingival Index, the Plaque Index and the Retention Index Systems. *J Periodontol*, 38(6), Suppl:610-616.
- Loos, B. G. (2005). Systemic markers of inflammation in periodontitis. *J Periodontol*, 76(11 Suppl), 2106-2115.
- Loos, B. G., & Tjoa, S. (2005). Host-derived diagnostic markers for periodontitis: do they exist in gingival crevice fluid? *Periodontol 2000*, 39, 53-72.

Loos, B. G., Craandijk, J., Hoek, F. J., Wertheim-van Dillen, P. M., & van der Velden, U. (2000). Elevation of systemic markers related to cardiovascular diseases in the peripheral blood of periodontitis patients. *J Periodontol*, *71*(10), 1528-1534.

Martelli, M. L., Brandi, M. L., Martelli, M., Nobili, P., Medico, E., & Martelli, F. (2017). Periodontal disease and women's health. *Curr Med Res Opin*, *33*(6), 1005-1015.

Martin-Cabezas, R., Seelam, N., Petit, C., Agossa, K., Gaertner, S., Tenenbaum, H., et al. (2016). Association between periodontitis and arterial hypertension: A systematic review and meta-analysis. *Am Heart J*, *180*, 98-112.

Mask, A. G., Jr. (2000). Medical management of the patient with cardiovascular disease. *Periodontol 2000*, *23*, 136-141.

McCulloch, C. A. (1994). Host enzymes in gingival crevicular fluid as diagnostic indicators of periodontitis. *J Clin Periodontol*, *21*(7), 497-506.

Megson, E., Fitzsimmons, T., Dharmapatni, K., & Bartold, P. M. (2010). C-reactive protein in gingival crevicular fluid may be indicative of systemic inflammation. *J Clin Periodontol*, *37*(9), 797-804.

Meurman, J. H., Sanz, M., & Janket, S. J. (2004). Oral health, atherosclerosis, and cardiovascular disease. *Crit Rev Oral Biol Med*, *15*(6), 403-413.

Ministerio de Salud. Enfoque de riesgo para la prevención de enfermedades cardiovasculares. Santiago, Chile. Consenso 2014.

Ministerio de Salud. Encuesta Nacional de Salud. Santiago, Chile. 2016-2017.

Mora, S., & Ridker, P. M. (2006). Justification for the Use of Statins in Primary Prevention: an Intervention Trial Evaluating Rosuvastatin (JUPITER)--can C-reactive protein be used to target statin therapy in primary prevention? *Am J Cardiol*, *97*(2a), 33a-41a.

- Muhlemann, H. R., & Son, S. (1971). Gingival sulcus bleeding--a leading symptom in initial gingivitis. *Helv Odontol Acta*, 15(2), 107-113.
- Nakashima, Y., Plump, A. S., Raines, E. W., Breslow, J. L., & Ross, R. (1994). ApoE-deficient mice develop lesions of all phases of atherosclerosis throughout the arterial tree. *Arterioscler Thromb*, 14(1), 133-140.
- Nazzari, C., & Alonso, F. T. (2013). Las mujeres jóvenes en Chile tienen elevado riesgo de muerte intrahospitalaria por infarto de miocardio. *Revista Española de Cardiología*, 66(2), 104-109.
- Nehring, S.M., & Bhimji, S. S. (2018). C Reactive Protein (CRP) *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing Stat Pearls LLC.
- Offenbacher, S., Elter, J. R., Lin, D., & Beck, J. D. (2005). Evidence for periodontitis as a tertiary vascular infection. *J Int Acad Periodontol*, 7(2), 39-48.
- Okuda, K., Kato, T., & Ishihara, K. (2004). Involvement of periodontopathic biofilm in vascular diseases. *Oral Dis*, 10(1), 5-12.
- Palmer, R. M., Wilson, R. F., Hasan, A. S., & Scott, D. A. (2005). Mechanisms of action of environmental factors--tobacco smoking. *J Clin Periodontol*, 32 Suppl 6, 180-195.
- Paquette, D. W. (2004). The periodontal-cardiovascular link. *Compend Contin Educ Dent*, 25(9), 681-682, 685-692; quiz 694.
- Paquette, D. W., Brodala, N., & Nichols, T. C. (2007). Cardiovascular disease, inflammation, and periodontal infection. *Periodontol 2000*, 44, 113-126.
- Paraskevas, S., Huizinga, J. D., & Loos, B. G. (2008). A systematic review and meta-analyses on C-reactive protein in relation to periodontitis. *J Clin Periodontol*, 35(4), 277-290.

- Peacock, M. E., & Carson, R. E. (1995). Frequency of self-reported medical conditions in periodontal patients. *J Periodontol*, 66(11), 1004-1007.
- Pejicic, A., Kesic, L. J., & Milasin, J. (2011). C-reactive protein as a systemic marker of inflammation in periodontitis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 30(3), 407-414.
- Pepys, M. B. (1981). C-reactive protein fifty years on. *Lancet*, 1(8221), 653-657.
- Pradeep, A. R., Manjunath, R. G., & Kathariya, R. (2010). Progressive periodontal disease has a simultaneous incremental elevation of gingival crevicular fluid and serum CRP levels. *J Investig Clin Dent*, 1(2), 133-138.
- Pradeep, A. R., Martande, S. S., Singh, S. P., Suke, D. K., Raju, A. P., & Naik, S. B. (2014). Correlation of human S100A12 (EN-RAGE) and high-sensitivity C-reactive protein as gingival crevicular fluid and serum markers of inflammation in chronic periodontitis and type 2 diabetes. *Inflamm Res*, 63(4), 317-323.
- Pradeep, A. R., Priyanka, N., Prasad, M. V., Kalra, N., & Kumari, M. (2012). Association of progranulin and high sensitivity CRP concentrations in gingival crevicular fluid and serum in chronic periodontitis subjects with and without obesity. *Dis Markers*, 33(4), 207-213.
- Priyanka, N., Kumari, M., Kalra, N., Arjun, P., Naik, S. B., & Pradeep, A. R. (2013). Crevicular fluid and serum concentrations of progranulin and high sensitivity CRP in chronic periodontitis and type 2 diabetes. *Dis Markers*, 35(5), 389-394.
- Pussinen, P. J., & Mattila, K. (2004). Periodontal infections and atherosclerosis: mere associations? *Curr Opin Lipidol*, 15(5), 583-588.
- Ridker, P. M. (2003). Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation*, 107(3), 363-369.

Ridker, P. M., Cushman, M., Stampfer, M. J., Tracy, R. P., & Hennekens, C. H. (1997). Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med*, *336*(14), 973-979.

Ridker, P. M., Danielson, E., Fonseca, F. A., Genest, J., Gotto, A. M., Jr., Kastelein, J. J., et al. (2008). Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein. *N Engl J Med*, *359*(21), 2195-2207.

Ridker, P. M., Hennekens, C. H., Buring, J. E., & Rifai, N. (2000). C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med*, *342*(12), 836-843.

Ridker, P. M., Rifai, N., Rose, L., Buring, J. E., & Cook, N. R. (2002). Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med*, *347*(20), 1557-1565.

Roger, V. L., Go, A. S., Lloyd-Jones, D. M., Benjamin, E. J., Berry, J. D., Borden, W. B., et al. (2012). Heart disease and stroke statistics--2012 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*, *125*(1), e2-e220.

Roth, G. A., Moser, B., Huang, S. J., Brandt, J. S., Huang, Y., Papapanou, P. N., et al. (2006). Infection with a periodontal pathogen induces procoagulant effects in human aortic endothelial cells. *J Thromb Haemost*, *4*(10), 2256-2261.

Sanders, A. E., Slade, G. D., Fitzsimmons, T. R., & Bartold, P. M. (2009). Physical activity, inflammatory biomarkers in gingival crevicular fluid and periodontitis. *J Clin Periodontol*, *36*(5), 388-395.

Scannapieco, F. A., Bush, R. B., & Paju, S. (2003). Associations between periodontal disease and risk for atherosclerosis, cardiovascular disease, and stroke. A systematic review. *Ann Periodontol*, *8*(1), 38-53.

Sever, P. S., Dahlof, B., Poulter, N. R., Wedel, H., Beevers, G., Caulfield, M., et al. (2004). Prevention of coronary and stroke events with atorvastatin in hypertensive patients who have average or lower-than-average cholesterol concentrations, in

- the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial--Lipid Lowering Arm (ASCOT-LLA): a multicentre randomised controlled trial. *Drugs*, 64 Suppl 2, 43-60.
- Seymour, G. J., Ford, P. J., Cullinan, M. P., Leishman, S., & Yamazaki, K. (2007). Relationship between periodontal infections and systemic disease. *Clin Microbiol Infect*, 13 Suppl 4, 3-10.
- Shine, B., de Beer, F. C., & Pepys, M. B. (1981). Solid phase radioimmunoassays for human C-reactive protein. *Clin Chim Acta*, 117(1), 13-23.
- Simoes-Wust, A. P., Kummeling, I., Mommers, M., Huber, M. A., Rist, L., van de Vijver, L. P., et al. (2014). Influence of alternative lifestyles on self-reported body weight and health characteristics in women. *Eur J Public Health*, 24(2), 321-327.
- Smith, S. C., Jr. (2006). Current and future directions of cardiovascular risk prediction. *Am J Cardiol*, 97(2a), 28a-32a.
- Tonetti, M. S. (2009). Periodontitis and risk for atherosclerosis: an update on intervention trials. *J Clin Periodontol*, 36 Suppl 10, 15-19.
- Tuter, G., Kurtis, B., & Serdar, M. (2007). Evaluation of gingival crevicular fluid and serum levels of high-sensitivity C-reactive protein in chronic periodontitis patients with or without coronary artery disease. *J Periodontol*, 78(12), 2319-2324.
- Van der Velden, U. (1984). Effect of age on the periodontium. *J Clin Periodontol*, 11(5), 281-294.
- Vano, M., Gennai, S., Karapetsa, D., Miceli, M., Giuca, M. R., Gabriele, M., et al. (2015). The influence of educational level and oral hygiene behaviours on DMFT index and CPITN index in an adult Italian population: an epidemiological study. *Int J Dent Hyg*, 13(2), 151-157.
- Weiss, S. M., Roblin, P. M., Gaydos, C. A., Cummings, P., Patton, D. L., Schulhoff, N., et al. (1996). Failure to detect *Chlamydia pneumoniae* in coronary atheromas of patients undergoing atherectomy. *J Infect Dis*, 173(4), 957-962.

Zeller, J. M., & Sullivan, B. L. (1992). C-reactive protein selectively enhances the intracellular generation of reactive oxygen products by IgG-stimulated monocytes and neutrophils. *J Leukoc Biol*, 52(4), 449-455.

Zhang, Q., Chen, B., Zhu, D., & Yan, F. (2016). Biomarker levels in gingival crevicular fluid of subjects with different periodontal conditions: A cross-sectional study. *Arch Oral Biol*, 72, 92-98.

Zhu, J., Quyyumi, A. A., Norman, J. E., Csako, G., Waclawiw, M. A., Shearer, G. M., et al. (2000). Effects of total pathogen burden on coronary artery disease risk and C-reactive protein levels. *Am J Cardiol*, 85(2), 140-146.

10. ANEXOS.

I) FICHA CLÍNICA.

Proyecto FIOUCH: “Asociación entre el nivel de riesgo cardiovascular y el grado de severidad de enfermedad periodontal en mujeres adultas chilenas.”

Investigadora Responsable: Dra. Patricia Hernández.

Nombre:		N° Ficha:	
Teléfono:	Fecha ingreso:	RUT:	
Mail:	Sexo: Femenino	Edad:	
Nivel educacional: básica incompleta <input type="checkbox"/> básica completa <input type="checkbox"/> media completa <input type="checkbox"/> superior <input type="checkbox"/>			
Ocupación:		Dirección:	
ANAMNESIS			
Enfermedad sistémica actual	No <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/>	Especificar:	
Tratamiento médico los últimos 6 meses	No <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/>	Especificar:	
Alergias	No <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/>	Especificar	
Fuma actualmente	No <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/>	Cantidad y frecuencia:	
EXAMEN CLÍNICO			
PA1 (mm Hg):	PA2 (mm Hg):	Peso (Kg):	Talla (m):
Promedio PA (mm Hg):		IMC (kg/m2):	
Colesterol Total (mg/dL)			
Colesterol HDL (mg/dL)			
Colesterol LDL (mg/dL)			
Triglicéridos			
PCR-as (mg/ml)			
PCR-FCG (mg/ml)			
Hb glicosilada (%)			

EXAMEN PERIODONTAL

Fecha:

V	1.7	1.6	1.5	1.4	1.3	1.2	1.1	2.1	2.2	2.3	2.4	2.5	2.6	2.7
IG														
SS														
PE														
PS														
NIC														

P	1.7	1.6	1.5	1.4	1.3	1.2	1.1	2.1	2.2	2.3	2.4	2.5	2.6	2.7
IG														
SS														
PE														
PS														
NIC														

V	4.7	4.6	4.5	4.4	4.3	4.2	4.1	3.1	3.2	3.3	3.4	3.5	3.6	3.7
IG														
SS														
PE														
PS														
NIC														

L	4.7	4.6	4.5	4.4	4.3	4.2	4.1	3.1	3.2	3.3	3.4	3.5	3.6	3.7
IG														
SS														
PE														
PS														
NIC														

Diagnóstico: Sana Periodontitis

Muestras de FGC	
Fecha:	
Diente, sitio:	Muestra:

Interconsulta	
<input type="checkbox"/> Cirugía	<input type="checkbox"/> Endodoncia
<input type="checkbox"/> Prótesis removible	<input type="checkbox"/> Periodoncia
<input type="checkbox"/> Prótesis Fija	<input type="checkbox"/> Ortodoncia
<input type="checkbox"/> Operatoria	<input type="checkbox"/> Implantología

II) CONSENTIMIENTO INFORMADO.

Título del Protocolo: “Asociación entre el nivel de riesgo cardiovascular y el grado de severidad de enfermedad periodontal en mujeres adultas chilenas.”

Investigador Principal: Dra. Patricia Hernández Ríos
 Fono: 229781839
 Correo: phernandezrios@gmail.com

Sede de Estudio: Facultad de Odontología, Universidad de Chile
 – Sergio Livingstone 943 – Independencia, Santiago.

Nombre del Participante:

Este documento de Consentimiento Informado se aplicará a adultos participantes de proyecto de investigación, y consta de dos partes:

- Información (proporciona información sobre el estudio para usted).
- Formulario de Consentimiento (para firmar si está de acuerdo en participar). Ud. recibirá una copia completa del Documento de Consentimiento Informado.

Mi nombre es Patricia Hernández Ríos y soy académico de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile. Estoy realizando una investigación cuyo objetivo es determinar la relación existente entre la severidad de la enfermedad que afecta las encías y sistema de soporte del diente, con el riesgo de contraer enfermedades al corazón y vasos sanguíneos en mujeres adultas. Lo anterior se llevará a cabo a través de la medición de los niveles de una proteína en sangre (proteína C reactiva), los cuales serán a su vez relacionados con los niveles de esta misma proteína provenientes de un fluido que emerge de la encía (fluido gingival crevicular).

Le proporcionaré información y lo invitaré a ser parte de este proyecto. No tiene que decidir hoy si lo hará o no. Antes de tomar su decisión puede hablar acerca de la investigación con cualquier persona de su confianza.

Este proceso se conoce como Consentimiento Informado y puede que contenga términos que usted no comprenda, por lo que siéntase con la absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude aclarar sus dudas al respecto.

Una vez aclarada todas sus consultas y después que haya comprendido los objetivos de la Investigación y si usted desea participar, se le solicitará que firme este formulario.

Justificación de la Investigación

Las enfermedades periodontales corresponden a un grupo de enfermedades causadas por microorganismos, que afectan la encía (gingivitis) y tejidos que insertan al diente en boca (periodontitis). La periodontitis es una enfermedad muy frecuente en el ser humano, constituye una de las principales causas de pérdida dentaria, y genera alteraciones en la masticación, estética y calidad de vida del individuo.

Estudios recientes han asociado a la periodontitis con el riesgo de enfermedades cardiovasculares en adultos, principalmente hasta los 45 años. La enfermedad cardiovascular (del corazón y vasos sanguíneos) constituye una de las principales causas de muerte en mujeres chilenas, especialmente a edades jóvenes, y una forma de identificar el riesgo de padecerlas es través de la medición de la proteína C reactiva (PCR). La PCR es una proteína producida por el hígado frente a estados inflamatorios, cuyos niveles medidos en sangre se asocian a distintos niveles de riesgo cardiovascular. Esta proteína también se ha visto elevada en pacientes con periodontitis, y últimamente, se ha detectado también su presencia en el fluido gingival crevicular (FGC), un líquido que se obtiene de forma no invasiva e indolora de un espacio entre la encía y el diente.

El estudio de la asociación entre la enfermedad cardiovascular y las enfermedades periodontales en distintas etapas o severidades podría aportar a la identificación de mujeres chilenas en riesgo de enfermedades al corazón relacionando métodos tradicionales (PCR en muestras de sangre), con métodos innovadores, fáciles, indoloros y no invasivos, como es la detección de proteína C reactiva en el fluido emanado naturalmente a través de la encía, el fluido gingival crevicular.

Objetivo de la Investigación

La presente investigación tiene por objetivo determinar la relación existente entre la severidad de la enfermedad periodontal y el posible riesgo cardiovascular en mujeres adultas menores de 45 años atendidas en la clínica de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, a través de la medición de los niveles de proteína C reactiva en sangre, y la asociación de estos niveles con los obtenidos en fluido gingival crevicular.

Beneficio de la Investigación

La participación en este estudio no tiene retribución económica para el voluntario. Sin embargo, como beneficios, cada voluntaria obtendrá un examen dental clínico y diagnóstico periodontal gratuito, así como la entrega de cepillos y pastas dentales sin costo. Se le entregará un set de radiografías dentales (radiografías periapicales totales) gratuitas, para fines diagnósticos o de posterior tratamiento con otros profesionales.

Además, a participante obtendrá exámenes sanguíneos de perfil lipídico, proteína C reactiva y hemoglobina glicosilada sin costo, así como se le hará entrega de un desayuno posterior a la donación de muestras sanguíneas.

Los resultados de este estudio podrían servir para la planificación de medidas o tratamientos que prevengan o disminuyan la ocurrencia de enfermedades cardiovasculares, por lo que su participación libre y generosa podrá ser beneficiosa para investigar sobre temas poco conocidos en la población chilena que podrían eventualmente influir en el desarrollo de futuras políticas de salud.

Tipo de Intervención y Procedimiento

A todas las mujeres que acepten participar en el presente estudio se les recopilará información a través de un documento donde se incluirán datos de edad, nivel educacional/socioeconómico, historia médica personal y registro de otros potenciales factores de riesgo cardiovascular (historia familiar de enfermedad cardiovascular, tabaquismo, hipertensión arterial, diabetes e hipercolesterolemia).

Además, se registrará una medición de presión arterial e índice de masa corporal (calculado en base al peso y la altura).

Un técnico especializado tomará una muestra sanguínea única por participante, de equivalencia aproximada a una cucharada sopera, la cual será enviada para su análisis al Hospital Clínico de la Universidad de Chile. En estas muestras se determinará hemoglobina glicosilada (medición asociada a los niveles de azúcar sanguíneo), niveles de proteína C reactiva y perfil lipídico (medición de colesterol y triglicéridos).

Odontólogos especializados realizarán mediciones de la encía, mediante el uso de un instrumento de milimetrado (sonda periodontal), para categorizar a las participantes según su estado bucal en gingivitis (37 participantes), periodontitis (37 participantes) o periodontalmente sanas (37 participantes). Además, se obtendrán muestras de fluido gingival crevicular, mediante un método no invasivo e indoloro, introduciendo una tira de papel absorbente en el surco entre la encía con el diente. Éste será analizado para la presencia de proteína C reactiva en el Laboratorio de Biología Periodontal de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile.

Por último, cada voluntaria será sometida a la toma de radiografías dentales de todos los dientes (radiografía retroalveolar periapical total), con el fin de observar la presencia de pérdida de hueso dental y descartar infecciones o enfermedades óseas anexas.

Riesgos de la Investigación

A pesar de aplicar un procedimiento protocolizado para la toma de muestras sanguíneas, usted podría experimentar ligeras molestias en el sitio de la extracción de la sangre, así como hematomas o “moretones” ocasionales en la zona de punción. Algunas personas experimentan mareos o sensación de debilidad general tras la extracción de la muestra. La toma de muestra será realizada por personal calificado y acreditado, de manera de disminuir los riesgos que la técnica tiene para usted. En caso de complicaciones posibles por la punción venosa, será tratado de inmediato de acuerdo a los requerimientos clínicos del caso o será

derivado con la mayor oportunidad posible al personal correspondiente, de manera de que su participación no constituya molestia para usted.

Las radiografías dentales exponen al paciente a radiación, sin embargo el nivel es muy bajo, por lo que se consideran seguras. Para limitar la exposición, se le cubrirá el resto del cuerpo con un delantal del plomo. La radiación puede ocasionar alteraciones en el feto, por lo que si usted está embarazada o sospecha de embarazo, por favor informe y absténgase de participar en el estudio. En el caso de las muestras de fluido bucal a través de papeles, no existen riesgos ni molestias propios del procedimiento.

El participante deberá informar sobre todas las complicaciones médicas y/o dentales que le aquejan, así como todo otro antecedente que pueda ser relevante, previo a la ejecución del estudio y posterior o como consecuencia de él. La Facultad de Odontología de la Universidad de Chile se reserva el derecho de discontinuar el estudio por razones que así lo justifiquen, como motivos de salud o efectos no deseados de los procedimientos.

Criterios para selección de los participantes en el estudio

Se seleccionarán 111 mujeres entre 18 y 44 años, que posean al menos 12 dientes en boca. Se excluirán aquellas personas que tengan historia de enfermedades cardiovasculares, o padezcan de aterosclerosis, hipertensión arterial, enfermedades inflamatorias agudas y diabetes; presencia de periodontitis apical concomitante (lesiones óseas por infección de la pulpa del diente), embarazadas; así como mujeres bajo tratamiento antiinflamatorio, antibiótico o medicamentos que regulen el sistema inmunológico (o defensivo) dentro de los 6 meses previos al estudio.

Confidencialidad y difusión de datos

La información obtenida de la Investigación, respecto de la identificación de participantes, será mantenida con estricta confidencialidad por el investigador. El nombre y datos personales de usted serán codificados para el uso en este estudio y no serán identificados públicamente. Los resultados emanados de este estudio

podrán ser publicados en revistas científicas, sin fines comerciales. La participante podrá tener acceso a sus resultados, en caso de requerirlo.

Los registros, datos y muestras obtenidas del paciente serán utilizados a lo largo del estudio, sólo con los fines y propósitos estipulados en él. Posteriormente, serán almacenados en las dependencias de la Facultad de Odontología por un período de 5 años, bajo la responsabilidad del investigador responsable, quien resguardará su anonimato y posterior destrucción. Las muestras de sangre y fluido gingival crevicular serán eliminadas inmediatamente después de su utilización, de acuerdo a los protocolos establecidos y aceptados por el comité de bioseguridad. Las radiografías serán entregadas a los participantes luego de su utilización.

Aclaraciones

- La participación es completamente voluntaria.
- No habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted, en caso de no aceptar la intervención y/o participación.
- Si usted decide puede retirarse cuando lo desee.
- No tendrá que efectuar gasto alguno como consecuencia del estudio, salvo los comprendidos por movilización.
- No recibirá pago por su participación.
- Usted podrá solicitar información actualizada sobre el estudio, al investigador responsable.
- La información obtenida de la Investigación, respecto de la identificación de pacientes, será mantenida con estricta confidencialidad por los investigadores.
- Si considera que no existen dudas ni preguntas acerca de su participación, puede si lo desea, firmar la Carta de Consentimiento Informado anexa al documento.

Carta de Consentimiento Informado

A través de la presente, declaro y manifiesto, libre y espontáneamente, y en consecuencia, acepto que:

1. He leído y comprendido la información anteriormente entregada y que mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria.
2. He sido informado(a) y comprendo la necesidad y fines de ser atendido.
3. Tengo conocimiento del procedimiento a realizar.
4. Conozco los beneficios de participar en la Investigación
5. El procedimiento tiene un riesgo mínimo para mi salud.
6. Además de esta información que he recibido, seré informado(a) en cada momento y al requerimiento de la evolución de mi proceso, de manera verbal y/o escrita si fuera necesaria y al criterio del investigador.
7. Autorizo a usar mi caso para investigación y para ser usado como material audiovisual en clases, protegiendo mi identidad.
8. En caso de cualquier duda puede acudir al servicio de diagnóstico de la Facultad de Odontología, Universidad de Chile: Calle Sergio Livingstone Pohlhammer 943, Independencia, Santiago, los días Jueves de 14:00-17:00 pm.
9. Si Ud. desea consultar sobre sus derechos como sujeto de investigación o piensa que éstos han sido vulnerados se puede dirigir al representante del Comité Ética de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile: Prof. Dr. Eduardo Fernández, al teléfono (02) 29781742, en horario de oficina o al mail cec.fouch@odontologia.uchile.cl

Doy mi consentimiento al investigador y al resto de los colaboradores, a realizar el procedimiento diagnóstico pertinente, **PUESTO QUE SE QUE ES POR MI PROPIO INTERÉS.**

Nombre del paciente: _____

Firma: _____

Fecha: _____

Sección a llenar por el Investigador Principal.

He explicado al Sr(a)_____ la naturaleza de la investigación, le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que conozco la normativa vigente para realizar la investigación con seres humanos y me apego a ella.

Nombre del Investigador Principal:

Firma: _____ Fecha: ____

Nombre del Director del establecimiento donde realiza la investigación o de su representante

Firma: _____ Fecha: ____

III) ACTA DE APROBACIÓN DE PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN.

INFORME N°:2017/02

1. Acta de Aprobación de Proyecto FIOUCH “Asociación entre el nivel de riesgo cardiovascular y el grado de severidad de enfermedad periodontal en mujeres adultas chilenas”.

2. Miembros del Comité Ético-Científico de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile participantes en la aprobación del Proyecto:

Dr. Eduardo Fernández	Dr. Mauricio Baeza	Dr. Marco Cornejo
Presidente CEC	Miembro permanente CEC	Miembro permanente CEC

Sr. Roberto La Rosa	Dr. Alfredo Molina	Dr. Juan Estay
Miembro permanente CEC	Miembro Permanente CEC	Miembro Permanente CEC

Sra. Rebeca Galarce	Dr. José Suazo	Dr. Ignacio Araya
Miembro permanente CEC	Miembro alterno CEC	Miembro Alterno CEC

3. Fecha de Aprobación: 27/04/2017

4. Título completo del proyecto: “Asociación entre el nivel de riesgo cardiovascular y el grado de severidad de enfermedad periodontal en mujeres adultas chilenas”

5. Investigador responsable: Dra. Patricia Hernández Ríos

6. Institución Patrocinante: Facultad de Odontología – Universidad de Chile

7. Documentación revisada:

Proyecto.

Currículo del investigador responsable y coinvestigadores.

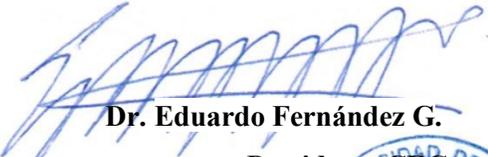
Nómina de los coinvestigadores y colaboradores directos.

8. Fundamentación de la aprobación

Este proyecto es aprobado luego que se realizaran las modificaciones en relación a los siguientes aspectos metodológicos y éticos.

- Definir y justificar el uso de individuos sanos.
 - Justificar el uso de radiografías retroalveolares.
 - Ajustar el CI de acuerdo al formato disponible del CEC, donde corrigieron los siguientes puntos:
 - Se explicó en lenguaje más simple el propósito de la investigación y la importancia de la proteína C reactiva.
 - Se agregó el número de sujetos a reclutar.
 - Se cambió el concepto de “ficha clínica” a “registro” o “documento” clínico.
 - Se estableció el volumen de muestra sanguínea aproximada en un lenguaje comprensible para el sujeto.
 - Se agregó la obtención de radiografías dentales y sus riesgos.
 - Se especificó en relación al manejo de muestras y confidencialidad de los datos.
 - Se aclaró el ítem de compensación de daños.
- Se cambió el término “paciente” por “sujeto”, “voluntaria” o “participante”.

En consecuencia, el Comité Ético Científico de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, ha aprobado el Protocolo del estudio titulado “**Asociación entre el nivel de riesgo cardiovascular y el grado de severidad de enfermedad periodontal en mujeres adultas chilenas**”



Dr. Eduardo Fernández G.

Presidente CEC



c/c.: Investigador Principal y Secretaría C.E.C.

