

Revista Clínica de Periodoncia, Implantología y Rehabilitación Oral



Sociedad de Periodoncia de Chile



Sociedad de Implantología Oral de Chile



Sociedad de Prótesis y Rehabilitación Oral de Chile

Organo oficial de difusión científica de la Sociedad de Periodoncia de Chile, Sociedad de Implantología Oral de Chile y Sociedad de Prótesis y Rehabilitación Oral de Chile.

Vol.

1
VOL 1 NUMERO 1

ABRIL 2008



Sociedad de Periodoncia de Chile



Sociedad de Implantología Oral de Chile



Sociedad de Prótesis y Rehabilitación Oral de Chile

Revista Clínica de Periodoncia, Implantología y Rehabilitación Oral

Director

Dr. Jorge Gamonal A.

Comité Editorial

Prof. Dr. Javier Botero. Univ. del Valle, Colombia.

Prof. Dr. Adolfo Contreras. Univ. del Valle, Colombia.

Prof. Dr. Raúl De la Sotta Thenoux. Univ. de Chile, Chile.

Prof. Dr. Néstor López Villarroel. Univ. de Chile, Chile.

Prof. Dr. Hugo Romanelli. Univ. de Maimónides, Argentina.

Prof. Dr. Mariano Sanz. Univ. Complutense de Madrid, España.

Prof. Dr. Juan José Villavicencio Blanco. Univ. Mayor, Chile.

Prof. Dr. Juan Carlos Carvajal. Univ. de Chile, Chile.

Prof. Dr. Darío Migués. USAL - AOA, Argentina.

Prof. Dr. Fernando Romo Omazabal. Univ. de Chile, Chile.

Prof. Dr. Ronald Motzfeld Espinosa. Univ. de Chile, Chile.

Prof. Dra. María Angélica Torres. Univ. de Chile, Chile.

Prof. Dr. Marcial Sierra Fuentes. Univ. Mayor, Chile.

Prof. Dr. Jorge Marín Herrera. Univ. de Chile, Chile.

Prof. Dr. Eduardo de Moraes, UNIFESO Teresópolis, Río de Janeiro, Brasil.

Prof. Dr. Samy Alamo Alamo, Univ. de Chile, Chile.

Prof. Dr. Enrique Torres Ojeda, Univ. de Chile, Chile.

Prof. Dr. Enrique Kogan, Asociación Dental de México, México.

Rev. Clin Periodoncia Implantol Rehabil. Oral Vol. 1 (1); 2008.

La Revista Clínica de Periodoncia, Implantología y Rehabilitación Oral (PIRO) publicará artículos de tipo científico o práctico sobre periodoncia, osteointegración, rehabilitación y especialidades directamente relacionadas con ellas. Órgano oficial de difusión científica de la Sociedad de Periodoncia de Chile, Sociedad de Implantología Oral de Chile y Sociedad de Prótesis y Rehabilitación Oral de Chile.

©

Derechos Reservados, Prohibida su Reproducción sin mencionar la fuente.

Representante legal: Dr. Jorge Gamonal A. **Publicación cuatrimestral:** Abril - Agosto - Diciembre. **Tiraje:** 1500 ejemplares, distribución nacional e internacional. Impresa en Santiago de Chile, en el mes de Abril 2008, por Sociedad Impresora y Editora DIPRINT LTDA.

PIRO: Av. Santa María 1990. Providencia, Santiago, Chile. Fono (56 - 2) 335 7692.

Fax (56 - 2) 334 8233. revistaclinicapiro@gmail.com **Diseño:** Alejandra Pozo G.

ciencporciendodiseno@gmail.com. **Periodista:** Patricio Villablanca M. villadrid@yahoo.com

INDICE

VOL 1 NUMERO 1. ABRIL 2008

ISSN 0710-5301

Editorial

Dr. Miguel de la Fuente A. 2

Trabajos de Investigación

Bacilos Gram Negativos No Fastidiosos en la Microbiota Subgingival y Lingual en un Grupo de Pacientes Chilenos con Periodontitis.

Non Fastidious Gram Negative Rods in the Subgingival and Lingual Microbiota in a Group of Chilean Periodontitis Patients.

Silva N, Gajardo M, Quintero A. 5

Variabilidad de la Respuesta de las Células Dendríticas Estimuladas *in vitro* con *Porphyromonas gingivalis* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

Variable Dendritic Cells Response upon Stimulation with Porphyromonas gingivalis and Aggregatibacter actinomycetemcomitans in vitro.

Vernal R, León R, Dutzan N, Herrera D, García-Sanz JA,

Silva A, Sanz M. 9

Estudio Comparativo del Efecto del Macrodiseño en la Estabilidad Primaria del Implante Oseointegrado.

Comparative Study of the Effect of the Macroscopic Design in the Primary Stability of the Osseointegrated Implant.

Nappe Abaroa CE, Montoya Bacigalupo C. 17

Prevalencia de la Pérdida de Inserción Clínica en Adolescentes de Colegios Públicos de Medellín-Colombia.

Risk Indicators for Clinical Attachment Loss Among Adolescents from Public Schools in Medellin, Colombia

Gómez Restrepo AM, Guzmán Zuluaga IC, Ardila Medina CM,

Franco Cortes AM, Duque Agudelo L, Osomo Cardona C,

Moros Reyes A. 23

Reporte Clínico

Aumento Tridimensional de un Reborde Alveolar Mediante una Técnica Modificada de Injerto de Tejido Conectivo Interposicionado y Sobrepuesto.

Tridimensional Augmentation of an Alveolar Ridge by Means of a Modified Technique of a Grafting of Connective Interposed and Overlapped Tissue.

Godoy C, Javer E, Caffarena R, López C. 27

Revisión Bibliográfica

Osteonecrosis de los Maxilares Asociado a Terapia con Bifosfonatos: Situación Actual.

Bisphosphonate Therapy-Associated Osteonecrosis of the Jaws: Current Situation.

Cisterna C, Yanine N, González C, Villanueva J. 32

Normas de Publicación 38

Sociedad de Periodoncia de Chile

Presidente

Dr. Miguel De la Fuente Ávila.

Vicepresidente

Dr. Hernán Toro Castillo.

Presidente Comisión Científica

Dr. Cristián López Valenzuela.

Sociedad de Implantología Oral de Chile

Presidente

Dr. Alfredo von Marttens Castro.

Vicepresidente

Dr. Patricio Herane Comandari.

Presidente Comisión Científica

Dr. Daniel Farías Miranda.

Sociedad de Prótesis y Rehabilitación Oral de Chile

Presidente

Dr. Roberto Iribarra Mengarelli.

Vicepresidente

Dr. Luis Antini Iribarra.

Presidente Comisión Científica

Dr. Luis Antini Iribarra.

EDITORIAL

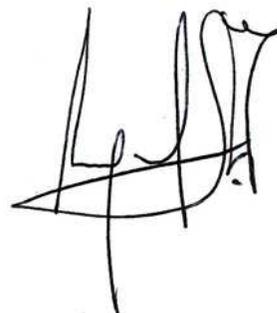
Como Presidente de la Sociedad de Periodoncia de Chile me dirijo a ustedes a través de esta nueva revista, *P.I.R.O.*, que es la continuación de nuestra *Revista Chilena de Periodoncia y O-seointegración* a la cual se han unido dos sociedades científicas, la Sociedad de Implantología Oral y la Sociedad de Prótesis y Rehabilitación Oral, transformándose en el órgano científico oficial de estas tres sociedades.

Hace cuatro años se inició la *Revista Chilena de Periodoncia y O-seointegración* y cumplió con todos los requisitos de una publicación seria, por sus contenidos y periodicidad de sus ediciones, siendo el paso natural en su desarrollo, su profesionalismo e indexación científica. Esta no es una tarea fácil y para cumplirla el Directorio de la Sociedad de Periodoncia de Chile aprobó la asociación con las Sociedades de Implantología y Prótesis y Rehabilitación Oral para crear una Revista Científica única para las tres Sociedades, lo que facilitará el cumplimiento de estos objetivos.

Importante es recordar nuestros orígenes y saber que esta publicación es la continuación de *Periodoncia al Día*, revista que fue creada el año 1993 por iniciativa del Presidente de la época, Dr. Antonio Sanz y cuyos editores fueron los doctores Fernando Fuentes, Carlos Godoy, Marcos Bronstein, Mónica Quintana y que el esfuerzo por ellos realizado es el fruto que hoy tenemos.

¡Socios! de la Sociedad de Periodoncia de Chile, Sociedad de Implantología Oral de Chile y Sociedad de Prótesis y Rehabilitación Oral de Chile, el éxito de nuestra revista dependerá del entusiasmo y cooperación de todos nosotros para la generación de artículos de interés en esta nueva ventana que se nos abre para la comunicación científica; lo que nos permitirá mejorar el nivel profesional de nuestras especialidades y de la Odontología Nacional.

Por último, quiero expresar mi sincero deseo de éxito al editor de la Revista, Dr. Jorge Gamonal y su Comité Editorial en este nuevo desafío que se plantea ante nuestra comunidad societaria.



Miguel De la Fuente A.
Presidente Sociedad de Periodoncia de Chile

Bacilos Gram Negativos No Fastidiosos en la Microbiota Subgingival y Lingual en un Grupo de Pacientes Chilenos con Periodontitis

Non Fastidious Gram Negative Rods in the Subgingival and Lingual Microbiota in a Group of Chilean Periodontitis Patients

Silva N¹, Gajardo M¹, Quintero A¹

RESUMEN

Antecedentes y objetivos: Las periodontitis son un grupo de patologías que afectan los tejidos de soporte del diente. Diferentes especies de la microbiota subgingival se han asociado con los tipos de periodontitis. El aislamiento de bacilos Gram negativos no fastidiosos en sacos periodontales es un tema importante ya que algunas de estas especies podrían contribuir como causa principal a fracasos de la terapia periodontal. También es un foco de interés ubicar reservorios de estas bacterias como fuente principal de infección del saco periodontal. Así, el objetivo de este trabajo fue determinar la presencia/ausencia de bacilos Gram negativos no fastidiosos en sacos periodontales y en el dorso lingual de un grupo de pacientes chilenos con periodontitis.

Material y Método: Se tomaron muestras subgingivales de 4 sitios periodontalmente afectados y de dorso de lengua, a 27 pacientes con periodontitis. Las muestras fueron depositadas en RTF a 4 °C para ser procesadas.

Resultados: Se obtuvo una coincidencia de un 77,7% ($p=0,0038$) entre la presencia/ ausencia de bacilos Gram negativos no fastidiosos en saco periodontal y dorso lingual. 38,4% de los pacientes presentó *Alcaligenes faecalis* y 30,8% de ellos, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*.

Rev. Clin Periodoncia Implantol Rehabil. Oral Vol. 1 (1); 5-8, 2008.

Palabras claves: periodontitis, bacilos Gram negativos no fastidiosos, microbiota subgingival.

ABSTRACT

Background and aims: Periodontitis are a group of pathologies that affect support tissue of tooth. Different periodontopathic bacterial species of the subgingival microbiota has been associated with periodontitis but, at this time a great relevance has also been attributed to the presence of non-fastidious Gram negative rods in periodontal pockets, because these species could be a major cause of periodontal therapy failure, it was very interesting to localize the oral reservoir of it, in order to contribute to control the periodontal pocket infection. Thus, the aim of this work was to determine the presence and/or absence of non fastidious Gram negative rods in both, periodontal pockets and lingual dorsum of 27 Chilean periodontitis patients.

Patients and Method: 27 periodontal patients were recruited. Lingual dorsum and subgingival plaque samples were obtained and deposited in cold RTF (4°C) until processing.

Results: 77,7% ($p=0,0038$) of coincidence between presence and/or absence of non-fastidious Gram negative rods in both periodontal pocket and lingual dorsum was found. 38,4% of these patients harbored *Alcaligenes faecalis* and 30,8% of them, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*.

Rev. Clin Periodoncia Implantol Rehabil. Oral Vol. 1 (1); 5-8, 2008.

Key words: lingual reservoir, periodontitis, Gram negative non-fastidious rods, subgingival microbiota.

INTRODUCCIÓN

La periodontitis es una enfermedad infecciosa del periodonto causada tanto por el sobrecrecimiento de patógenos periodontales en la microbiota subgingival de individuos susceptibles como por la respuesta inmuno-inflamatoria local estimulada por ellos. Hay dos formas clínicas de periodontitis, periodontitis agresiva y periodontitis crónica, caracterizadas por una destrucción progresiva de los tejidos periodontales: encía, cemento radicular, ligamento periodontal y hueso alveolar. Ambas se pueden presentar en forma localizada o generalizada y pueden eventualmente conducir a la pérdida de una o más piezas dentarias^(1,2). Las bacterias asociadas con periodontitis son en su mayoría bacilos Gram negativos anaeróbicos fastidiosos, entre los cuales se encuentra *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis*, *Treponema denticola* y *Prevotella intermedia/nigrescens*. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, microaerófilico, también se encuentra asociado a periodontitis⁽³⁻¹⁰⁾. Aunque el análisis microbiológico de la microbiota subgingival no siempre es necesario para diagnosticar y tratar a la mayoría de los pacientes con periodontitis, dicho estudio es de gran utilidad cuando se trata a

pacientes que responden mal, que son refractarios a la terapia convencional o que presentan una rápida progresión de la enfermedad^(11,12). En un estudio de Colombo et al, (n=94) los pacientes refractarios constituyeron un grupo heterogéneo en cuanto a su microbiota periodontal predominante pero tenían en común una menor prevalencia de los periodontopatógenos "clásicos" y la presencia inusual de otros tipos bacterianos⁽¹³⁾. Al respecto, en los últimos años se ha asignado una gran importancia al aislamiento de bacilos Gram negativos (BGN) no fastidiosos potencialmente patogénicos en otros sitios del cuerpo, desde sacos periodontales de pacientes que muestran baja respuesta al tratamiento periodontal convencional⁽¹³⁻¹⁹⁾. También se ha reportado que además de los tejidos periodontales, este tipo de bacterias podría colonizar y sobrecrecer en otros nichos ecológicos bucales como el dorso lingual a consecuencia por ejemplo del desbalance en la microbiota habitual, producido por tratamiento con antimicrobianos sistémicos^(20,21). Por otra parte, el dorso lingual es uno de los nichos ecológicos más complejos de la cavidad bucal, y del organismo en general, en cuanto a cantidad y variedad de su microbiota⁽²²⁾. Es así que a partir de muestras de esta microbiota se han aislado especies microbianas características de otros

nichos ecológicos tanto orales como del resto del organismo. Entre estas especies se incluyen patógenos periodontales clásicos, bacilos entéricos y hongos unicelulares. Es por ello que el dorso lingual se puede constituir en un reservorio potencial de microorganismos, tanto para la recolonización del periodonto después de la terapia periodontal convencional como para la colonización del saco periodontal por bacterias inusuales, propias de otros hábitat del cuerpo^(23,24). Esto podría explicar que especies de las familias *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonaceae* y otros bacilos Gram negativos no fermentadores se hayan aislado de sacos periodontales en pacientes de USA y Suecia^(25,26), Rumania⁽²⁷⁾, Santo Domingo⁽²⁸⁾, Sudán⁽²⁹⁾ y Chile⁽³⁰⁾. De acuerdo a lo anterior, el objetivo de este trabajo fue determinar la ocurrencia de bacilos Gram negativos no fastidiosos en muestras de saco periodontal y dorso lingual en un grupo de pacientes chilenos con periodontitis con el fin de establecer una posible asociación entre la presencia simultánea de estas bacterias en ambos sitios de la cavidad oral de los pacientes. Esta información permitirá al clínico reorientar tanto el protocolo de tratamiento como las indicaciones sobre la mantención periodontal, frente a pacientes con baja respuesta a la terapia periodontal convencional, periodontitis refractaria o periodontitis rápidamente progresiva.

PACIENTES Y MÉTODOS

Pacientes

Se seleccionó un total de 27 pacientes con periodontitis entre quienes acudieron a la Escuela de Graduados de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile y al Centro de Diagnóstico y Tratamiento Eloisa Díaz, del Servicio de Salud Metropolitano Norte de la Región Metropolitana en Santiago, Chile. En este grupo había 20 mujeres y 7 varones, cuyas edades fluctuaron entre los 13 y 52 años. Se excluyó pacientes que hubiesen recibido algún tipo de tratamiento periodontal y antibioticoterapia sistémica o terapia antiinflamatoria no esterooidal en los últimos 6 meses. También se excluyó del estudio a embarazadas y a pacientes con enfermedades sistémicas. El protocolo de investigación fue explicado a todos los pacientes quienes firmaron un Consentimiento Informado, revisado y aprobado por la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile. De acuerdo al protocolo, todos los pacientes iniciaron su tratamiento periodontal dos semanas después de detectada la enfermedad.

Parámetros clínicos

Los parámetros clínicos fueron evaluados en este estudio, siempre por el mismo investigador (AQ) especialmente calibrado para estos fines, fueron nivel de inserción clínica (CAL), profundidad al sondaje (PD), acumulación de placa supragingival (PI) y sangramiento al sondaje (BOP). CAL y PD fueron medidos con una sonda electrónica computarizada (Florida Probe Corporation, Gainesville, FL, USA). Se examinaron seis sitios en todos los dientes de cada paciente, con exclusión de los terceros molares: mesiobucal, bucal, distobucal, distolingual, lingual y mesiolingual.

Muestras de placa subgingival

Las muestras de placa subgingival de cada paciente, fueron obtenidas a partir de 4 sitios periodontalmente afectados (uno por cuadrante), con una profundidad de saco mayor a 5 mm y una pérdida de inserción mayor a 3 mm. Después de aislar cada sitio, con torulas de algodón y secar con aire, los depósitos supragingivales fueron totalmente removidos con curetas (Hu Friedy, Gracey, USA). Las muestras subgingivales fueron obtenidas insertando dos conos estandarizados N° 30 estériles (Johnson & Johnson, USA), en las zonas más profundas del saco periodontal durante 20 s. Las cuatro muestras de cada paciente (8 conos) se depositaron en un vial conteniendo 2 ml de Medio de Transporte frío (RTF) sin EDTA. Los viales con las muestras, fueron mantenidos siempre a 4°C para ser transportados al Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, y ser procesados inmediatamente dentro de las 3 horas siguientes a la toma de muestra.

Muestras de dorso Lingual

Las muestras provenientes desde el dorso lingual, fueron obtenidas arrastrando un rollo de algodón estéril, desde la zona posterior

de la lengua hasta la punta, a través de la línea media por 10 seg. (31) Luego, el algodón se depositó en un vial conteniendo 2 ml de RTF sin EDTA. Los viales con las muestras, fueron mantenidos siempre a 4°C y procesados, como en el caso anterior.

Procedimientos Microbiológicos

Las muestras de placa subgingival y de dorso lingual, fueron dispersadas, mediante agitación máxima (Thermolyne maxi mix II type 37600 ,IOWA USA) en vortex durante 45s y luego diluidas en forma seriada hasta 10⁴ y 10⁶ respectivamente en PBS. Alícuotas de 100 µl de las diluciones apropiadas, (10⁻³ y 10⁻⁴ para placa sub gingival, 10⁻⁵ y 10⁻⁶ para dorso lingual) fueron sembradas en agar sangre menadiona-hemina para el recuento de la microbiota periodontal total cultivable⁽³²⁾ y agar Mc-Conkey para la detección de bacilos Gram negativos no fastidiosos. Las placas de agar sangre hemina-menadiona fueron incubadas a 35°C en jarra con generador de anaerobiosis, por 14 días, mientras que el agar Mc-Conkey se incubó en aerobiosis a 35°C por 24 a 48 hr. La cantidad de microbiota cultivable total se expresó como UFC/ ml de medio de transporte y el recuento diferencial de especies se expresó como porcentaje de la microbiota total. La identificación de las especies aisladas, se realizó mediante el aspecto colonial y microscópico y el uso de galerías comerciales, API 20 E y API 20 NE (Biomerieux) para los bacilos Gram negativos no fastidiosos (siguiendo las indicaciones del fabricante).

Análisis Estadístico

Los parámetros clínicos CAL, PI, PD, BOP obtenidos para cada paciente, en los grupos PA y PC, fueron analizados comparativamente usando el test T, para datos no pareados. En este estudio se consideró al paciente como unidad de observación. Para los bacilos Gram negativos no fastidiosos se utilizó el X² para variables nominales. Los resultados se expresaron como promedios y desviaciones standard.

RESULTADOS

Se estudiaron 27 pacientes con periodontitis, 14 (51,9%) presentaban periodontitis agresiva (PA) y los 13 (48,1%) restantes periodontitis crónica (PC). Los criterios utilizados para clasificar a los pacientes, en una u otra entidad clínica se presentan en la tabla I. Los parámetros clínicos de los pacientes se presentan en la tabla II expresados como promedios y desviación estándar, pudiéndose observar valores similares en pacientes con PA y con PC, excepto para el índice de sangramiento al sondaje (BOP) que presentó una diferencia estadísticamente significativa (p=0,015). El porcentaje de ocurrencia (prevalencia) de BGN no fastidiosos en saco periodontal y dorso lingual en el total de pacientes estudiados se presenta en la tabla III. Se puede observar que el 48,1% de los pacientes presentó bacterias de este tipo tanto en saco periodontal como en dorso lingual; el 7,4% de ellos las presentó sólo en saco periodontal y el 14,8% sólo en dorso lingual. En el 29,6% de los pacientes no se aisló BGN no fastidiosos. Así, el porcentaje total de coincidencia aislamiento-no aislamiento en ambas muestras por paciente fue de 77,7%, estableciéndose una diferencia estadísticamente significativa con respecto al 22,3% de no coincidencia (p=0,0038). Al considerar en forma separada los grupos de pacientes con PA (n=14) y con PC (n=13) los porcentajes se distribuyeron de manera similar, no se observaron diferencias significativas entre la coincidencia aislamiento / no aislamiento entre ambas entidades clínicas (p=0,21). La tabla IV muestra el porcentaje de ocurrencia de las tres especies de BGN no fastidiosos aisladas en este estudio. *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* fueron aisladas en el 30,8% de los pacientes, tanto en saco periodontal como en dorso lingual. *Alcaligenes faecalis* también se aisló en ambos sitios, en el 38,4% de los pacientes. En el grupo estudiado, se obtuvo un 100% de correlación en el tipo de especie bacteriana aislada simultáneamente en saco periodontal y dorso lingual. El porcentaje de aislamiento de cada una de estas especies en saco periodontal con respecto a la microbiota total cultivada fue de 9,8% para *E.coli*, 16,8% para *P.aeruginosa* y 2,8% para *A.faecalis* (tabla V).

TABLA I. Criterios clínicos de periodontitis.

Periodontitis agresiva localizada	La edad de inicio se estima en sujetos con <20 años edad, a través de examen clínico periodontal y entrevista personal. Existe pérdida de inserción clínica ≥ 4 mm en dos o más primeros molares y/o incisivos, y ausencia de pérdida de inserción en caninos, premolares o segundos molares.
Periodontitis agresiva generalizada	La edad de inicio se estima en sujetos mayores de 30 años, a través de un examen clínico y entrevista personal. Existe pérdida de inserción clínica ≥ 4 mm en dos o más primeros molares y/o incisivos, hay pérdida de inserción también en caninos, premolares o segundos molares.
Periodontitis crónica generalizada	La edad de inicio se estima en sujetos mayores de 35 años, a través de un examen clínico y entrevista. Pérdida de inserción clínica ≥ 4 mm se observa en al menos el 30% de los dientes presentes en la boca del paciente.

TABLA II. Valor promedio y desviación standard de los parámetros clínicos evaluados en este estudio.

Parámetros Clínicos	Valor promedio \pm SD Periodontitis agresiva (n = 14)	Valor promedio \pm SD Periodontitis crónica (n = 13)
Nivel de inserción Clínica (NIC)	3,36 \pm 0,60	3,37 \pm 0,87
Profundidad al sondaje (mm) (PD)	3,44 \pm 0,66	3,12 \pm 0,52
Índice de placa (PI)	47,49 \pm 10,1	58,26 \pm 19,2
Sangramiento al sondaje (BOP)	39,26 \pm 9,9	54,65 \pm 19,*

* p = 0,015

TABLA III. Ocurrencia subgingival y lingual de Bacilos Gram negativos no fastidiosos en el total de pacientes estudiados y porcentajes de coincidencia y de no coincidencia, aislamiento / no aislamiento entre saco periodontal y dorso lingual.

Pacientes	Saco periodontal	Dorso lingual	Porcentaje
13	+	+	48,1
8	-	-	29,6
2	+	-	7,4
4	-	+	14,8
Total coincidencia aislamiento/no aislamiento			77,7 *
Total no coincidencia			22,3

* p = 0,0038 con respecto al 22,3% de no coincidencia.

TABLA IV. Especies aisladas de Bacilos Gram negativos no fastidiosos en saco periodontal y dorso lingual en el mismo paciente.

Especie	Porcentaje de aislamiento	
	Saco periodontal	Dorso lingual
<i>Escherichia coli</i>	30,8	30,8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	30,8	30,8
<i>Alcaligenes faecalis</i>	38,4	38,4

TABLA V. Porcentajes promedio de aislamiento de cada una de estas especies en relación a la microbiota total cultivable en el grupo de pacientes (n =27).

Especie	%
<i>E.coli</i>	9,8%
<i>P.aeruginosa</i>	16,8%
<i>A. faecalis</i>	2,8%

DISCUSIÓN

Nuevas especies de bacterias con un potencial poder patogénico se han aislado de los sacos periodontales de pacientes con periodontitis. Esto, junto con el aislamiento de virus y de hongos unicelulares, hace aún más complejo el cuadro de la etiopatogénesis de esta enfermedad y por ende se complica también el diagnóstico, tratamiento y prevención de esta patología. La periodontitis en su forma agresiva y crónica afecta a más del 95% de la población a nivel mundial y a más del 98% en Chile⁽³³⁾. Siendo una de las patologías infecciosas más prevalentes en el ser humano junto con la caries dental y sabiendo que su etiología radica en el establecimiento de una compleja microbiota organizada como biopelícula a nivel subgingival, es de gran relevancia poder discernir si patógenos periodontales clásicos, microorganismos inusuales o una combinación de ambos son los responsables de su manifestación clínica, de su recurrencia o fracaso del tratamiento. Este conocimiento permitiría al odontólogo, en base a un diagnóstico más certero, enfocar mejor la terapia periodontal y disminuir los casos de no respuesta y de recurrencia de la enfermedad. En este estudio, a diferencia del 13,5% de portación de bacilos entéricos y pseudomonáceos en pacientes con periodontitis avanzada del adulto reportado por investigadores en USA, se encontró que el 55,5% de los pacientes (15 de 27) albergaban BGN no fastidiosos en la microbiota subgingival de saco periodontal y el 62,9% (17 de 27) en el dorso lingual. Tomados en conjunto, el 70,3% de los pacientes presentó BGN no fastidiosos en saco periodontal, en dorso lingual o en ambos. Sólo en el 29,6% de los pacientes no se aisló este tipo de bacterias, sugiriendo una mayor prevalencia de patógenos inusuales en nuestro país acompañando a los periodontopatógenos clásicos en el saco periodontal.

El porcentaje de coincidencia (presencia/ausencia) de estas bacterias en saco periodontal y dorso lingual fue 77,7% en contraste con el 22,3% de no coincidencia. La diferencia estadísticamente significativa entre estos valores apoya la hipótesis de una asociación entre la presencia/ausencia de BGN no fastidiosos en saco periodontal y dorso lingual. Y de este último como probable sitio reservorio de patógenos oportunistas en cavidad bucal. Todo esto es consistente también con el postulado de translocación intraoral de patógenos periodontales para explicar la recolonización de los sitios subgingivales después del tratamiento periodontal⁽³⁴⁻³⁸⁾.

Las especies de BGN no fastidiosos aisladas en este estudio, fueron *P.aeruginosa*, *E.coli* y *A.faecalis*, en coincidencia con algunas de las especies aisladas por otros autores en diversas regiones del mundo^(19,20,26,28,38). Estas especies, principalmente *P.aeruginosa*, poseen muchos factores de virulencia que podrían causar daño a nivel periodontal⁽¹⁹⁾ y podrían explicar la no respuesta al tratamiento convencional. En este contexto es de gran importancia el hallazgo reportado en la literatura, que un 86,5 a 95% de los bacilos entéricos aislados de cavidad bucal mostraban resistencia a los niveles terapéuticos de Tetraciclina, Penicilina G y Eritromicina⁽¹⁹⁾ y que, posterior al tratamiento con antibióticos

de este tipo, ocurría un sobrecrecimiento de estas bacterias en la microbiota subgingival⁽²¹⁾. También se demostró que amoxicilina más ácido clavulánico y doxiciclina eran poco efectivos para eliminar *P.aeruginosa* y otras especies de enterobacterias, permitiendo la sobrevivencia selectiva de estos oportunistas⁽²⁰⁾.

Así, tomados en conjunto, estos resultados muestran que en nuestro país la presencia de patógenos inusuales, en sacos periodontales y dorso lingual en un grupo de pacientes con periodontitis tales como los BGN no fastidiosos podría influir en la baja o nula respuesta al tratamiento convencional como también en los casos de recurrencia de la enfermedad. Dado lo anterior, es interesante considerar la probable presencia de BGN no fastidiosos en los casos mencionados por lo que sugiere el análisis de la microbiota presente en saco periodontal y estudios de susceptibilidad

en el caso de aislamiento de estos patógenos. Asimismo, como nuestros datos indican, es de gran relevancia considerar el dorso lingual como reservorio posible de patógenos periodontales tanto clásicos como inusuales al momento de definir el tratamiento, hecho que justifica la desinfección de boca completa sugerida por otros autores^(31,40,41).

AGRADECIMIENTOS

Queremos expresar nuestros agradecimientos a la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile y la empresa Dentaid S.A. por el constante apoyo e implementación de este laboratorio, ya que sin su ayuda este trabajo no se habría realizado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Korman KS, Page RC, Tonette MS. The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the player. Review. Periodontology 2000, 1997, 14, 33-53.
- Slots J, Genco RJ. Black pigmented bacteroides species, capnocytophaga species, and Actinobacillus actinomycetemcomitans in human periodontal disease: virulence factors in colonization, survival, and tissue destruction. Journal of Dental Research. 1984 63, 412-421.
- Slots J. Subgingival microflora and periodontal disease. J Clin Periodontol 1979; 6: 351-382.
- Dahlen G, Manji F, Baelum V, Fejerskov O. Putative periodontopathogens in "diseased" and "non diseased" persons exhibiting poor oral hygiene. J. Clin. Periodontol; 1992; 19: 35-42.
- Hafajee AD, Socransky SS. Microbial etiological agents of destructive periodontal disease. Periodontol 2000; 1994;5: 78-111.
- Socransky SS, Hafajee AD, Cugeni MA, Smith C, Kent RL Jr. Microbial complexes in subgingival plaque J. Clin Periodontol 1998; 25:134-144.
- Tanner AC, Haffer C, Brathall GT, Visconti RA, Socransky SS. A study of the bacteria associated with advancing periodontitis in man J. Clin Periodontol 1979; 6:278-307.
- Dzink JL, Socransky SS, Hafajee AD. The predominant cultivable microbiota of active and inactive lesions of destructive periodontal diseases J. Clin Periodontol 1988; 15: 316- 323.
- Moore WEC, Moore LVH. Periodontal microbiota in different clinical conditions. Periodontology 2000, 1994 ; 5: 66-77.
- Moore WEC. Microbiology of periodontal disease. Journal of Periodontal Research 1987; 22: 335-341.
- Adams DF. Diagnosis and treatment of refractory periodontitis Curr Opin Dent. 1992; 2:33-38.
- Fine DH. Microbial identification and antibiotic sensitivity testing, an aid for patients refractory to periodontal disease. J Clin Periodontol 1994; 21: 98-106.
- Colombo AP, Hafajee AD, Dewhirst FE, Paster BJ, Smith SM, Cugini MA, Socransky SS. Clinical and microbiological features of refractory periodontitis subjects. J Clin Periodontol 1998;25: 169-180.
- Pihlstrom B. Periodontal risk assesment, diagnosis and treatment planning. Periodontology 2000. 2001; 25: 37-58.
- Dahlén G, Pipattanagovit P, Rosling B, Moller AJR. A comparison of 2 transport media for saliva and subgingival samples. Oral Microbiology and Immunology. 1993;8: 375-382.
- Aucken HM, Pitt TI. Antibiotic resistance and putative virulence factors of serratia marcesens with respect to O and K serotypes. J. Med Microbiol. 1998 47: 1105- 1113.
- Bodey GP, Bolivar R, Fainstain V, Jadela L. Infections caused by Pseudomonas aeruginosa. Rev. Infect. Disease. 1983 5: 279-313.
- Livrelli V, De Champs C, Di Martino P, Darfeuille- Michaud A, Forestier C. Adhesive properties and antibiotic resistance of Klebsiella, enterobacter and Serratia. Clinical isolates involved in nosocomial infections J. Clin Microbiol. 1996 34: 1963-1969.
- Slots J, Rams TE, Lisgarten MA. Yeast, enteric rods and pseudomonads in the subgingival flora of severe adult periodontitis. Oral Microbiol Immunol. 1988; 3: 47 – 52.
- Barbosa FCB, Mayer MPA, Saba- Chujfi E, Cai S. Subgingival occurrence and antimicrobial susceptibility of enteric rods and pseudomonads from Brazilian periodontitis patients. 2001; Oral Microbiol Immunol 2001; 16: 306-310.
- Rams TE, Babalola O, Slots J. Subgingival occurrence of enteric rods, yeasts and staphylococci after sistemyc doxycycline therapy. Oral Microbiol Immunol. 1990; 5: 166-168.
- Roldan S, Herrera D, Sanz M. Biofilms and the tongue: Therapeutical approaches for the control of halitosis. Clin Oral Invest. 2003;7: 189-197.
- Roldán S, Winkel EG, Herrera D, Sanz M, Van Winkelhoff AJ. The effects of a new mouthrinse containing Chlorhexidine, Cetylpyridinium Chloride and zinc lactate on the microflora of oral halitosis patients. A dual- centre, double-blind, placebo-controlled study. J. Clin Periodontol. 2003; 30: 427-434.
- Van Winkelhoff AJ, Van der Velden U, Winkel EG, De Graaf J. Black pigmented bacteroides and motile organisms on oral mucosal surfaces in individuals with and without periodontal breakdown. J.Periodontal Res. 1986.21: 434-439.
- Slots J, Feik D, Rams TE. Age and sex relationships of superinfecting microorganisms in periodontitis patients. Oral Microbiol Immunol ; 1990; 5: 305-308.
- Dahlén G, Wikstrom M. Occurrence of enteric rods, Staphylococci and Candida in subgingival samples. Oral Microbiol Immunol 1995; 10: 42-46.
- Ali RW, Velsescu C, Jivanescu MC, Lofthus B, Skaug N. Prevalence of six putative periodontal pathogens in subgingival plaque samples from Romanian adult periodontitis patients. J. Clin Periodontol. 1996;23: 133-139.
- Slots J, Rams TE, Feik D, Tareras HD, Gillespie M. Subgingival microflora of advanced periodontitis in the Dominican Republic. Journal of Periodontology 1991;62: 543-547.
- Ali RW, Babben V, Nelsen R, Skaug N. Comparative detection frequency of six putative periodontal pathogens in Sudanese and Norwegian adult periodontitis patients. Journal of Periodontology 1994;65: 1046-1052.
- Silva N, Gamonal J, Gajardo M. Ocurrencia de bacilos Gram negativos no fastidiosos y levaduras en la microbiota subgingival de pacientes chilenos con periodontitis. Rev. Odont.Mex.2006;10(3) 119-125.
- Quirynen M, Mongardini C, Pauwels M, Bollen C, Van Eldere J, Van Steenberghe D. One stage Full – Versus partial mouth disinfection in the treatment of chronic adult or generalized Early- Onset Periodontitis. II Long- Term impact on microbial load. J. Periodontol 1999 ; 70: 646-656.
- Slots J. Rapid identification of important periodontal microorganisms by cultivation" Oral Microbiol Immunol 1986; 1 (1) 48- 57.
- Gamonal J, López N, Aranda W. Periodontal condition and treatment need by CPITN, in the 30-44 and 65- 74 years old population in Santiago- Chile. Int Dent J. 1998;48: 96-103.
- Quirynen M, Litsgarten MA. The distribution of bacterial morphotypes around natural teeth and titanium implants ad modum Branemark. Clin Oral Implant Res. 1990; 1: 8-12.
- Quirynen M, Papaioannou W, Van Steenberghe D. Intraoral transmission and the colonization of oral hard susfaces. J. Periodontol. 1996; 67: 986-993.
- Mongardini C, Van Steenberghe D, Dekeyes C, Quirynen M. One stage full – Versus partial mouth disinfection in the treatment of chronic adult or generalized Early- Onset periodontitis. I long term clinical observations. J. Periodontol 1999; 70: 632-645.
- Slots J, Rams TE. Antibiotics in periodontal therapy: Advantages and disadvantages. J. Clin Periodontol. 1990 ; 17: 475-493.
- Pancic MJ, Van Winkelhoff AJ, Douqué NH, Steures RWR, de Graaff J. Microbiological and clinical effects of metronidazole and amoxicillin in actinobacillus actinomycetemcomitans associated periodontitis. A 2- year evaluation. J. Clin Periodontol 1994; 21: 107-112.
- Helovuo H, Hakkarainen K, Paunio K. Changes in the prevalence of subgingival enteric rods, staphylococci and yeasts after treatment with penicillin and erythromycin. Oral Microbiol Immunol 1993;8: 75-79.
- Danser MM, Timmerman MF, Van Winkelhoff AJ, Van der Velden U. The effect of periodontal treatment on periodontal bacteria on the oral mucous membranes. J. Periodontol. 1996; 67: 478-485.
- Von Troil- Linden B, Saarela M, Matto J, Alaluusua M, Jousimies- Somer H, Asikainen S. Source of suspected periodontal pathogens re- emerging after periodontal treatment. J. Clin Periodontol. 1996; 23: 601-607.

CORRESPONDENCIA AUTOR

Nora del Carmen Silva Steffens
Facultad de Odontología, Universidad de Chile
Olivos 943. Independencia. Santiago. Chile.
norasilvasteffens@hotmail.com

Trabajo recibido el 04/07/2007.

Aprobado para su publicación el 18/12/2007.

Variabilidad de la Respuesta de las Células Dendríticas Estimuladas *in vitro* con *Porphyromonas gingivalis* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Variable Dendritic Cells Response upon Stimulation with *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans in vitro*

Vernal R¹, León R¹, Dutzan N¹, Herrera D², García-Sanz JA³, Silva A³, Sanz M²

RESUMEN

Las células dendríticas son células presentadoras de antígeno capaces de inducir la activación y maduración de linfocitos T CD4+ vírgenes hacia un fenotipo efector específico Th1 o Th2, dependiendo del tipo de antígeno presentado, las señales co-estimuladoras que expresan y el ambiente de citoquinas en el cual se produce la interacción célula-célula. El objetivo del presente trabajo es analizar la respuesta de las células dendríticas estimuladas *in vitro* con distintas concentraciones de las bacterias periodontopatógenas *Pg* y *Aa*. En células dendríticas derivadas de monocitos de sangre periférica estimuladas con 10¹ a 10⁹ bacterias/mL de *Pg* y *Aa* se evaluó la expresión del marcador de maduración CD80 mediante citometría de flujo y de las citoquinas IL1β, IL2, IL5, IL6, IL10, IL12, IL13, IFNγ, TNFα y TNFβ mediante RT-PCR cuantitativa. *Aa* y *Pg* indujeron maduración de las células dendríticas, detectándose significativamente mayor expresión de CD80 con la estimulación de *Aa*, e indujeron predominantemente la expresión de citoquinas propias de una respuesta Th1. Dependiendo de la carga bacteriana, fueron detectados distintos umbrales de inducción de expresión de citoquinas. *Aa* indujo la síntesis de IL1β, IL12, IFNγ, TNFα y TNFβ a menor carga bacteriana que *Pg*. Tomados en conjunto, estos datos nos permiten especular un mayor potencial antigénico y proyectar una mayor capacidad patogénica durante la infección periodontal de *Aa* en comparación a *Pg*. *Rev. Clin Periodoncia Implantol Rehabil. Oral Vol. 1 (1); 9-16, 2008.*

Palabras clave: Células dendríticas, citoquinas, *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

ABSTRACT

Dendritic cells are potent antigen-presenting cells able to prime naïve T cells and polarize them towards a Th1 or Th2 response, depending on the type of the antigen presented to the TCR, the type of costimulatory signals, and the cytokine pattern in the environment. The aim of this work was to analyze the response of dendritic cells to *in vitro* stimulation with *Pg* and *Aa*. In monocyte-derived dendritic cells stimulated with 10¹ to 10⁹ bacteria/mL of *Pg* or *Aa* were evaluated both the expression of the maturation marker CD80 by flow cytometry and the expression of the cytokines IL1β, IL2, IL5, IL6, IL10, IL12, IL13, IFNγ, TNFα and TNFβ by quantitative RT-PCR. Both *Pg* and *Aa* led to dendritic cell maturation, detecting higher CD80 expression upon *Aa*-stimulation, and induced a Th1 pattern of cytokine expression. *Aa*-stimulated dendritic cells expressed IL1β, IL12, IFNγ, TNFα and TNFβ mRNAs with lower bacterial charge than with *Pg*. Furthermore, our data indicated the existence of distinct thresholds for the induction of the different cytokines analyzed. Taken together, these data allow us to speculate a higher antigenic potential and higher pathogenic capacity of *Aa* than *Pg* during periodontal infections. *Rev. Clin Periodoncia Implantol Rehabil. Oral Vol. 1 (1); 9-16, 2008.*

Rev. Clin Periodoncia Implantol Rehabil. Oral Vol. 1 (1); 9-16, 2008.

Key words: Dendritic cells, cytokines, *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

INTRODUCCIÓN

La periodontitis crónica es una enfermedad infecciosa causada por bacterias organizadas como biofilm y que colonizan la superficie dentaria en el área del surco gingival⁽¹⁾. La enfermedad se desencadena por un desequilibrio en la respuesta inmune del hospedador debido a un incremento de bacterias periodontopatógenas específicas, que provoca la liberación de un rango amplio de citoquinas, quimioquinas y mediadores pro-inflamatorios, causando la destrucción de los tejidos de soporte periodontales, hueso alveolar, cemento radicular y ligamento periodontal, y que lleva finalmente a la pérdida de los dientes^(2,3).

La activación de la respuesta inmune involucra una serie de acontecimientos celulares y moleculares altamente coordinados cuyo papel fundamental es la defensa frente a la infección⁽⁴⁾. Las células dendríticas (CDs) son esenciales para el inicio y regulación de la respuesta inmune tanto innata como adquirida y conforman un puente entre ambas⁽⁵⁾. Las CDs son células pre-

sentadoras de antígeno (APCs, del inglés: antigen presenting cells) capaces de inducir la activación y maduración de linfocitos T vírgenes (T naïve) hacia un fenotipo efector específico T-cooperador (Th, del inglés: T-helper) 1 o Th2^(6,7), dependiendo del tipo de antígeno presentado, el subtipo de CDs involucrado, las señales co-estimuladoras que expresan y el ambiente de citoquinas en el cual se produce la interacción célula-célula^(4,8). En los tejidos peridentarios de individuos con enfermedad periodontal se han identificado abundantes CDs inmaduras, incluyendo células de Langerhans y CDs dermales (CDDs)⁽⁹⁾, y CDs maduras CD83+⁽¹⁰⁾. Las CDDs son funcionalmente similares a las CDs diferenciadas *in vitro* a partir de monocitos de sangre periférica (MoCDs) y se han identificado en asociación directa a linfocitos T durante la periodontitis⁽¹¹⁾.

En el reconocimiento de antígenos por parte de las CDs participa un número limitado de receptores, llamados receptores de reconocimiento de patógenos, los cuales reconocen patrones moleculares altamente conservados asociados a patógenos

(PAMPS, del inglés: pathogen-associated molecular patterns). Al capturar los antígenos, las CDs modifican sus propiedades funcionales: migran hacia los ganglios linfáticos regionales, expresan moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC, del inglés: major histocompatibility complex), se transforman en CDs maduras con la capacidad de presentar antígenos, expresan moléculas co-estimuladoras, interactúan con células T naïve, producen citoquinas pro-inflamatorias, e inducen la activación de linfocitos T efectores antígeno-específicos⁽¹²⁻¹⁴⁾.

Los linfocitos T CD4+ son determinantes esenciales del tipo de respuesta inmune desarrollada frente al biofilm. Los linfocitos T CD4+ efectores pueden clasificarse en Th1 y Th2 de acuerdo al patrón de citoquinas que sintetizan. Las células Th1 secretan predominantemente interferón (IFN) γ , interleukina (IL) 1 β , IL2, IL12, factor de necrosis tumoral (TNF) α y TNF β , que son esenciales para la erradicación de patógenos intracelulares. Por otro lado, las células Th2 sintetizan IL4, IL5, IL6 e IL13, que son críticas para la producción de anticuerpos y la eliminación de microorganismos extracelulares⁽¹⁵⁾.

Durante las dos últimas décadas, numerosos estudios han sustentado la hipótesis que indica que la lesión periodontal estable se asocia con una respuesta tipo Th1 y la progresión de la enfermedad periodontal se asocia con una respuesta predominantemente tipo Th2⁽¹⁶⁻²⁰⁾. Sin embargo, otros estudios han sugerido un predominio de respuesta Th1 y una reducida respuesta tipo Th2 durante la periodontitis^(21,22). Esta controversia ha aumentado en los últimos años, dado que, algunos autores han establecido que tanto una respuesta Th1 como Th2 se asocian a la enfermedad periodontal^(23,24) y otros que la enfermedad periodontal se asocia a una respuesta tipo Th2^(25,26).

Recientemente, Kikuchi y colaboradores han observado que MoCDs estimuladas *in vitro* con *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) producen elevados niveles de IL12 y promueven la síntesis de IFN γ por células natural killer (NK), sugiriendo una respuesta inmune potencialmente Th1⁽²⁷⁾. El mismo grupo mostró un incremento en la producción de citoquinas Th1 en MoCDs estimuladas *in vitro* con *Porphyromonas gingivalis* (Pg), mostrando una fuerte expresión de IL12 en presencia de IFN γ ⁽²⁸⁾. Tomados en conjunto, estos trabajos evidencian una diferencia en la síntesis de IL12 cuando se utilizó el mismo número de Pg o Aa para la estimulación *in vitro* de MoCDs. Así, cuando fue evaluada la síntesis de IL12 mediante ELISA en 2x10⁶ MoCDs/mL después de 24 hrs. de estimulación con Aa, Pg o *E. coli* (10⁵ a 10⁶ bacterias/mL), fueron detectados mayores niveles de IL12 en MoCDs estimuladas con Aa en comparación a las estimuladas con Pg o *E. coli*, con un efecto dosis-dependiente. Además, demostraron que el lipopolisacárido (LPS) de Aa es un inductor más potente de la expresión de CD86 en CDs que el LPS de *E. coli*^(27,28). Nuevamente, estos datos sugieren que la respuesta *in vitro* de las CDs depende del tipo de bacteria periodontopatógena con la cual son estimuladas, datos que han sido recientemente corroborados al comprobarse un efecto antagónico en la respuesta de CDs estimuladas con 2 cepas distintas de Pg. Aunque la cepa Pg 381, caracterizada por la presencia de fimbria, ha mostrado un efecto inductor potente de la síntesis de IL12⁽²⁹⁾, al estimular las CDs con la cepa Pg O55:B5 se ha detectado una débil respuesta inmunoestimuladora de la síntesis de IL6, IL8, IL10, IL12 y RANTES⁽³⁰⁾. Confirmando estos datos, Jotwani y Cutler demostraron que la cepa Pg 381 con fimbria es más eficaz que la cepa mutante Pg DPG3 carente de fimbria en invadir y penetrar CDs, inducir la expresión de HLA-DR, CD83, CD80 y CD86 y la síntesis de IL6, IL10, IL12 y TNF α en MoDCs, y estimular la proliferación y la síntesis de IFN γ en linfocitos T⁽²⁹⁾. Adicionalmente, Choi y colaboradores han observado una modulación de la respuesta inmune inducida por Pg ante la exposición previa del hospedador a *F. nucleatum*, simulando la infección

bacteriana secuencial observada durante la periodontitis, indicando un cambio a una respuesta Th2 en vez de la respuesta inmune Th1 original⁽³¹⁾.

Estos datos podrían sugerir un diferente potencial antigénico entre Aa y Pg u otras bacterias periodontopatógenas, caracterizado por la expresión de patrones de citoquinas distintos y por una distinta capacidad de estimulación a diferentes concentraciones de carga bacteriana. Hoy en día, la caracterización de subtipos genéticos de algunas bacterias orales⁽³²⁾ permite extender ésta hipótesis, proponiendo que los distintos subtipos genéticos de una bacteria periodontopatógena determinada podrían estimular la síntesis de distintos patrones de citoquinas e inducir una respuesta inmune diferente. El objetivo del presente trabajo es analizar la expresión de CD80, marcador de maduración de CDs, y de las citoquinas IL1 β , IL2, IL5, IL6, IL10, IL12, IL13, IFN γ , TNF α y TNF β en CDs estimuladas *in vitro* por distintas concentraciones de las bacterias periodontopatógenas Pg y Aa, para así evaluar los patrones de citoquinas expresados.

El poder entender el papel de las distintas bacterias periodontopatógenas y de sus subtipos genéticos en la inducción de citoquinas en CDs y en linfocitos T efectores, ampliaría en gran medida el conocimiento de la patogénesis de la periodontitis. Una distinta capacidad inmunogénica de las bacterias periodontales y sus determinados subtipos contribuiría a explicar la variabilidad en la respuesta a la infección observada en distintos individuos, así como, las variaciones de actividad de respuesta observadas en los distintos sitios periodontales asociadas a una determinada ecología bacteriana local durante la periodontitis.

MATERIAL Y MÉTODOS

Sujetos

Muestras de sangre venosa fueron obtenidas por punción braquial de 10 individuos donantes voluntarios sanos en el Centro de Transfusiones de la Comunidad de Madrid perteneciente al Ministerio de Sanidad de España, y fueron transportadas en condiciones isotérmicas para su inmediato análisis.

Separación celular

Las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) fueron aisladas mediante un gradiente de concentración de Ficoll-Paque Plus (Amersham Pharmacia Biotech AB, Uppsala, Sweden), de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Los monocitos fueron purificados a partir de las PBMC utilizando un sistema magnético de separación celular (MACS, Miltenyi Biotec GmbH, Bergisch Gladbach, Germany). Brevemente, las PBMC fueron lavadas dos veces en PBS y posteriormente fueron incubadas con un anticuerpo monoclonal anti-CD14 humano conjugado con partículas inmunomagnéticas durante 15 min a 4°C. Después de lavarse en PBS una vez, las células fueron resuspendidas y cargadas en una columna de separación LS montada en un dispositivo generador de un campo electromagnético. La fracción de células positivas fue inmediatamente resuspendida y se procedió a su análisis mediante citometría de flujo. 10⁶ células fueron incubadas con los anticuerpos monoclonales anti-CD1a, -CD14, -CD80, -CD83 y -CD86 humanos (BD Biosciences Pharmingen, San José, CA, USA), durante 20 min a 4°C en la oscuridad, para determinar la eficacia de aislamiento de monocitos mediante citometría de flujo (EPICS XL, Beckman Coulter Inc., Fullerton, CA, USA).

Diferenciación de células dendríticas

Las CDs fueron obtenidas a partir de los leucocitos CD14+ aislados utilizando un protocolo de diferenciación estan-

darizado⁽³³⁾. Brevemente, 10⁶ células/mL fueron cultivadas en placas de 6 pocillos en 3 mL de medio de cultivo RPMI 1640 suplementado con 10% de suero bovino fetal (Gibco Invitrogen Corp., Grand Island, NY, USA), en presencia de 1000 U/mL de rhGM-CSF y 1000 U/mL de rhIL4 (Immunotools GmbH, Friesoythe, Germany) y mantenidas durante 6 días a 37°C en ambiente 5% de CO₂. Cada 2 días se adicionaron 200 µL de medio fresco suplementado con 1000 U/mL de rhGM-CSF y 1000 U/mL de rhIL4. La eficacia de diferenciación a CDs inmaduras fue evaluada mediante citometría de flujo como ha sido descrito en el párrafo anterior.

Curvas de crecimiento bacteriano

Las cepas bacterianas Pg ATCC 33277 y Aa ATCC 33384 fueron sembradas en medio de cultivo no selectivo “agar-sangre” que contiene agar y 5% de sangre de caballo (Oxoid N°2, Oxoid Ltd., Basingstoke, UK) suplementado con 5 mg/mL de hemina y 1 mg/mL de menadiona e incubados a 37°C en un ambiente de 80% de N₂, 10% de CO₂ y 10% de H₂.

Las curvas de crecimiento fueron realizadas en medio líquido infusión “cerebro-corazón” (BD Co., Le Pont de Claix, France) suplementado con 5 mg/mL de hemina y 1 mg/mL de menadiona. Cada especie bacteriana fue inoculada en 10 mL de medio de cultivo hasta alcanzar una densidad óptica (DO) de 0,05 medida en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 550 nm (Spectronic 20, Bausch & Lomb, Rochester, NY, USA). A continuación, cada 2 a 5 horas, dependiendo de la especie bacteriana en estudio, se realizaron lecturas sucesivas de DO. Adicionalmente, 100 µL de medio de cultivo fueron recogidos y se hicieron diluciones seriadas en PBS (log10); 100 µL de cada dilución fueron sembrados en medio de cultivo no selectivo e incubados a 37°C en condiciones anaeróbicas para posterior cuantificación de bacterias/mL en cada DO medida. El experimento se completó cuando cada especie bacteriana alcanzó la fase estacionaria de crecimiento. Después de 3 a 7 días de incubación, las colonias bacterianas fueron cuantificadas. Finalmente, se confeccionaron las gráficas de las curvas tiempo de cultivo versus DO y bacterias/mL versus DO para establecer el número de bacterias vivas con potencial antigénico previa estimulación de las CDs inmaduras en cultivo.

Estimulación de las células dendríticas

Las CDs inmaduras fueron estimuladas con 10¹ a 10⁹ bacterias/mL o con 10 ng/mL de LPS de *E. coli* serotipo 0111: B4 (Fluka, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Buchs, Switzerland), como control positivo de estimulación, durante 2 días y en las condiciones de cultivo anteriormente descritas. La obtención de CDs maduras fue evaluada mediante citometría de flujo. Como control fueron usadas CDs mantenidas en cultivo sin estimulación.

Extracción de ARN citoplasmático

Previo lavado 3 veces en PBS, las células se resuspendieron en 400 µL de tampón de lisis compuesto de solución Noidet P-40 (NP-40) 0,5%, Tris HCl pH 8 50 mM, NaCl 100 mM y MgCl₂ 5 mM, suplementado con Vanadyl Ribonucleoside Complexes (VRC) 10 mM (Gibco), para lisar la membrana citoplasmática. Tras una breve centrifugación a 14000 rpm durante 10 seg a 4°C, se recogieron 400 µL del sobrenadante, que fue digerido mediante incubación en 20 µL de SDS 20%, 12 µL de EDTA 0,5 M y 10 µL de proteinasa K 10 mg/mL (Roche Ltd., Basel, Switzerland) durante 30 min a 37°C. El ácido ribonucleico (ARN) total se extrajo con 400 µL de solución de cloropán que contiene fenol, cloroformo y alcohol isoamílico (Fluka) en la proporción 25:24:1 y centrifugando

a 14000 rpm durante 10 min a TA, posteriormente se precipitó adicionando 40 µL de acetato de sodio 3M, 1 mL de etanol 100% y glicógeno 0,05% (Roche) por 1 hr a -20°C, y, tras centrifugación a 14000 rpm durante 30 min a 4°C, el precipitado se resuspendió en 20 µL de H₂O libre de ARNasas. La calidad del ARN extraído fue determinada en un Bioanalizador Agilent 2100B (Agilent Tech., Palo Alto, CA, USA). Previa cuantificación en Nanodrop ND-1000 Spectrophotometer (Nanodrop Technologies, Inc., Wilmington, DE, USA), la concentración de ARN fue ajustada a 1 µg/µL con H₂O libre de ARNasas.

Síntesis de la primera cadena de cADN

La transcripción reversa (TR) de 1 µg de ARN fue realizada utilizando un kit Transcriptor First Strand cDNA Synthesis (Roche), de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Brevemente, 20 µL de volumen total de reacción conteniendo 4 µL de tampón de TR, 0,5 µL de inhibidor de ARNasas, 2 µL de mezcla de deoxinucleótidos, 2 µL de primers hexaméricos aleatorios, 0,5 µL de enzima de TR, 10 µL de H₂O y 1 µL de ARN, fueron retro-transcritos utilizando las siguientes condiciones: 10 min a 25°C, 1 hr a 50°C (Primus 96 plus, MWG Biotech AG, Ebersberg, Germany).

PCR cuantitativa

Para examinar la expresión de ARN mensajero de las citoquinas IL1β, IL2, IL5, IL6, IL10, IL12p35, IL12p40, IL13, IFNγ, TNFα y TNFβ, 50 ng de ácido desoxiribonucleico complementario (cADN) fue amplificado mediante PCR cuantitativa en tiempo real utilizando un kit FastStart Taqman Probe Master de acuerdo a las instrucciones del fabricante (Roche). Los primers forward y reverse fueron diseñados y una sonda específica conjugada al fluorocromo FAM fue seleccionada (Tabla 1) utilizando la página web de Laboratorios Roche (www.roche-applied-science.com). Un volumen final de reacción de 10 µL conteniendo 0,1 µL de sonda PCR, 0,1 µL de forward primer, 0,1 µL de reverse primer, 5 µL de FastStart Master, 3,7 µL de H₂O grado PCR y 1 µL de cADN, fueron amplificados en las siguientes condiciones: 10 min a 95°C y 40 ciclos de 15 seg a 95°C y 1 min a 60°C, en un termociclador ABI PRISM 7900 Sequence Detector System (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Como control endógeno la expresión del ARN ribosómico de la sub-unidad 18S fue cuantificada.

TABLA 1. Forward primers, reverse primers y sondas utilizadas para la cuantificación de citoquinas mediante PCR en tiempo real.

Citoquina	Forward Primer	Reverse Primer	Sonda*
IL1β	ctgtcctcgtgtgaaaga	ttggtaattttgggactaca	78
IL2	aagtttacatgccaagaagg	aagtgaagttttgcttgagc	65
IL5	ctctgaggattcctgttctgt	cagtaacccttgcacagtt	47
IL6	gcccagctatgaactcctct	gaaggcagcaggcaaac	45
IL10	tgggggagaacctgaagac	ccttgccttgtttcacagg	30
IL12p35	cactccaaaacctgctgag	tctctcagaagtcaagggtta	50
IL12p40	cctgacattctgcgttca	aggcttgcctggaagactcta	37
IL13	agccctcaggaggctcat	ctccatccatgctgccatt	17
TNFα	cagcctcttctcctctgat	gccagaggctgattagaga	29
TNFβ	ctaccgccagcagtgctc	gtgggtgatggggaga	13
IFNγ	ggcatttgaagaattgaaag	tttgatgctctgctcatct	21
18S	ctcaacacgggaacctcac	cgctccaccaactaagaacg	77

IL: Interleukina.

TNF: Factor de necrosis tumoral.

IFN: Interferón.

18S: Sub-unidad 18S ribosomal.

* Sonda de hidrólisis FAM-conjugada (Roche).

Análisis de los datos

Los datos de citometría de flujo fueron analizados utilizando el programa computacional WinMDi 2.8 y fueron representados como histogramas. Las células positivas para cada marcador CD fueron expresadas como porcentaje de la población total. Los datos de PCR cuantitativa fueron analizados con el programa ABI PRISM Sequence Detector Systems. La cuantificación relativa de cada citoquina se obtuvo ajustando la expresión de su respectivo ARN mensajero a la expresión del ARN ribosómico de 18S y considerando la expresión ajustada de ellas en CDs no estimuladas usadas como control. Los datos fueron expresados como media ± desviación estándar y fueron analizadas estadísticamente utilizando el paquete estadístico SPSS 13.0.1 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Se consideraron las diferencias como estadísticamente significativas cuando $p < 0,05$.

RESULTADOS

La eficiencia de purificación de monocitos, la diferenciación a CDs inmaduras y su activación en cultivos estimulados con *Pg* y *Aa* se evaluó mediante citometría de flujo. Histogramas representativos se muestran en la Figura 1.

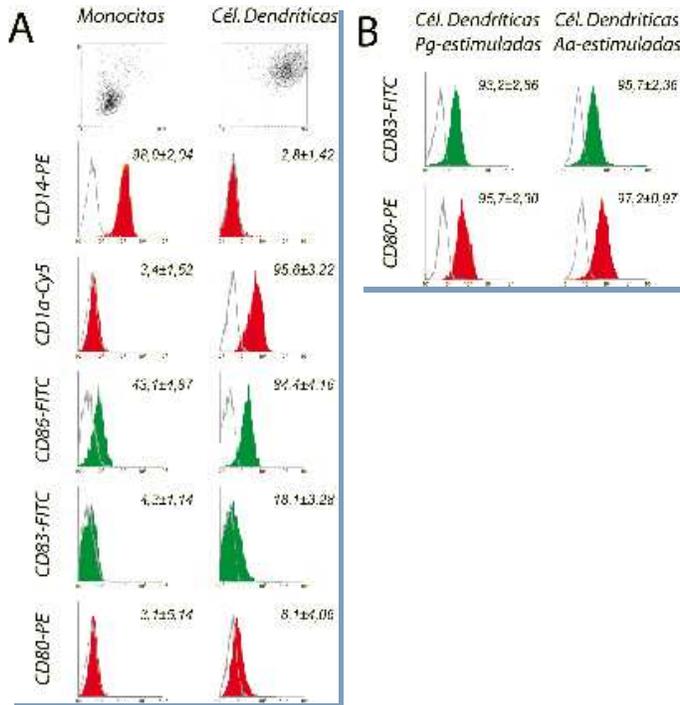


FIGURA 1. Análisis mediante citometría de flujo de los monocitos purificados y de las CDs diferenciadas y estimuladas *in vitro* con *Porphyromonas gingivalis* o *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. **(A)** Eficiencia de purificación de monocitos y diferenciación de CDs. **(B)** Activación de las CDs con 10^1 a 10^9 bacterias/mL de *Aa* y *Pg*. Las células fueron marcadas con anticuerpos monoclonales anti-CD1a, -CD14, -CD80, -CD83 y -CD86 conjugados con phycoerythrin (PE), fluorescein isothiocyanate (FITC) o Cyanine 5 (Cy5) y fueron evaluadas mediante citometría de flujo. El porcentaje de expresión positiva de 3 experimentos independientes se muestra como promedio ± desviación estándar.

Los cultivos de las CDs obtenidas de sangre periférica y estimuladas durante 48 hs con 10^1 a 10^9 bacterias/mL de *Pg* ATCC 33277 o *Aa* ATCC 33384 generan agregados celulares claramente observables a partir de concentraciones bacterianas de 10^5 bacterias/mL en cultivos estimulados con *Pg* y 10^1 bacterias/mL en cultivos estimulados con *Aa* (Figura 2). A partir de estas concentraciones bacterianas, los agregados celulares aumentan en número de manera dosis-dependiente, alcanzando, a concentraciones de 10^8 a 10^9 bacterias/mL en cultivos estimulados con *Pg* y 10^7 a 10^9 bacterias/mL en cultivos estimulados con *Aa*, una frecuencia y aspecto similar a los observables en cultivos de CDs estimulados con LPS de *E. coli* (10 ng/mL), utilizados como control positivo. Los cultivos de CDs estimuladas con *Pg* en concentraciones de 10^1 a 10^4 bacterias/mL no muestran agregados celulares, observándose células aisladas de aspecto similar al observado en cultivos de CDs sin estimular, utilizados como control negativo.

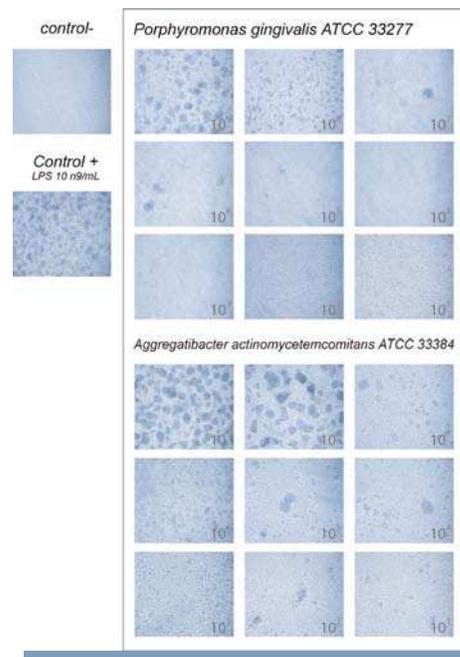


FIGURA 2. Imágenes microscópicas de CDs estimuladas *in vitro* con *Porphyromonas gingivalis* o *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Imágenes representativas que muestran CDs estimuladas con 10^1 a 10^9 bacterias/mL de *Pg* ATCC 33277 o *Aa* ATCC 33384. CDs no estimuladas se utilizaron como control negativo (Control -) y CDs estimuladas con LPS de *E. coli* (10 ng/mL) se utilizaron como control positivo (Control +). Se observan agregados celulares a partir de cargas bacterianas de 10^5 para *Pg* y 10^1 para *Aa*, alcanzando, en forma dosis-dependiente, agregación de aspecto similar al Control + a cargas bacterianas de 10^7 a 10^9 para *Aa* y 10^8 a 10^9 para *Pg*.

Los cambios morfológicos de las células van acompañados por cambios en la expresión del marcaje de activación CD80, medidos por citometría de flujo en cultivos celulares estimulados durante 48 hs con 10^1 a 10^9 bacterias/mL de *Pg* ATCC 33277 o *Aa* ATCC 33384 (Figura 3). Los porcentajes de expresión de CD80 varían entre $22,63 \pm 2,32\%$ y $95,75 \pm 2,30\%$ para *Pg* y entre $26,10 \pm 3,30$ y $97,24 \pm 0,97$ para *Aa*. También son detectables mayores niveles de inducción de expresión de CD80 en cultivos de CDs estimulados con *Aa* en comparación a cultivos estimulados con *Pg*, con diferencias estadísticamente significativas a concentraciones bacterianas de 10^3 bacterias/mL ($44,46 \pm 2,17$ vs. $33,07 \pm 1,43$; $p = 0,004$), 10^4 bacterias/mL ($60,29 \pm 2,12$ vs. $44,18 \pm 2,72$; $p = 0,004$), 10^5 bacte-

rias/mL (74,68±3,69 vs. 63,12±1,67; p=0,023) y 10⁶ bacterias/mL (85,13±1,48 vs. 74,90±2,97; p=0,018). Finalmente, observamos un plateau de expresión de CD80 a concentraciones de 10⁸ a 10⁹ bacterias/mL de *Aa* (95,11±1,15 y 97,24±0,97) y *Pg* (94,51±1,27 y 95,75±2,30).

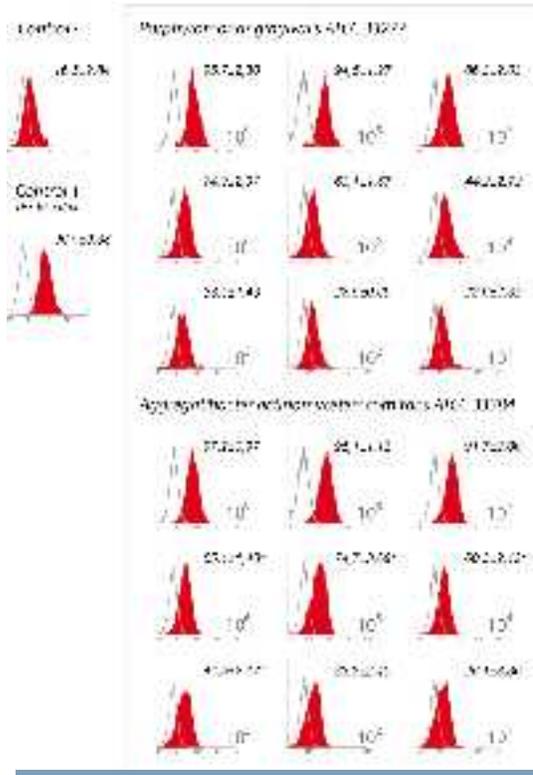


FIGURA 3. Análisis de citometría de flujo de la expresión de CD80-PE en CDs estimuladas con *Porphyromonas gingivalis* o *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Histogramas que muestran CDs estimuladas con 10¹ a 10⁹ bacterias/mL de *Pg* ATCC 33277 o *Aa* ATCC 33384. CDs no estimuladas se utilizaron como control negativo (Control -) y CDs estimuladas con LPS de *E. coli* (10 ng/mL) se utilizaron como control positivo (Control +). Se observa que la inducción de la expresión de CD80 es dosis-dependiente y mayor en CDs estimuladas con *Aa* en comparación a con *Pg*, alcanzando un plateau de expresión a cargas bacterianas de 10⁸ a 10⁹ bacterias/mL. El porcentaje de expresión de CD80 de 3 experimentos independientes se muestra como promedio ± desviación estándar. El análisis estadístico se realizó utilizando el test Chi-cuadrado. Se consideró la diferencia como estadísticamente significativa cuando p<0,05.

La expresión relativa de las citoquinas IL1β, IL2, IL5, IL6, IL10, IL12, IL13, IFNγ, TNFα y TNFβ, en CDs estimuladas *in vitro* durante 48 hs con 10¹ a 10⁹ bacterias/mL de *Pg* ATCC 33277 o *Aa* ATCC 33384, cuantificada mediante PCR en tiempo real, se muestran en la Figura 4. La expresión de citoquinas aumenta de manera dependiente de la concentración bacteriana de estimulación, detectándose mayores niveles relativos de IL1β, IL12p35, IL12p40, IFNγ y TNFα en CDs estimuladas con *Aa* en comparación a las estimuladas con *Pg*. La citoquina IL5 no se induce a ninguna concentración de *Pg* y *Aa*, a diferencia de IL6, IL10 e IL13 que, aunque no muestran diferencias de expresión entre cultivos de CDs estimulados tanto con *Pg* como *Aa*, aumentan en un bajo orden de magnitud a concentraciones bacterianas de 10⁸ y 10⁹ bacterias/mL. Los niveles de expresión de TNFβ son mayores en cultivos de CDs estimulados con *Aa* a concentraciones de 10⁴ a 10⁷ bacterias/mL, pero a concentraciones de

10⁸ y 10⁹ bacterias/mL la expresión es mayor en cultivos estimulados con *Pg*. En todos los experimentos la expresión de IL2 fue indetectable a cualquiera de las concentraciones de *Pg* o *Aa*, así como en CDs sin estímulo bacteriano (datos no mostrados). También se observan claras diferencias entre *Aa* y *Pg* en el inicio de la inducción de expresión relativa de IL1β, IL10, IL12p35, IL12p40, IFNγ, TNFα y TNFβ dependiendo de la concentración bacteriana de estimulación. La expresión relativa de IL1β y TNFβ comienza a inducirse a concentraciones bacterianas de 10⁴ bacterias/mL de *Aa* y 10⁸ bacterias/mL de *Pg*, la expresión de IL12p35 a concentraciones de 10⁵ y 10⁷ bacterias/mL de *Aa* y *Pg*, IL12p40 a concentraciones de 10⁴ y 10⁷ bacterias/mL de *Aa* y *Pg*, y tanto IFNγ como TNFα a concentraciones de 10⁶ y 10⁸ bacterias/mL de *Aa* y *Pg*, respectivamente.

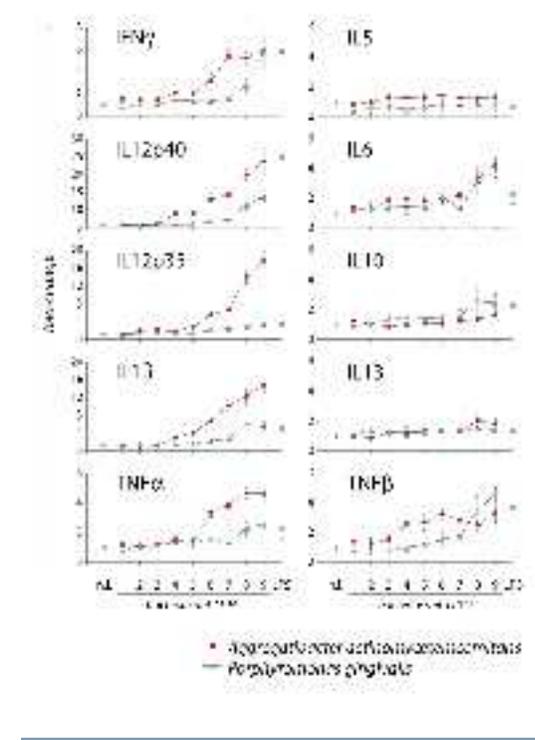


FIGURA 4. Expresión de citoquinas en CDs estimuladas *in vitro* con *Porphyromonas gingivalis* o *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* evaluada mediante PCR cuantitativa. Expresión relativa de IL1β, IL5, IL6, IL10, IL12p35, IL12p40, IL13, IFNγ, TNFα y TNFβ en CDs estimuladas con 10¹ a 10⁹ bacterias/mL de *Pg* ATCC 33277 o *Aa* ATCC 33384 (triángulos verdes y círculos rojos, respectivamente). Como control positivo se utilizaron CDs estimuladas con 10 ng/mL LPS de *E. coli* (cuadrados azules) y como parámetro de cuantificación relativa (valor 1) la expresión en CDs sin estimular (rombos amarillos). Datos de 3 experimentos independientes se muestran como promedio ± desviación estándar. IL: Interleukina. TNF: Factor de necrosis tumoral. IFN: Interferón.

DISCUSIÓN

Las CDs representan a una extensa familia de APCs que circulan a través del torrente sanguíneo y se distribuyen en casi todos los tejidos del organismo⁽³⁴⁾. Forman parte del sistema inmune innato y sirven de puente con el sistema inmune adaptativo⁽⁵⁾. Mientras están en un estado inmaduro las CDs capturan microorganismos y sus antígenos, y estimulan a las células T en respuesta a esos antígenos en un estado maduro⁽⁷⁾.

Inicialmente, el microorganismo debe ser reconocido y capturado por las APCs, los antígenos bacterianos son entonces

procesados y conjugados intracelularmente con moléculas MHC tipo II para así ser presentados a las células T, que poseen en su superficie un receptor específico para reconocer el complejo antígeno-proteína MHC denominado receptor de linfocitos T (TCR)^(12,35). Esta señal es suficiente para estimular células T activadas o de memoria previamente sensibilizadas con el antígeno específico. Para estimular células T inmaduras que nunca han reconocido un antígeno particular, las CDs expresan una serie de señales co-estimuladoras, tales como CD80 y CD86, en respuesta a los microorganismos y citoquinas pro-inflamatorias, las que en conjunto con el complejo antígeno-proteína MHC sensibilizan a las células T^(15,35).

Existen abundantes antecedentes que evidencian el papel de las CDs en la salud oral y en la patogénesis de las enfermedades de la encía. En los tejidos periodontales se ha observado una proximidad estrecha entre células de Langerhans y linfocitos T en el epitelio gingival^(36,37) y entre CDs maduras y el foco de linfocitos T CD4+ y CD8+ en el tejido conectivo gingival^(10,11).

Las células de Langerhans son CDs involucradas en la respuesta a la infección de la encía y la mucosa oral⁽¹²⁾, e incrementan en número durante la gingivitis y la periodontitis^(10,38,39). Se ha propuesto una estratificación celular, donde las células de Langerhans epiteliales reconocen los antígenos del biofilm bacteriano a nivel local y migran al tejido conectivo subyacente, madurando a células que expresan moléculas MHC clase II, en respuesta a las citoquinas inflamatorias y al patrón molecular PAMPS asociado^(12,40).

Uno de los factores determinantes de la historia natural de la periodontitis es el desarrollo de un fenotipo de respuesta Th1 o Th2. El tipo de antígeno, la forma en que éste es reconocido y procesado por las CDs, el subtipo de CDs que participa, la conjugación del antígeno a moléculas MHC tipo II, el tipo e intensidad de señales co-estimuladoras expresadas (CD80 y CD86) y el patrón de citoquinas local particular, determinarían el subtipo de linfocito T sensibilizado, y así, el tipo de respuesta Th establecido^(4,8). Entre las citoquinas más importantes en la definición de la respuesta Th se encuentran IL2, IL4, IL10, IL12 e IFN γ ⁽²¹⁾. En general se ha establecido que IFN γ e IL12 son necesarias para permitir el desarrollo de una respuesta Th1, mientras que IL4 e IL5 lo son para el desarrollo de una respuesta Th2^(15,41). Las células Th1 secretan predominantemente IFN γ , IL1 β , IL2, IL12, TNF α y TNF β y las células Th2 sintetizan IL4, IL5, IL6 e IL13⁽¹⁵⁾. Se ha postulado que un perfil específico de citoquinas Th1 y/o Th2 puede estar asociado con la susceptibilidad, inicio y progresión de la infección periodontal^(16,17,23-26).

Para dilucidar el papel de las CDs en la respuesta inmune desarrollada frente a la infección por bacterias periodontopatógenas, evaluamos la expresión *in vitro* de IL1 β , IL2, IL5, IL6, IL10, IL12p35, IL12p40, IL13, IFN γ , TNF α y TNF β , cuantificados mediante PCR en tiempo real, y la expresión de CD80, cuantificada mediante citometría de flujo, en cultivos de MoDCs estimulados con concentraciones de 10¹ a 10⁹ bacterias/mL de los periodontopatógenos *Aa* y *Pg*.

Aunque con distinto orden de magnitud, *Aa* y *Pg* indujeron predominantemente la expresión de citoquinas propias de una respuesta Th1. A alta concentración de carga bacteriana (10⁹ bacterias/mL), la expresión de IFN γ aumentó en 6 veces en CDs estimuladas con *Aa* o *Pg* en comparación al control de CDs no estimuladas, la expresión de IL1 β aumentó en 15 y 6 veces, y la expresión de IL12p40 aumentó 18 y 10 veces en cultivos de CDs estimuladas con *Aa* o *Pg*, respectivamente. Se ha establecido que IL12 es esencial para la diferenciación y activación de linfocitos T del fenotipo Th1⁽¹⁵⁾. IL12 es un heterodímero de 70-KDa codificado por 2 genes diferentes que conforman las sub-unidades p35 y p40, las que deben expresarse en la misma

célula para generar la forma secretada⁽²⁸⁾. Se ha establecido que la capacidad de *Pg* de inducir la síntesis de IL12 en CDs es débil comparada a la inducción por la estimulación de *Aa* y *E. coli*⁽²⁷⁾. En nuestro trabajo, aunque la inducción de la expresión de IL12p40 fue claramente detectable a partir de concentraciones bacterianas de 10⁷ bacterias/mL de *Pg*, la inducción de la expresión tanto de la subunidad p35 (3 a 4 veces) como de la subunidad p40 (2 veces) fue claramente menor a la detectable con *Aa*, que además mostró inducción de expresión a concentraciones bacterianas más bajas. Una óptima inducción de la expresión de la subunidad IL12p35 y la síntesis de IL12 en su forma secretada puede potenciarse cuando CDs son co-cultivadas con células NK o reciben aporte *in vitro* de IFN γ ⁽²⁸⁾. Recientes trabajos han propuesto una inducción de una respuesta tanto Th1 como Th2 mediada por *Pg*^(42,43). Estudios de un modelo donde *F. nucleatum* fue co-cultivado previo a *Pg*, replicando la infección secuencial *in vivo* observada en la periodontitis, indicó que la respuesta inmune efectora tiende a ser Th2⁽³¹⁾. Aunque la inducción de la expresión de IL12p35 en CDs estimuladas con *Pg* es menor a la detectada para la sub-unidad p40 y a la inducida por *Aa*, los niveles de inducción de IL1 β e IFN γ nos permiten especular una respuesta Th1 mediada por *Pg*.

Al comparar la respuesta inducida *in vitro* por *Pg* y *Aa*, se observa que los umbrales de síntesis de citoquinas son distintos para IL1 β , IL12, IFN γ , TNF α y TNF β . En general la inducción de la expresión de citoquinas en CDs estimuladas *in vitro* es detectable a concentraciones bacterianas de 10⁴ a 10⁶ bacterias/mL de *Aa* y 10⁷ a 10⁸ para *Pg*, lo que permitiría especular un mayor potencial antigénico de *Aa* y proyectar una mayor capacidad patogénica durante la infección periodontal. La mayoría de los estudios evalúan la actividad celular o la expresión y/o síntesis de marcadores de superficie o de mediadores pro-inflamatorios a concentraciones semejantes de bacterias, citoquinas o antígenos^(27-29,44). En un estudio *in vivo* en animales de experimentación, se observó que LPS de *E. coli* o LPS de *Pg* en combinación a ovoalbúmina (OVA) inducen expansión clonal similar de linfocitos T CD4+ y CD8+ OVA-específicos, pero expresan distinto perfil de citoquinas⁽⁴⁴⁾. Mediante ELISA se detectó una elevada síntesis de IFN γ e IL12 en cultivos de CDs de bazo estimulados con LPS de *E. coli*, asociando la respuesta a una tipo Th1, y en cultivos estimulados con LPS de *Pg* se observaron elevados niveles de IL5, IL10 e IL13, bajos niveles de IFN γ y niveles no detectables de IL12, asociando la respuesta inducida a una Th2. Desde un punto de vista de las CDs, han sido propuestos dos modelos de respuesta: El modelo instructivo, que involucra sólo un subtipo de CD capaz de responder de manera diferente a distintos microorganismos y distintas señales medio-ambientales, desencadenando distintos tipos de respuesta inmune adaptativa, y un modelo selectivo, que involucra distintos subtipos de CDs que expresan distinto repertorio de patrón de reconocimiento capaz de distinguir distintas clases de productos bacterianos⁽⁴⁴⁾. Nuestros datos avalan un modelo instructivo de respuesta de las CDs, dado que una expresión diferente de citoquinas dependiente de la carga bacteriana inductora se detectó en CDs del mismo origen (MoDCs) al ser estimuladas con dos patógenos periodontales distintos. De hecho, una diferente respuesta a dos distintas cepas de *Pg* ha sido publicada. La cepa *Pg* 381 indujo *in vitro* una elevada síntesis de IL12, y una débil síntesis de IL12 se detectó al estimular CDs con la cepa *Pg* O55: B5^(29,30). La cepa *Pg* 381 con fimbria fue más eficaz que la cepa mutante *Pg* DPG3 carente de fimbria en invadir CDs, inducir la expresión de HLA-DR, CD83, CD80 y CD86 y la síntesis de IL6, IL10, IL12 y TNF α en MoDCs, y estimular la proliferación y la síntesis de IFN γ en linfocitos T⁽²⁹⁾. Nuestros datos demuestran que niveles similares de expresión relativa de citoquinas pueden inducirse a concentraciones distintas de *Pg* y *Aa*. Cuando se es

timulan a carga bacteriana similar, se observa mayor respuesta en CD80 estimuladas con *Aa* por sobre la inducción mediada por *Pg*, ambas de manera dosis-dependiente.

En el presente trabajo se indujo la expresión de citoquinas en CD80 estimuladas con las bacterias periodontopatógenas *Pg* y *Aa ad integrum*, para así evaluar su potencialidad antigénica y proyectar la capacidad patogénica de las bacterias con todo su potencial virulento. La confección de curvas de crecimiento bacteriano y la selección de bacterias en fase de crecimiento exponencial nos ha permitido definir el número exacto de bacterias con real potencial antigénico puestas en cultivo con las CD80. La detección de mayores niveles de expresión de CD80 y la inducción de expresión de citoquinas de mayor intensidad relativa y a carga bacteriana de *Aa* más baja, en comparación a *Pg*, nos permite especular un potencial antigénico diferente entre las bacterias periodontopatógenas estudiadas. La proyección de esta mayor potencialidad patogénica requerirá profundizar el conocimiento de estos microorganismos en su interacción *in vivo* con la respuesta del hospedador, dentro de un biofilm organizado y/o evaluando sus sub-tipos genéticos.

Un conocimiento más profundo del papel de las distintas bacterias periodontopatógenas y de sus subtipos genéticos en la respuesta inmune inducida, evaluando la potencialidad patogénica individual o en conjunto en un biofilm organizado, contribuiría a esclarecer, al menos en parte, el conocimiento de la inmunopatogénesis de las enfermedades periodontales y a explicar la variable respuesta individual a la infección.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por el Proyecto de Investigación 060181 del Fondo de Investigaciones Sanitarias (FIS) del Ministerio de Sanidad y Consumo de España. Los autores agradecen al Dr. Pedro Lastres (Servicio de Citometría de Flujo, Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC) y al Dr. Jorge Gamonal (Facultad de Odontología, Universidad de Chile) por su valiosa colaboración.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Annals of periodontology / the American Academy of Periodontology* 1999; 4: 1-6.
- Listgarten MA. Pathogenesis of periodontitis. *Journal of clinical periodontology* 1986; 13: 418-430.
- Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal microbial ecology. *Periodontology* 2000 2005; 38: 135-187.
- Azuma M. Fundamental mechanisms of host immune responses to infection. *Journal of periodontal research* 2006; 41: 361-373.
- Banchereau J, Briere F, Caux C, et al. Immunobiology of dendritic cells. *Annual review of immunology* 2000; 18: 767-811.
- Inaba K, Metlay JP, Crowley MT, Steinman RM. Dendritic cells pulsed with protein antigens *in vitro* can prime antigen-specific, MHC-restricted T cells *in situ*. *The Journal of experimental medicine* 1990; 172: 631-640.
- Inaba K, Metlay JP, Crowley MT, Witmer-Pack M, Steinman RM. Dendritic cells as antigen presenting cells *in vivo*. *International reviews of immunology* 1990; 6: 197-206.
- Rissoan MC, Soumelis V, Kadowaki N, et al. Reciprocal control of T helper cell and dendritic cell differentiation. *Science (New York, NY)* 1999; 283: 1183-1186.
- Cutler CW, Jotwani R. Dendritic cells at the oral mucosal interface. *Journal of dental research* 2006; 85: 678-689.
- Jotwani R, Palucka AK, Al-Quotub M, et al. Mature dendritic cells infiltrate the T cell-rich region of oral mucosa in chronic periodontitis: *in situ*, *in vivo*, and *in vitro* studies. *Journal of immunology* 2001; 167: 4693-4700.
- Jotwani R, Cutler CW. Multiple dendritic cell (DC) subpopulations in human gingiva and association of mature DCs with CD4+ T-cells *in situ*. *Journal of dental research* 2003; 82: 736-741.
- Cutler CW, Jotwani R. Antigen-presentation and the role of dendritic cells in periodontitis. *Periodontology* 2000 2004; 35: 135-157.
- Gemmell E, Carter CL, Hart DN, Drysdale KE, Seymour GJ. Antigen-presenting cells in human periodontal disease tissues. *Oral microbiology and immunology* 2002; 17: 388-393.
- Hart DN. Dendritic cell biology evolves into clinical application. *Lancet* 2005; 365: 102-104.
- Gemmell E, Yamazaki K, Seymour GJ. The role of T cells in periodontal disease: homeostasis and autoimmunity. *Periodontology* 2000 2007; 43: 14-40.
- Bartova J, Kratka-Opatrna Z, Prochazkova J, et al. Th1 and Th2 cytokine profile in patients with early onset periodontitis and their healthy siblings. *Mediators of inflammation* 2000; 9: 115-120.
- Gemmell E, Seymour GJ. Cytokines and T cell switching. *Critical reviews in oral biology and medicine* 1994; 5: 249-279.
- Manhart SS, Reinhardt RA, Payne JB, et al. Gingival cell IL-2 and IL-4 in early-onset periodontitis. *Journal of periodontology* 1994; 65: 807-813.
- Reinhardt RA, McDonald TL, Bolton RW, DuBois LM, Kaldahl WB. IgG subclasses in gingival crevicular fluid from active versus stable periodontal sites. *Journal of periodontology* 1989; 60: 44-50.
- Sigusch B, Klinger G, Glockmann E, Simon HU. Early-onset and adult periodontitis associated with abnormal cytokine production by activated T lymphocytes. *Journal of periodontology* 1998; 69: 1098-1104.
- Ebersole JL, Taubman MA. The protective nature of host responses in periodontal diseases. *Periodontology* 2000 1994; 5: 112-141.
- Takeichi O, Haber J, Kawai T, Smith DJ, Moro I, Taubman MA. Cytokine profiles of T-lymphocytes from gingival tissues with pathological pocketing. *Journal of dental research* 2000; 79: 1548-1555.
- Berglundh T, Liljenberg B, Lindhe J. Some cytokine profiles of T-helper cells in lesions of advanced periodontitis. *J Clin Periodontol*, 2002: 705-709.
- Nakajima T, Yamazaki K, Cullinan MP, Gemmell E, Seymour GJ. T-cell antigen specificity in humans following stimulation with *Porphyromonas gingivalis*. *Archives of oral biology* 1999; 44: 1045-1053.
- Fokkema SJ, Loos BG, Slegte C, van der Velden U. A type 2 response in lipopolysaccharide (LPS)-stimulated whole blood cell cultures from periodontitis patients. *Clinical and experimental immunology* 2002; 127: 374-378.
- Yun PL, Decarlo AA, Collyer C, Hunter N. Hydrolysis of interleukin-12 by *Porphyromonas gingivalis* major cysteine proteinases may affect local gamma interferon accumulation and the Th1 or Th2 T-cell phenotype in periodontitis. *Infection and immunity* 2001; 69: 5650-5660.
- Kikuchi T, Hahn CL, Tanaka S, Barbour SE, Schenkein HA, Tew JG. Dendritic cells stimulated with *Actinobacillus actinomycetemcomitans* elicit rapid gamma interferon responses by natural killer cells. *Infection and immunity* 2004; 72: 5089-5096.
- Kikuchi T, Willis DL, Liu M, et al. Dendritic-NK cell interactions in *P. gingivalis*-specific responses. *Journal of dental research* 2005; 84: 858-862.
- Jotwani R, Cutler CW. Fimbriated *Porphyromonas gingivalis* is more efficient than fimbria-deficient *P. gingivalis* in entering human dendritic cells *in vitro* and induces an inflammatory Th1 effector response. *Infection and immunity* 2004; 72: 1725-1732.
- Kanaya S, Nemoto E, Ogawa T, Shimauchi H. *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharides induce maturation of dendritic cells with CD14+CD16+ phenotype. *European journal of immunology* 2004; 34: 1451-1460.
- Choi J, Borrello MA, Smith E, Cutler CW, Sojar H, Zauderer M. Prior exposure of mice to *Fusobacterium nucleatum* modulates host response to *Porphyromonas gingivalis*. *Oral microbiology and immunology* 2001; 16: 338-344.
- Aduse-Opoku J, Slaney JM, Hashim A, et al. Identification and characterization of the capsular polysaccharide (K-antigen) locus of *Porphyromonas gingivalis*. *Infection and immunity* 2006; 74: 449-460.
- Kiertcher SM, Roth MD. Human CD14+ leukocytes acquire the phenotype and function of antigen-presenting dendritic cells when cultured in GM-CSF and IL-4. *Journal of leukocyte biology* 1996; 59: 208-218.
- Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 1998; 392: 245-252.

35. Hart DN. Dendritic cells: unique leukocyte populations which control the primary immune response. *Blood* 1997; 90: 3245-3287.
36. Seguiet S, Godeau G, Brousse N. Immunohistological and morphometric analysis of intra-epithelial lymphocytes and Langerhans cells in healthy and diseased human gingival tissues. *Archives of oral biology* 2000; 45: 441-452.
37. Seguiet S, Godeau G, Leborgne M, Pivert G, Brousse N. Quantitative morphological analysis of Langerhans cells in healthy and diseased human gingiva. *Archives of oral biology* 2000; 45: 1073-1081.
38. Cirrincione C, Pimpinelli N, Orlando L, Romagnoli P. Lamina propria dendritic cells express activation markers and contact lymphocytes in chronic periodontitis. *Journal of periodontology* 2002; 73: 45-52.
39. Newcomb GM, Seymour GJ, Powell RN. Association between plaque accumulation and Langerhans cell numbers in the oral epithelium of attached gingiva. *Journal of clinical periodontology* 1982; 9: 297-304.
40. Haseus B, Jontell M, Bergenholtz G, Eklund C, Dahlgren UI. Langerhans cells from oral epithelium are more effective in stimulating allogeneic t-cells in vitro than Langerhans cells from skin epithelium. *Journal of dental research* 1999; 78: 751-758.
41. Seymour GJ, Gemmell E. Cytokines in periodontal disease: where to from here? *Acta odontologica Scandinavica* 2001; 59: 167-173.
42. Jotwani R, Pulendran B, Agrawal S, Cutler CW. Human dendritic cells respond to *Porphyromonas gingivalis* LPS by promoting a Th2 effector response in vitro. *European journal of immunology* 2003; 33: 2980-2986.
43. Stashenko P, Goncalves RB, Lipkin B, Ficarelli A, Sasaki H, Campos-Neto A. Th1 immune response promotes severe bone resorption caused by *Porphyromonas gingivalis*. *The American journal of pathology* 2007; 170: 203-213.
44. Pulendran B, Kumar P, Cutler CW, Mohamadzadeh M, Van Dyke T, Banchereau J. Lipopolysaccharides from distinct pathogens induce different classes of immune responses in vivo. *Journal of immunology* 2001; 167: 5067-5076.

CORRESPONDENCIA AUTOR

Rolando Vernal

Facultad de Odontología, Universidad de Chile

Olivos 943. Independencia. Santiago.

rvernal@uchile.cl

Trabajo recibido el 22/08/2007.

Aprobado para su publicación el 15/01/2008.

Estudio Comparativo del Efecto del Macrodiseño en la Estabilidad Primaria del Implante Oseointegrado

Comparative Study of the Effect of the Macroscopic Design in the Primary Stability of the Osseointegrated Implant

Nappe Abaroa CE¹, Montoya Bacigalupo C²

RESUMEN

Los implantes óseointegrados son cada día más utilizados y las últimas técnicas de instalación de estos implantes apuntan principalmente a la carga inmediata, para la cual es de vital importancia la estabilidad primaria del implante recién instalado y alcanzarla es un desafío en hueso de baja densidad. Es sabido que varios factores ya sean del paciente o del implante van a afectar esta estabilidad primaria. Uno de estos factores es el diseño macroscópico del implante, cuyo efecto en la estabilidad primaria en hueso de mala calidad fue estudiado en este trabajo, con el fin de determinar si existe alguna diferencia en la estabilidad primaria lograda entre implantes cilíndricos y cónicos, mediante un modelo *in vitro* de hueso de porcino de calidad tipo III/IV. Para esto, 12 implantes oseointegrados marca Lifecore Biomedicals, 6 cilíndricos y 6 cónicos, fueron instalados en vértebras frescas de porcino. Una vez hecho esto fueron registrados los torques de inserción y remoción de estos implantes, y las características radiográficas de la interfase hueso/implante fueron observadas. Los implantes cónicos exhibieron valores de torque final de inserción y torque de remoción significativamente mayores que los implantes cilíndricos ($p=0,012$ y $p=0,032$ respectivamente). Al análisis radiográfico se observó un mayor BIC para los implantes cónicos que para los cilíndricos, concluyéndose que los implantes cónicos presentan una mayor estabilidad primaria que los cilíndricos, cuando son instalados en hueso de mala calidad.

Rev. Clin Periodoncia Implantol Rehabil. Oral Vol. 1 (1); 17-22, 2008.

Palabras clave: implante, estabilidad primaria, diseño macroscópico, torque, contacto hueso /implante.

ABSTRACT

Osseointegrated implants are every day more used and the last installation techniques of these implants aim mostly to immediate loading, for which is of vital importance the primary stability of the implant and achieving it is a challenge in low density bone. It is known that many factors, from the patient itself or from the implant can affect the primary stability. One of these factors is the macroscopic design of the implant, and its effect on the primary stability in poor quality bone, was studied in this work to determine if there is a difference in the primary stability between conical and cylindrical implants, using an *in vitro* model of porcine bone, emulating class III/IV bone. With this purpose, 12 Lifecore Biomedicals implants, 6 cylindrical and 6 conical, were installed in fresh porcine vertebrae. After that, peak insertion and removal torque, of all the implants, were measured and the radiographic characteristics of the bone/implant interface were observed. Conical implants showed significantly bigger peak insertion and removal torque values than cylindrical implants ($p=0,012$ and $p=0,032$ respectively). At the radiographic analysis was observed a bigger BIC for the conical implants than for the cylindrical, concluding that conical implants present a bigger primary stability than the cylindrical implants, when both are installed in poor quality bone.

Rev. Clin Periodoncia Implantol Rehabil. Oral Vol. 1 (1); 17-22, 2008.

Key words: implant, primary stability, macroscopic design, torque, bone/implant contact.

INTRODUCCIÓN

Gracias a los avances tecnológicos y múltiples estudios realizados en la campo de la implantología oral los tiempos de espera desde la cirugía de instalación del implante, de la conexión transmucosa del implante y de la carga de este, pueden hoy ser disminuidos considerablemente si el caso así lo permite, tanto para rehabilitaciones en base a sobredentaduras, como para reemplazos unitarios.⁽¹⁻⁴⁾ Para poder realizar una carga inmediata de los implantes es importante tener en cuenta una serie de características propias del paciente, como también la calidad y cantidad de hueso y una técnica quirúrgica lo menos traumática posible.⁽⁵⁻⁷⁾ Todo lo anterior es de gran importancia para lograr una estabilidad óptima del implante. Esta estabilidad

inicial del implante recién colocado es conocida como “estabilidad primaria”.

La estabilidad es generalmente definida como una medida de la dificultad para desplazar un objeto o sistema fuera de su equilibrio, pero en términos clínicos el concepto de “estabilidad primaria” no está bien definido, pero es comúnmente entendido como una *ausencia de movimiento perceptible del implante inmediatamente después de su instalación*.⁽⁸⁾ Otra definición de estabilidad primaria, la postula como la *resistencia que ofrece el hueso alveolar a las fuerzas que tratan de dislocar al implante una vez que este ha sido colocado en su lecho quirúrgico*. Esta resistencia es el resultado de un fenómeno estrictamente mecánico.⁽⁹⁾ La estabilidad primaria depende de tres factores: la técnica quirúrgica empleada, el diseño macroscópico

1. Cirujano Dentista, Ayudante de la asignatura de Periodoncia de la Universidad Mayor. Departamento de Periodoncia Universidad Mayor. Chile.

2. Cirujano Dentista, especialista en periodoncia, Director del área de Implantología del programa de especialización en Periodoncia e Implantología de la Universidad Mayor. Departamento de Periodoncia Universidad Mayor. Chile.

del implante y de la calidad y cantidad de hueso local.⁽¹⁰⁾

Esta estabilidad primaria depende directamente de la cantidad de hueso compacto en contacto con la superficie del implante. Debido a que el hueso cortical ofrece un mejor anclaje mecánico a los implantes, este tipo de soporte óseo es preferible cuando es posible. El hueso de calidad tipo IV según la clasificación de *Lekholm y Zarb*⁽¹¹⁾ se presenta como un hueso de baja densidad y poca, o incluso ninguna cortical, dificultando así la obtención de una óptima estabilidad primaria⁽⁹⁾. Es por esto que se han reportado mayores porcentajes de éxito en el sector anterior de la mandíbula que en la zona posterior del maxilar. Esta diferencia ha sido atribuida a las diferencias en la anatomía local y morfología ósea de los 2 sitios, teniendo la mandíbula un mayor porcentaje de hueso compacto, mientras el maxilar una mayor cantidad de hueso trabecular.⁽¹²⁾

A la hora de instalar implantes en hueso de mala calidad, muchas veces es necesario utilizar protocolos quirúrgicos modificados disminuyendo el diámetro del lecho del implante en relación a éste, lo cuál aumenta la estabilidad inicial del implante y ha sido muy bien estudiado en múltiples publicaciones.^(9,13-15) Pero esto no es siempre suficiente para lograr una buena estabilidad primaria en hueso de mala calidad, especialmente si se trata de hueso tipo IV.

La falta de estabilidad primaria en hueso tipo IV da como resultado un descenso en las tasas de éxito, las que varían de 50% a 94%, contra un 98% en el sector anterior mandibular, en los diferentes estudios.^(11,16,17)

Para lograr una óptima estabilidad primaria en hueso de poca densidad es importante evaluar diversos factores:

1. Densidad Ósea

Jaffin y Berman⁽¹⁸⁾ encontraron que solo un 3% de los implantes, instalados en hueso tipo I, II y III fueron perdidos después de 5 años, mientras en hueso tipo IV, el porcentaje de fracaso fue de un 35% en el mismo período. La calidad o densidad ósea puede ser evaluada utilizando diferentes métodos como examen radiográfico, percepción táctil, tomografía computarizada o el análisis morfométrico de una muestra de hueso obtenido mediante una biopsia. Siendo estas 2 últimas las mejores técnicas para dicho propósito.^(16,19,20)

2. Diseño Macroscópico del Implante

Los diseños de implante más utilizados hoy en día son el cilíndrico, basado en modelo Brannemark System, diseño que ha demostrado su éxito a largo plazo en números estudios^(4,21-23), y el cónico que fue diseñado con el fin de mejorar la estética y facilitar la instalación de implantes entre dientes naturales o en áreas donde la instalación de implantes cilíndricos llevaría a la perforación del hueso en la zona apical.⁽¹²⁾ Se ha postulado que un aumento en el ancho de la parte cervical o una anatomía con forma de raíz, se traduciría en un aumento en el contacto hueso/implante (BIC), resultando en una mayor estabilidad primaria del implante.⁽¹⁶⁾ En un estudio realizado por O'Sullivan y cols.⁽¹⁴⁾ en el cual se evaluó a influencia del diseño de cinco implantes, se observó que el diseño macroscópico del implante no tiene mayor influencia en la estabilidad primaria cuando es instalado en hueso tipo II o III. Sin embargo en hueso tipo IV el implante de macrodiseño cónico alcanzó niveles mas elevados de estabilidad primaria en comparación con los otros modelos cilíndricos. Esto se debería a una mayor compresión del hueso cortical por la parte mas cervical del implante, lo cual sería favorecido por el diseño del implante. Sin embargo esta compresión lateral, de ser

excesiva, podría dar como resultado una necrosis del tejido óseo con la consiguiente reabsorción ósea.⁽²⁴⁾

3. Utilización de Superficies Rugosas

Shalabi y cols. observaron que la superficie rugosa de los implantes presentaba cierta influencia en la estabilidad primaria, ya que serían más propensos a la adhesión de los fragmentos óseos del lecho recién preparado, que los de superficie lisa y esto favorecería la trabazón mecánica y la posterior formación ósea.⁽¹⁵⁾ Sin embargo en otro estudio realizado por Corso y cols. se concluyó que el tipo de superficie no presenta un efecto significativo en la estabilidad primaria.⁽²⁵⁾

4. Técnica Quirúrgica

La técnica quirúrgica tiene un gran impacto en la estabilidad primaria de los implantes, sobre todo en hueso mayoritariamente trabecular.⁽¹⁵⁾ La técnica propuesta originalmente por Brannemark⁽²⁶⁾ mediante la cual se consigue un lecho de la profundidad y diámetro del implante, a pesar de tener un buen porcentaje de éxito, ha demostrado ser severamente afectada por la calidad y cantidad de hueso en el sitio del implante. Por lo tanto, se ha sugerido que al instalar los implantes en hueso de mala calidad, la técnica quirúrgica ideal debería asegurar que la región de mayor compresión, es decir la zona del cuello del implante, quede en hueso cortical y no trabecular.⁽¹²⁾ En un estudio realizado en hueso porcino de distintas densidades se observó que el torque aumenta en promedio un 17% cuando se prepara el lecho con una fresa de un diámetro un 5% menor al del implante.⁽¹³⁾

5. Evaluación de la Estabilidad Primaria

Está basada principalmente en la percepción táctil del cirujano, y es así como se pueden definir 3 tipos de movilidad⁽²⁷⁾: *no móvil*, *parcialmente móvil* (estable horizontalmente, pero rota) y *móvil* (movimiento lateral o vertical). Un implante móvil debe ser removido y reemplazado por otro de mayor longitud y/o diámetro, mientras que un implante parcialmente móvil debe ser cubierto por la mucosa y cumplir un protocolo tradicional de oseointegración.⁽¹⁶⁾ El torque final de instalación da una medida en Ncm del torque al cual quedó instalado el implante y esta dado, en hueso de mala calidad, por la impactación de la parte coronal del implante con el hueso cortical a nivel marginal.⁽²⁸⁾ Existe una asociación entre torque final de inserción y el riesgo potencial de fracaso del implante. Este riesgo disminuía en 20% por cada 9.8 Ncm más que alcanzaba el implante.⁽²⁹⁾ Otros métodos de prueba intraorales no invasivos, como el Periotest y el análisis de frecuencia de resonancia (RFA) han sido utilizados en numerosos estudios. Sin embargo, como los resultados obtenidos mediante ambos instrumentos (Periotest y RFA) pueden ser influenciados por múltiples factores su utilización no se ha establecido como un procedimiento clínico de rigor ni tampoco se ha comprobado su valor como predictores del éxito o mantención de la estabilidad del implante a largo plazo.⁽³⁰⁾

6. Elección del Protocolo de Carga del Implante

Branemark y cols.⁽²⁶⁾ describieron un protocolo original de carga del implante el cual exigía un período de espera de 3 meses en la mandíbula y 6 meses en el maxilar superior antes de poder exponer y cargar los implantes, para asegurar una co-

recta oseointegración. Hoy en día es posible modificar este protocolo si las características del paciente y del sitio mismo del implante así lo permiten, para realizar una carga inmediata de los implantes. Uno de los elementos más críticos para lograr una segura diferenciación ósea alrededor de un implante de carga inmediata es una firme interfase hueso/implante, permitiendo una estabilidad primaria dentro de los 35 y 50 Ncm y un rango de micro-movimiento de 50 a 150 μm .^(6,31) Para implantes de carga inmediata mediante un protocolo de carga inmediata, las tasas de éxito después de un año reportadas variaron de 89% - 100% para maxilares edéntulos, 75% - 100% para maxilares parcialmente desdentados y de 81% - 100% para reposiciones unitarias, demostrando que la carga inmediata aún no alcanza la misma predictibilidad que el protocolo original.⁽³²⁾

Por todo esto, a la hora de preparar un plan de tratamiento en base a implantes óseointegrados es de vital importancia tomar en cuenta todos los factores acá mencionados para poder entregar el mejor tratamiento posible al paciente y poder elaborar un adecuado pronóstico a largo plazo. Con este fin, el presente trabajo investigó la influencia del diseño macroscópico del implante óseointegrado en la estabilidad primaria al ser instalados estos en hueso tipo III/IV de la clasificación de Lekholm y Zarb⁽¹¹⁾, es decir hueso de mala calidad o baja densidad. Con este fin fueron comparados implantes cilíndricos y cónicos, siendo estos los diseños más utilizados en la actualidad.

MATERIAL Y MÉTODOS

Implantes

Con el fin de realizar un estudio descriptivo, fueron utilizados un total de 12 implantes de titanio marca Lifecore Biomedicals, modelo Renova de 13 mm. de largo y 3.75 mm. de diámetro, con conexión de hexágono interno, superficie RBM (Medios Reabsorbibles de Arenado, por sus siglas en inglés) y con el primer milímetro cervical maquinado. Estos fueron 6 cilíndricos (Renova Straight, Figura 1a) y 6 cónicos (Renova Tapered, Figura 1b) cada uno con su respectivo porta implante.

Especímenes Óseos

Estos implantes fueron instalados en hueso fresco de porcino, específicamente de vértebras torácicas, el cuál consta mayoritariamente de hueso trabecular poco denso cubiertos por una delgada capa de hueso cortical (Figura 2).⁽¹³⁾ Los especímenes óseos fueron mantenidos en frío a unos 4° C. durante los dos días siguientes a la muerte del animal, luego se procedió a la eliminación de todos los tejidos blandos mediante la utilización de un bisturí y tijeras de encía; y posteriormente fueron transportados en hielo a una temperatura cercana a los 4° C al lugar donde se realizó la prueba. Este hueso fue clasificado de calidad tipo III/IV según la clasificación de Lekholm y Zarb⁽¹¹⁾, evaluado tanto visual como clínicamente previo a la instalación de los implantes.

Instalación de los Implantes

Los 12 implantes fueron divididos en dos grupos, en uno los cónicos y en otro los cilíndricos y se colocó un implante de cada grupo en cada vértebra porcina (Figura 3). Los especi-

menes óseos fueron instalados en una plataforma de madera y fijadas a ésta mediante alambres en la base de la vértebra, lo más alejado posible del sitio de instalación de los implantes, previo a la instalación de estos, para facilitar así la ejecución de las pruebas mecánicas que fueron realizadas posteriormente. Luego los implantes fueron colocados mediante una técnica quirúrgica lo más atraumática posible, ciñéndose a las indicaciones y protocolo del fabricante sin la utilización de la fresa formadora de rosca o "tap", utilizando un motor quirúrgico modelo VCT Aseptico AEU-925, con un contraángulo reductor 20:1 modelo AHP-85P y realizando una copiosa irrigación externa mediante jeringas con suero fisiológico a temperatura ambiente.



FIGURAS 1A y B. A. Renova Straight. B. Renova Tapered.



FIGURA 2. Vértebra torácica de cerdo montada en su plataforma para facilitar las pruebas mecánicas.



FIGURA 3. Vértebra de cerdo con un implante de cada diseño instalado.

Pruebas Mecánicas y Radiográficas

Una vez instalados los implantes, se registró primero el torque final de inserción, al cual quedaron los implantes instalados, utilizando el mismo motor para instalación de implantes modelo VCT Aseptico AEU-925 partiendo de 6 Ncm y aumentando gradualmente un 1 Ncm hasta que el implante llegó a su posición final, registrando el torque final de inserción de estos, previa calibración del contraángulo reductor utilizando un dinamómetro incluido en dicho motor. Luego se le realizaron radiografías periapicales, a cada espécimen óseo, con la película lo mas cercana y paralela posible al implante y luego se compararon las radiografías obtenidas entre cada grupo, prestando especial cuidado en la relación hueso implante. Después de tomadas las radiografías, fue medido el torque de remoción de cada implante utilizando el mismo motor VCT Aseptico AEU-925, en reversa, comenzando con un torque mínimo y aumentando el torque de funcionamiento en 1 Ncm hasta que se produjo el movimiento del implante. Todas estas pruebas, al igual que la instalación de los implantes en los especímenes óseos, fueron realizadas en el laboratorio de enfermería de la Facultad de Odontología de la Universidad Mayor.

Análisis de los Datos

Los resultados obtenidos mediante el torquímetro digital, incluido en el motor quirúrgico, fueron analizados mediante el programa computacional SYSTAT 11, donde fueron sometidos al Test t no pareado, para observar si existió algún tipo de diferencia significativa entre los resultados obtenidos para ambos tipos de implantes, en las 2 pruebas mecánicas efectuadas. Para analizar la interfase hueso-implante, las radiografías de ambos grupos fueron comparadas para comprobar si existieron diferencias observables entre los 2 distintos tipos de implantes, especialmente a nivel de la interfase hueso/implante.

RESULTADOS

Al instalar los 12 implantes en las vértebras porcinas de calidad ósea tipo III/IV según la clasificación de Lekholm y Zarb⁽¹¹⁾, evaluado previamente tanto visual, como clínicamente, se registró primero el torque final de inserción para cada grupo de implantes una vez instalados, cuyos resultados se observan en la tabla 1 y en el gráfico 1. Estos valores obtenidos fueron sometidos a un Test t no pareado, mediante el programa computacional Systat 11, para comprobar si existieron diferencias significativas entre los torques finales de inserción para ambos tipos de implantes, también se obtuvieron el promedio y la desviación estándar mediante este programa. Estos resultados pueden ser observados en la tabla 2. Al comparar el torque final de inserción entre implantes cilíndricos y cónicos, se observó que los implantes cónicos presentaban un mayor torque final de inserción promedio y una mayor desviación estándar en comparación con los cilíndricos. Al realizárseles el Test t no pareado a los resultados de ambos diseños, se observó un torque de inserción significativamente mayor para los implantes cónicos, $p=0,012$ (Tabla 2).

Luego se le tomo una radiografía con una película retroalveolar marca Kodak modelo "Ultra-speedD" a cada vértebra con los 2 implantes instalados (uno cilíndrico y uno cónico), a los cuales se les retiró previamente el portaimplante. Esta radiografía fue analizada posteriormente bajo una lupa para magnificar su imagen y observar de la manera mas correcta posible la interfase hueso/implante. Se observó un menor contacto hueso/implante (BIC) para los implantes cilíndricos cuando se compararon ra-

diográficamente con los cónicos, representado por una mayor cantidad de zonas radiolúcidas en la interfase hueso/implante (marcadas con un círculo rojo en las siguientes radiografías) de los cilíndricos, especialmente en la zona cervical (Figuras 4 A y B).

Una vez realizadas las radiografías de todas las muestras óseas con sus respectivos implantes instalados, se midió el torque de remoción para ambos diseños macroscópicos de implante, cuyos resultados pueden ser observados en la tabla 3 y en el gráfico 2. Los valores promedio y desviación estándar de torque de remoción para los dos diseños macroscópicos de implante, así como el resultado del Test t no pareado, pueden observarse en la tabla 4. Una vez comparados los resultados para la prueba de torque de remoción, se pudo concluir que nuevamente los implantes cónicos presentaban un mayor promedio y una mayor desviación estándar para el torque de remoción. Al realizarse el Test t no pareado a ambos grupos se observó que los implantes cónicos presentaban un torque de remoción significativamente mayor que los cilíndricos, $p=0,032$ (Tabla 4).

TABLA 1. Torque Final de Inserción.

	Renova Straight (Cilíndrico)	Renova Tapered (Cónico)
1	12 Ncm	14 Ncm
2	22 Ncm	34 Ncm
3	8 Ncm	34 Ncm
4	11 Ncm	29 Ncm
5	17 Ncm	20 Ncm
6	14 Ncm	16 Ncm

TABLA 2. Valores de Test T No Pareado Para Torque Final de Inserción.

Diseño Macroscópico	Promedio	DS
Renova Straight (Cilíndrico)	14.000	4.940
Renova Tapered (Cónico)	26.167	7.960

$t=3,181$; $p=0,012$

TABLA 3. Torque de Remoción.

	Renova Straight (Cilíndrico)	Renova Tapered (Cónico)
1	12 Ncm	18 Ncm
2	24 Ncm	40 Ncm
3	7 Ncm	36 Ncm
4	12 Ncm	36 Ncm
5	18 Ncm	20 Ncm
6	11 Ncm	15 Ncm

TABLA 4. Valores de Test t No Pareado Para Torque de Remoción (Tabla 6)

Diseño Macroscópico	Promedio	DS
Renova Straight (Cilíndrico)	14.167	6.178
Renova Tapered (Cónico)	27.500	10.986

$t=2,591$; $p=0,032$

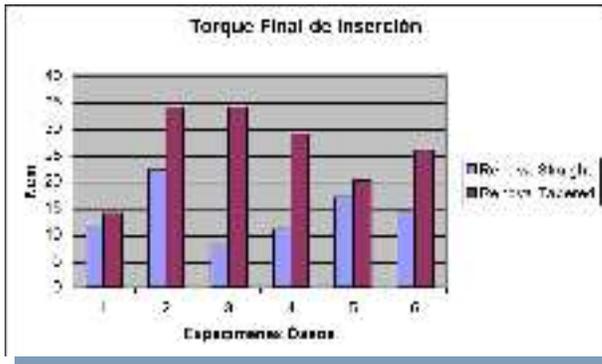


GRÁFICO 1.

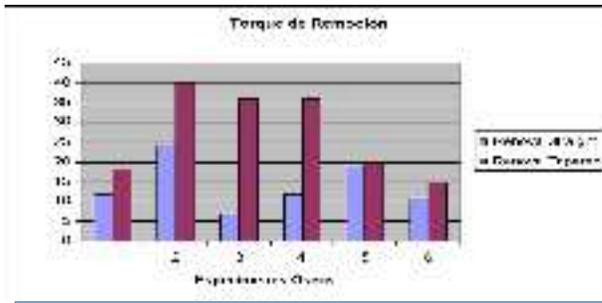
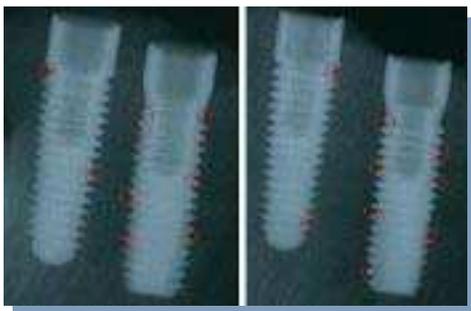


GRÁFICO 2.



FIGURAS 4A y B. Radiografías de los especímenes óseos con un implante de cada diseño instalado. Se observó un mayor BIC para los cónicos que para los cilíndricos. Los círculos rojos ilustran las zonas con falta de contacto entre hueso e implante.

DISCUSIÓN

En el presente diseño experimental se observó el efecto decisivo que presenta el diseño macroscópico del implante cuando éste es instalado en hueso de mala calidad (tipo III/IV). Esto quedó demostrado al observarse diferencias significativas en las pruebas de torque final de inserción y torque de remoción, para ambos diseños macroscópicos de implante, al ser sometidos sus resultados al Test t no pareado ($p = 0,012$ y $p = 0,032$ respectivamente). La prueba de torque final de inserción fue descrita extensivamente por Frieberg y cols.⁽¹⁹⁾ El torque final de inserción es una función del estrés compresivo aplicado localmente al hueso adyacente y la fricción en la interfase hueso/implante.⁽⁶⁾ Esta medida de torque de inserción es el resultado de la compresión del hueso cortical por la parte cervical del implante cuando este es colocado en hueso de baja densidad.⁽²⁸⁾ Para implantes de paredes paralelas, el valor máximo de torque final de inserción es generado cuando la cabeza del implante es asentada en este hueso marginal mientras que para implantes cónicos, puede ob-

servarse un incremento gradual y parejo del torque de inserción, como resultado de la compresión lateral durante su inserción.⁽¹⁴⁾

Por otro lado, la prueba de torque de remoción es un test tridimensional que refleja la fuerza de cizalla a nivel de la interfase hueso/implante, como la anterior, también es usada de rutina a nivel experimental y se encuentra bien documentada. Esta técnica depende de la aplicación de un contratorque controlado, con el fin de destornillar el implante.^(15, 33) Estos resultados también fueron significativamente mayores para los implantes cónicos que para los cilíndricos ($p = 0,032$), proponiendo una interfase hueso/implante más estable para los implantes cónicos recién instalados.

Estas diferencias en los resultados obtenidos para cada macrodiseno de implante se pueden deber a que los implantes cónicos poseen una mayor área de superficie relativa a su largo favoreciendo así un mayor contacto hueso/implante (BIC), por lo tanto un anclaje mecánico más estable para estos implantes, reflejado en una mayor estabilidad primaria que los cilíndricos.⁽²³⁾ Esto puede deberse también a que durante la instalación de los implantes cónicos, puede observarse un incremento continuo del torque de inserción, como resultado de la compresión lateral gradual, debido a las características de la preparación.⁽¹⁴⁾ Además cuando se utilizan implantes cónicos, el diseño del implante automáticamente condensa el hueso aumentando así la estabilidad primaria de estos.⁽¹²⁾ Por otro lado el protocolo quirúrgico de instalación de los implantes Renova Straight indica la utilización de una fresa "countersink" para ensanchar la zona del cuello del implante. Este ensanchamiento cervical en el sitio del implante podría disminuir el anclaje cervical al hueso cortical, explicando así el menor torque obtenido por estos implantes en comparación con los cónicos, principalmente tomando en cuenta que esta zona es la que influye mayoritariamente en la estabilidad primaria en hueso de mala calidad.⁽¹⁶⁾ Por lo tanto la ausencia del ensanchamiento cervical, en estos casos, optimizaría la estabilidad primaria del implante gracias a un mayor anclaje de la porción cervical del implante en hueso cortical. La ausencia de la necesidad de utilizar una fresa "countersink" para instalar los implantes cónicos al mismo nivel de la cresta alveolar, favorecería el anclaje de la porción cervical de estos en hueso cortical aumentando así la estabilidad primaria. Esto se vería favorecido también por el diseño cónico, el cual presenta un mayor diámetro en la zona cervical del implante favoreciendo de esta manera el BIC y por lo tanto la estabilidad primaria.^(16, 24) Cabe destacar la enorme diferencia que existió para ambos tipos de implantes en las muestras óseas 3 y 4 para ambas pruebas mecánicas. Estos resultados fueron de 8 Ncm para el implante cilíndrico y de 34 Ncm para el cónico en la muestra número 3 y de 11 Ncm para el cilíndrico y de 29 para el implante cónico en la 4. Esta diferencia tan grande, mayor que la de las otras muestras óseo, presentando zonas de mayor densidad en el sitio donde se colocó el implante cónico, esto sumado obviamente al aumento en el torque alcanzado por se por este macrodiseno de implante. Otro factor muy importante que puede haber llevado a este resultado es el error humano, el cual siempre es posible en este tipo de modelos experimentales.

A la comparación radiográfica se observó un mayor BIC radiográfico en los implantes cónicos que en los cilíndricos, esto podría deberse a la compresión gradual que genera el macrodiseno cónico al ser instalado en el lecho óseo, mientras en el caso del implante cilíndrico solo la porción apical de este va generando compresión a medida que avanza hasta su posición final, disminuyendo así la compresión ósea en los sectores más coronales. Esto se pudo observar en las radiografías, en forma de una mayor cantidad de áreas radiolúcidas en la interfase hueso/implante en los implantes cilíndricos, las cuales se concentraron principalmente en la zona cervical de los implantes cilíndricos, avalando así esta explicación. Estas observaciones

de un menor BIC en los implantes cilíndricos que en los cónicos se correlacionan con los valores de torque obtenidos para ambas pruebas mecánicas realizadas fortaleciendo la aseveración de que los implantes con un diseño macroscópico cónico presentan una mayor estabilidad primaria que los cilíndricos cuando son instalados en hueso de mala calidad (tipo III/IV).

Tomando en cuenta todas las limitaciones de un modelo *in vitro* y el número total de muestras utilizadas en este trabajo de investigación, se pudo concluir lo siguiente:

- Se observaron diferencias significativas en la estabilidad primaria entre implantes cilíndricos y cónicos, alcanzando estos últimos una mayor estabilidad primaria en hueso de mala calidad.

- Los implantes cónicos alcanzaron una estabilidad primaria significativamente mayor que los cilíndricos, medida mediante pruebas de torque final de inserción y torque de remoción cuando fueron instalados en un modelo de hueso porcino de calidad ósea tipo III/IV según la clasificación de Lekholm y Zarb.

- Al análisis radiográfico se observó un mayor contacto

hueso/implante (BIC) en los implantes cónicos que en los cilíndricos al ser instalados en hueso porcino tipo III/IV.

- Los resultados obtenidos mediante las pruebas mecánicas se correlacionaron con lo observado radiográficamente.

Dadas todas estas observaciones, y tomando en cuenta las limitaciones de este estudio, debería priorizarse la utilización de implantes cónicos en zonas con hueso de mala calidad, como por ejemplo la zona posterior del maxilar, sobre todo si se intenta realizar protocolos de carga inmediata.

Es necesario, sin embargo, comprobar mediante estudios clínicos o mediante la utilización de un mayor número de muestras la fidelidad de los resultados obtenidos en el presente estudio.

AGRADECIMIENTOS

Al señor Fritz Stein y la empresa Dequip por contribuir con los implantes utilizados en este trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Barzilay I. Immediate implants, their current status. *Int J Prosth.* 1993;6:169.
2. Branemark PI, Engstrand P, Ohnrell LO, Grondahl K, Nilsson P, Hagberg K, Darle C, Lekholm U. Branemark Novum: a new treatment concept for rehabilitation of the edentulous mandible. Preliminary results from a prospective clinical followup study. *Clin Implant Dent Relat Res.* 1999;1:2-16.
3. Schnitman PA, Wöhrlé PS, Rubenstein JE. Immediate fixed interim prostheses supported by two-stage threaded implants: methodology and results. *J Oral Implantol.* 1990;16:96-105.
4. Schnitman PA, Wöhrlé PS, Rubenstein JE, DaSilva JD, Wang NH. Ten-year results for Branemark implants immediately loaded with fixed prostheses at implant placement. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1997;12:495-503.
5. Neukam FW, Flemmig TF. Local and systemic conditions potentially compromising osseointegration. Consensus report of Working Group 3. *Clin Oral Imp Res.* 2006;17(Suppl.2):160-162.
6. Raspall G. *Cirugía Oral e Implantología*. 2ª edición, España; Editorial Médica Panamericana, 2006;186.
7. Romanos GE. Present Status of Immediate Loading of Oral Implants. *J Oral Implantol.* 2004;30(3):189-197.
8. Molly L. Bone density and primary stability in implant therapy. *Clin Oral Imp Res.* 2006;17(Suppl.2):124-135.
9. Chorres JE, Rodriguez V, Chorres VH, Nakakuki T. ¿Como mejorar la estabilidad primaria del implante en áreas de baja densidad ósea? *Visión Dental.* 2005;8:4-9.
10. Sennerby L, Roos J. Surgical determinants of clinical success of osseointegrated oral implants: a review of the literature. *Int J Prosthodontics.* 1998;11:408-420.
11. Lekholm U, Zarb GA. Patient selection and preparation. In: Branemark P I, Zarb G A, & Albrektsson T (eds). *Tissue-integrated prostheses: osseointegration in clinical dentistry*. Chicago; Quintessence Publishing Co., 1985:199-209.
12. O'Sullivan D, Sennerby L, Meredith N. Influence of implant taper on the primary and secondary stability of osseointegrated titanium implants. *Clin Oral Impl Res.* 2004;15:474-480.
13. Beer A, Gahleitner A, Holm A, Birkfellner W, Homolka P. Adapted preparation technique for screw-type implants: explorative in vitro pilot study in a porcine bone model. *Clin Oral Impl Res.* 2007;18:103-107.
14. O'Sullivan D, Sennerby L, Meredith N. Measurements comparing the initial stability of five designs of dental implants: A human cadaver study. *Clin Implants Dent. Rel Res.* 2000;2:85-92.
15. Shalabi M, Wolke JG, Jansen J. The effects of implant surface roughness and surgical technique on implant fixation in an in vitro model. *Clin Oral Impl Res.* 2006;17:172-178.
16. Martinez H, Davarpanah M, Missika P, Celletti R, Lazzara R. Optimal implant stability in low density bone. *Clin Oral Impl Res.* 2001;12:423-432.
17. Truhlar RS, Orenstein IH, Morris HF, Ochi S. Distribution of bone quality in patients receiving endosseous dental implants. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery.* 1997;55(Suppl.5),38-45.
18. Jaffin RA, Berman CI. The excessive loss of Branemark fixtures in type IV bone: A 5-year analysis. *Journal of Periodontology.* 1991;62:2-4.
19. Friberg B, Sennerby L, Roos J, Johansson P, Strid CG, Lekholm U. Evaluation of bone density using cutting resistance measurements and microradiography. An in vitro study in pig ribs. *Clin Oral Impl Res* 1995;164-171.
20. Trisi P, Rao W. Bone classification: clinical histomorphometric comparison. *Clin Oral Impl Res.* 1999;10:1-7.
21. Adell R, Eriksson B, Lekholm U, Branemark PI, Jemt T. A long-term follow-up study of osseointegrated implants in the treatment of the totally edentulous jaw. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1990;5:347-359.
22. Branemark PI, Hansson BO, Adell R, Breine U, Lindström J, Hallén O, Öhman A. Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10 year period. *Scandinavian Reconstructive Surgery II.* 1977;(Suppl.16):1-132.
23. Watzak G, Zechner W, Ulm C, Tangl S, Tepper G, Watzek G. Histologic and histomorphometric analysis of three types of dental implants following 18 months of occlusal loading: a preliminary study in baboons. *Clin Oral Impl Res.* 2005;16:408-416.
24. Palacci P. *Esthetic Implant Dentistry: Soft and Hard Tissue Management*. 2nd reprinting; USA: Quintessence, 2006;22-29.
25. Corso M, Sirota C, Fiorellini J, Rasool F, Szmukler-Moncler S, Weber HP. Clinical and radiographic evaluation of early loaded free standing dental implants with various coatings in beagle dogs. *J. Prosthet. Dent.* 1999;82:428-435.
26. Branemark, PI, Zarb GA, Albrektsson T. *Tissue-Integrated Prostheses: Osseointegration in Clinical Dentistry*. Quintessence, 1985, USA.
27. Orenstein IH, Tarnow DP, Morris HF, Ochi S. Factors affecting implant mobility at placement and integration of mobile implants at uncovering. *Journal of Periodontology.* 1998;69:1404-1412.
28. Nkenke E, Hahn M, Weinzierl K, Radespiel-Tröger M, Neukam FW, Engelke K. Implant stability and histomorphometry: a correlation study in human cadavers using stepped cylinder implants. *Clin Oral Imp Res.* 2003;14:601-609.
29. Pinheiro JM, Lima ZF, Mansini R, Melo A. Correlation of placement torque and survival of single-tooth implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2005;20(5):769-776.
30. Aparicio C, Lang NP, Rangert B. Validity and clinical significance of biomechanical testing of implant/bone interface. *Clin Oral Imp Res.* 2006;17(Suppl. 2):2-7.
31. Szmukler-Moncler S, Salama H, Reingewirtz Y, Dubruille JH. Timing of loading and effect of micromotion on bone-dental implant interface: review of experimental literature. *Journal of Biomedical Materials Research.* 1998;43:192-203.
32. Hobkirk JA, Wiskott HWA. Biomechanical aspects of oral implants. Consensus report of Working Group I. *Clin Oral Imp Res.* 2006;37(Suppl.2):52-54.
33. Sul YT, Johansson CB, Jeong Y, Wennerberg A, Albrektsson T. Resonance frequency and removal torque analysis of implants with turned and anodized surface oxides. *Clin Oral Impl Res.* 2002;13:252-259.

CORRESPONDENCIA AUTOR

Christian Nappe Abaroa
Departamento de Periodoncia, Facultad de Odontología
Universidad Mayor. Chile.
c_nappe@hotmail.com

Trabajo recibido el 21/10/2007.

Aprobado para su publicación el 07/02/2008.

Prevalencia de la Pérdida de Inserción Clínica en Adolescentes de Colegios Públicos de Medellín-Colombia

Risk Indicators for Clinical Attachment Loss Among Adolescents from Public Schools in Medellin, Colombia

Gómez Restrepo AM¹, Ardila Medina CM², Franco Cortes AM³,
Duque Agudelo L⁴, Osorno Cardona C⁴, Moros Reyes A⁵, Guzmán Zuluaga IC⁶.

RESUMEN

Objetivo: Datos acerca de la condición periodontal en adolescentes que viven en la ciudad de Medellín- Colombia son escasos. El objetivo del estudio presente fue el de evaluar indicadores de riesgo y la prevalencia de la pérdida de inserción clínica mediante análisis de regresión logística. **Métodos:** Una muestra aleatoria de los adolescentes Colombianos que viven en la ciudad de Medellín fue obtenida, comprendiendo 629 adolescentes. El muestreo probabilístico se realizó en tres etapas: por conglomerados donde se seleccionaron aleatoriamente los colegios, la segunda en donde se selecciona una clase por cada grado escolar y la tercera una muestra aleatoria de siete estudiantes de cada clase. Los estudiantes fueron examinados clínicamente por un examinador calibrado debidamente, quien examinó recesiones gingivales, profundidad de bolsas en seis sitios por diente en un examen de boca completa y calculando debidamente la pérdida de inserción de cada sitio. **Resultados:** La prevalencia de la pérdida de inserción ≥ 1 mm en la muestra fue del 40.6%. con un rango de prevalencia entre 26.5% y 55.3% dependiendo de la edad y el género. La pérdida de inserción clínica ≥ 2 mm fue encontrada en el 29.9% de los estudiantes y pérdida de inserción ≥ 3 mm fue vista en el 16% de los adolescentes. El modelo de análisis de regresión logística reveló que en cuanto al género se tiene una mayor probabilidad de aumento en la pérdida de inserción clínica. **Conclusiones:** Este estudio muestra que el aumento en la pérdida de inserción clínica en adolescentes en la ciudad de Medellín- Colombia esta asociado al género. **Rev. Clin Periodoncia Implantol Rehabil. Oral Vol. 1 (1); 23-26, 2008.**

Palabras clave: epidemiología, prevalencia, pérdida de inserción clínica, adolescentes, indicadores de riesgo.

ABSTRACT

Background and Aims: Data on periodontal conditions in adolescents living in Medellin, Colombia are scarce. The aim of the present study was to estimate risk indicators and the prevalence of clinical attachment loss using multivariable logistic regression. **Methods:** A random sample of the Colombian adolescents was obtained, comprising 629 subjects. A probability, weighted sample was selected using a complex, multistage probability sampling design. The study was clustered in schools and classrooms. The study subjects were clinically examined under field conditions by a single calibrated examiner who measured gingival recession and recorded probing depths at six different sites per tooth, with subsequent calculation of clinical periodontal attachment level for each site. **Results:** The prevalence of clinical attachment loss ≥ 1 mm in the sample was 40.6%; with a prevalence range between 26.5% and 55.3%, depending on age and gender. Clinical attachment loss ≥ 2 mm was found in 29.9% of the students and attachment loss ≥ 3 mm was seen in 16% of the students. The logistic regression model revealed that only gender significantly increased the probability of having clinical attachment loss. **Conclusions:** This study shows the prevalence of clinical attachment loss in adolescents in Medellin and proves that gender is associated with a higher odd ratio of clinical attachment loss. **Rev. Clin Periodoncia Implantol Rehabil. Oral Vol. 1 (1); 23-26, 2008.**

Key words: epidemiology, prevalence, clinical attachment loss, adolescents, risk indicators.

INTRODUCCIÓN

La pérdida inicial de una pequeña cantidad de inserción de tejido conectivo y hueso alveolar es la forma más prevalente de destrucción periodontal en adolescentes y adultos jóvenes.⁽¹⁾ La detección de la destrucción periodontal temprana no es un procedimiento simple y algunos estudios epidemiológicos han sido rechazados por carecer de un criterio diagnóstico confiable.⁽²⁾ Las dos principales normas diagnósticas usadas para la detección de la periodontitis son la pérdida de inserción de tejido conectivo y la pérdida de hueso alveolar.

Actualmente existe desacuerdo en la utilización de parámetros radiográficos en la detección temprana de pérdida de inserción, mientras que un sondaje cuidadoso para establecerla ha sido considerado como una medida válida para evaluar los estadios primarios de periodontitis en niños y adolescentes.⁽³⁾

Se han argumentado diferencias considerables en la

prevalencia de los estados iniciales de periodontitis en adolescentes y se ha concluido que es mayor en hombres que en mujeres, y en los más afectados solamente uno o dos sitios están involucrados, principalmente los primeros molares superiores y los incisivos centrales inferiores.⁽⁴⁻⁹⁾

Estudios en diferentes poblaciones reportan rangos de prevalencia de pérdida de inserción clínica mayor o igual a un milímetro, entre 3% y 47%, y las variaciones son explicadas por la heterogeneidad de las poblaciones estudiadas y por los métodos de muestreo utilizadas. En Colombia, la epidemiología de las enfermedades periodontales se ha estudiado a través de tres estudios nacionales y varios estudios de carácter local.

En el III Estudio Nacional de Salud Bucal de Colombia, ENSAB (1998), el 50.2% de las personas mayores de 15 años, presentaban pérdida de inserción, siendo mayor la tasa en hombres (52.6%) que en mujeres (47.6%). El 42.0% presentaba pérdida localizada y en el 8.1% era generalizada. La pérdida de

1. Odontóloga CES. Especialista en Odontología Integral del Niño. Facultad de Odontología, Universidad de Antioquia. Colombia. 2. Odontólogo Universidad Santo Tomás. Especialista en Prótesis Periodontal CES. 3. Odontóloga. Universidad de Antioquia. Magíster en Epidemiología. Facultad de Odontología, Universidad de Antioquia, Colombia. 4. Estudiante de Odontología, Universidad de Antioquia. Colombia. 5. Odontólogo egresado de la Universidad de Antioquia. Colombia. 6. Odontóloga CES. Especialista en Periodoncia, Universidad de Chile.

inserción clínica, era leve (<3mm) en el 41.1% de los colombianos, en el 7.7% moderada (≥ 3 y < de 6mm) y en el 1.2% era severa (≥ 6 mm). En la población de 15 a 19 años se encontró que la Prevalencia de pérdida de inserción era de 32.8%. (31.4% pérdida localizada y 1.4% pérdida generalizada). En cuanto a la severidad, en el 31.0% era leve, en el 1.7% moderada y en el 0.1% severa. Según este estudio, la ciudad de Medellín presenta una de las mayores prevalencias de pérdida de inserción clínica en Colombia (53%).⁽¹⁰⁾

La prevalencia de las enfermedades periodontales desde edades tempranas refleja la importancia de implementar medidas de promoción y prevención en la población escolar, para que las nuevas generaciones de adolescentes estén libres de la presencia de estas periodontopatías. Sin embargo las medidas de promoción y prevención a implementar requieren de nuevos estudios basados en los índices usados en la actualidad en los estudios epidemiológicos, más en consonancia con los nuevos conceptos diagnósticos de las enfermedades periodontales y principalmente de sus indicadores clínicos.

El objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia, extensión y severidad de la pérdida del nivel de inserción clínica en adolescentes entre 14 y 17 años de edad de la ciudad de Medellín, Colombia.

MÉTODOS

Sujetos

El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité Institucional de Bioética de la Facultad de Odontología de la Universidad de Antioquia. Los padres de los adolescentes fueron informados y dieron su consentimiento para la participación en el estudio.

Una muestra probabilística de 629 adolescentes con edades entre los 14 y 17 años de edad, matriculados en 23 colegios públicos de la ciudad de Medellín – Colombia, fueron incluidos en este estudio. Todos los adolescentes pertenecían a los estratos socioeconómicos medio y bajo. Se escogió este rango de edad, porque aumentaba la probabilidad de examinar sujetos con dentición permanente y con erupción completa incluyendo el segundo molar. Se excluyeron del examen los adolescentes con tratamientos de ortodoncia, los dientes parcialmente erupcionados y los terceros molares.

El tamaño de la muestra se calculó con base en la proporción de adolescentes con pérdida clínica de inserción periodontal (42.7%), reportada en el III Estudio Nacional de Salud Bucal10. El muestreo probabilístico se hizo en tres etapas: la primera, por conglomerados de donde se seleccionaron aleatoriamente 23 colegios de la base de datos de la Secretaría Municipal de Educación; la segunda, en la que se seleccionó una clase por cada grado escolar (8° a 11°) y la tercera etapa en la que se hizo la selección aleatoria de siete estudiantes de cada clase, con base en los listados proporcionados por el colegio. Quince adolescentes no acudieron al examen después de haber dado su consentimiento.

Examen clínico bucal

Un examinador previamente entrenado y calibrado, hizo un examen clínico de boca completa, a cada adolescente. El examen se llevó a cabo en las instalaciones de los colegios y para hacerlo, el odontólogo contó con sillón portátil, lámpara de luz halógena, espejo bucal No. 5 y sonda periodontal Carolina del Norte. Un

auxiliar dental se encargó del registro de la información.

Durante el examen se evaluó la pérdida de inserción clínica⁽¹¹⁾ y la profundidad sondeable⁽¹²⁾. El ejercicio de calibración intraexaminador se hizo tanto para la medición de la profundidad sondeable como para la pérdida de inserción periodontal. Para la profundidad sondeable el porcentaje de concordancia fue de 98.8% y el valor Kappa de 0.69; para la pérdida de inserción clínica, el porcentaje de concordancia fue de 94.6% y el valor Kappa de 0.52. La calibración intraexaminador se repitió en dos ocasiones durante la ejecución del estudio, empleando 12 estudiantes para tal fin, mejorándose notablemente el valor Kappa para la pérdida de inserción clínica (0.72).

La profundidad sondeable (PS) y la pérdida del nivel clínico de inserción (CAL) se midieron en seis sitios por diente tanto en maxilar superior (MesioVestibular, MedioVestibular, DistoVestibular, MesioPalatino, MedioPalatino y DistoPalatino) como en el maxilar inferior (MesioVestibular, MedioVestibular, Distovestibular, MesioLingual, MedioLingual y DistoLingual) de todos los dientes incluidos en el examen de boca completa. La profundidad sondeable se definió como la medida desde el margen gingival hasta el fondo del surco o bolsa. La pérdida de inserción clínica se calculó con base en la distancia desde la unión amelocementaria hasta el margen libre de la encía (FGM) y la distancia desde el margen libre de la encía hasta el fondo del surco o bolsa.

Análisis de los datos

Los datos recolectados fueron tabulados en una base de datos creada en el programa Epi-Info versión 6.04d y analizados en el programa SPSS versión 14.0.

Se estimó la prevalencia de la pérdida de inserción periodontal según la edad y el sexo, además se calcularon medidas de resumen como promedios y sus respectivos intervalos de confianza (95%).

Adicionalmente, se exploraron diferencias entre prevalencias y promedio mediante la prueba Chi-cuadrado de independencia, Prueba Exacta de Fisher y Prueba U de Mann-Whitney dada la ausencia de normalidad de las variables cuantitativas. La significancia estadística fue definida como $p < 0.05$.

RESULTADOS

En el 35.6% de los adolescentes, el segundo molar inferior estaba ausente o no había erupcionado completamente, por lo tanto fue excluido del examen. El segundo molar superior fue excluido en el 17.8% de los casos. Los demás dientes fueron excluidos en proporciones que oscilan entre 3.2% (caninos superiores) y 0.7% (caninos inferiores). Se evaluaron en total el 95.1% de los sitios programados para evaluación.

La tabla 1 muestra la distribución de los adolescentes según la edad y el sexo. El 40.6% de los examinados tenía al menos un sitio con pérdida de inserción clínica ≥ 1 mm. El rango de la prevalencia de la pérdida de inserción clínica ≥ 1 mm fue de 26.5% a 55.3%, según la edad y el sexo. La pérdida de inserción clínica ≥ 2 mm se encontró en el 29.9% de los adolescentes y CAL ≥ 3 mm en el 16.0%, con un rango entre 7.7% y 27.8% (Tabla 1). En general, la prevalencia fue más alta en los hombres ($p < 0.05$).

El promedio específico (entre los afectados) de sitios con CAL ≥ 1 mm, fue de 4.7 (IC95% 3.3-6.0) para los hombres y de 3.0 (IC95% 1.9-4.1) para las mujeres ($p < 0.05$). Para la CAL ≥ 3 el promedio de sitios afectados en hombres fue de 2.1 (IC95% 1.1-3.0) y en las mujeres de 2.3 (IC95% 0.7-3.9) ($p > 0.05$).

TABLA 1. Prevalencia y promedio de sitios afectados por CAL.

EDAD	SEXO	n	CAL >1			CAL > 2			CAL > 3		
			%	Prom sitios	IC95%	%	Prom sitios	IC95%	%	Prom sitios	IC95%
14	H	63	42.9	3.8	1.5-6.0	32.1	2.2	1.4-3.1	25.0	1.4	0.7-2.2
	M	87	30.8	2.8	1.5-4.0	23.1	2.0	1.0-3.2	7.7	2.0	0-6.3
	Total	150	35.8	3.3	2.1-4.5	26.9	2.2	1.6-2.8	14.9	1.6	0.8-2.4
15	H	125	48.2	4.9	2.5-7.3	33.9	2.8	1.4-4.2	17.9	1.9	0.7-3.1
	M	76	26.5	2.8	1.1-4.5	20.6	2.4	0.1-4.8	11.8	2.5	0-6.3
	Total	201	40.0	4.4	2.5-6.2	28.9	2.7	1.6-3.8	15.6	2.1	1.0-3.1
16	H	85	55.3	5.0	2.1-7.8	42.1	3.8	0.8-6.9	15.8	3.5	0-8.5
	M	91	34.1	3.4	0.2-6.5	24.4	3.2	0-7.5	9.8	4.0	0-13.6
	Total	176	44.3	4.3	2.3-6.4	32.9	3.6	1.3-5.9	12.7	3.7	0.2-7.2
17	H	40	38.9	4.6	0.8-8.4	38.9	3.0	0.4-5.6	27.8	1.6	0.5-2.7
	M	62	44.4	2.8	0.3-5.4	25.9	2.7	0-5.5	22.2	1.2	0.7-1.6
	Total	102	42.2	3.5	1.5-5.4	31.1	2.9	1.3-4.5	24.4	1.4	0.9-1.8
TODOS	H	313	47.9	4.7	3.3-6.0	36.4	3.0	2.0-4.1	20.0	2.1	1.1-3.0
	M	316	33.3	3.0	1.9-4.1	23.4	2.6	1.3-3.9	12.1	2.3	0.7-3.9
	Total	629	40.6	4.0	3.1-4.9	29.9	2.9	2.1-3.7	16.0	2.2	1.4-3.0

* 95% confidence interval for the extent

CAL \geq 1 mm

* Boys vs Girls P<0.05 (prevalence)

€ Boys vs Girls P<0.005 (extent)

£ Total 14 vs. 17 P<0.05

CAL \geq 2 mm

§ Boys vs girls P<0.005

¥ Boys vs girls P<0.05

Total 14 vs. 17 P<0.001

CAL \geq 3 mm

⌘ Boys vs girls P=0.049

ç Boys vs girls P>0.05

† Total 14 vs. 17 P<0.001

TABLA 2. Prevalencia y promedio de sitios Interproximales afectados por CAL.

EDAD	SEXO	n	CAL >1			CAL > 2			CAL > 3		
			%	Prom sitios	IC95%	%	Prom sitios	IC95%	%	Prom sitios	IC95%
14	H	63	35.7	3.8	1.2-6.4	25.0	2.0	0.9-3.1	14.3	1.3	0.5-2.1
	M	87	20.5	3.4	2.0-4.7	15.4	2.3	0.5-4.2	5.1	2.5	0-21.6
	Total	150	26.9	3.6	2.2-5.0	19.4	2.2	1.3-3.0	9.0	1.7	0.4-2.9
15	H	125	44.6	4.5	2.1-6.9	25.0	2.9	1.2-4.5	14.3	1.8	0.5-3.0
	M	76	23.5	2.0	1.1-2.9	17.6	1.3	0.8-1.9	11.8	1.3	0.5-2.1
	Total	201	36.7	3.9	2.1-5.7	22.2	2.4	1.3-3.6	13.3	1.6	0.8-2.4
16	H	85	47.4	4.3	1.5-7.2	28.9	3.6	0-7.2	10.5	3.8	0-11.5
	M	91	29.3	3.0	0.3-5.7	17.1	3.1	0-7.6	9.8	2.5	0-7.5
	Total	176	38.0	3.8	1.9-5.7	22.8	3.4	0.9-5.9	10.1	3.1	0-6.3
17	H	40	27.8	4.2	0.1-8.3	22.2	2.8	0-6.5	16.7	1.3	0.1-2.8
	M	62	37.0	2.7	0-5.6	18.5	2.6	0-6.4	14.8	1.3	0.5-2.1
	Total	102	33.3	3.2	1.1-5.3	20.0	2.7	0.7-4.7	15.6	1.3	0.8-1.7
TODOS	H	313	41.4	4.3	3.0-5.7	25.7	2.9	1.7-4.1	13.6	2.0	0.8-3.2
	M	316	27.0	2.8	1.7-3.8	17.0	2.4	1.1-3.6	9.9	1.8	0.8-2.8
	Total	629	34.2	3.7	2.8-4.6	21.4	2.7	1.8-3.5	11.7	1.9	1.2-2.7

CAL \geq 1 mm

* Boys vs. girls P<0.005 (prevalence)

€ Boys vs. girls P<0.05 (extent)

£ Total 14 vs. 17 P<0.05

Los sitios interproximales con CAL \geq 1mm fueron observados en 34.2% de los adolescentes, con un rango de prevalencia entre 20.5 y 47.4%, según la edad y el sexo. CAL interproximal \geq 2 mm y \geq a 3 mm, se observó en el 21.4% y 11.7% de los adolescentes, respectivamente (Tabla 2). En los sitios interproximales la prevalencia de pérdida de inserción clínica también es más alta en los hombres.

El número promedio de sitios interproximales con CAL \geq 1mm fue de 3.7 (IC95% 2.8–4.6) y con CAL \geq 2mm fue de 2.7 (IC95% 1.8-3.5) (Tabla 2).

DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio demuestran que la pérdida de inserción clínica es prevalente en adolescentes de la ciudad de Medellín. La prevalencia de CAL en adolescentes entre 14 y 17 años fue \geq 1mm en el 40.6% de los estudiantes, \geq 2mm en el 29.9% y \geq 3mm en el 16%, siendo superior en los hombres. La información que suministra la pérdida de inserción clínica en adolescentes de una población es muy importante porque además de revelar el estado periodontal de los jóvenes

permite orientar políticas en salud pública dirigidas a la intervención temprana y apropiada en la población con el fin de reducir la incidencia y la prevalencia de la pérdida de inserción periodontal.⁽¹³⁾ Es importante anotar que no siempre es posible comparar la prevalencia de las enfermedades reportadas en diferentes estudios debido a diferencias en el muestreo, en el diseño del estudio y a los diferentes criterios de diagnóstico y de clasificación de la enfermedad.

El presente estudio mostró que la prevalencia de la pérdida de inserción fue mayor que la observada en los adolescentes de Medellín evaluados en 1998, según los datos del III Estudio Nacional de Salud Bucal donde la pérdida de inserción fue leve en el 31%, moderada en el 1.7% y severa en el 0.1% en adolescentes entre 15 a 19 años de edad.⁽¹⁰⁾

Esto significa que no se han establecido suficientes políticas de salud públicas dirigidas a la promoción y prevención de la enfermedad periodontal en Colombia o que ellas no han sido eficientes. En particular en el estudio titulado: "**Prevalencia de la pérdida de inserción clínica en adolescentes de colegios públicos de Medellín- Colombia**" las diferencias encontradas en los resultados con respecto a otros estudios se debe a que en el presente estudio se realizó examen de boca completa aumentando la posibilidad de hallar mas sitios con pérdida de inserción clínica, además en dicho estudio sólo se evaluaron adolescentes de colegios públicos de la ciudad de Medellín, lo que demuestra una vez mas la poca posibilidad de acceder a los

servicios de salud de estos adolescentes que pertenecen en su mayoría a un estrato socio-económico y cultural bajo.

La prevalencia de inserción clínica ≥ 1 mm en el presente estudio es inferior a la observada en adolescentes chilenos (López y col)⁽¹⁵⁾, y en adolescentes dominicanos (Collins y col)⁽¹⁶⁾, y superior cuando la pérdida de inserción clínica es ≥ 2 mm y ≥ 3 mm.

En el estudio de López y colaboradores⁽¹³⁾ con una muestra de 9.162 estudiantes chilenos entre 12 y 21 años de edad, encontraron que el 69.2% de todos los estudiantes examinados tenían una pérdida de inserción clínica ≥ 1 mm y las mujeres tenían una prevalencia levemente superior comparada con la de los hombres, mientras en el presente estudio, en casi todas las edades, exceptuando los adolescentes de 17 años, los hombres tienen una prevalencia más alta.

Collins y colaboradores⁽¹⁶⁾ llevaron a cabo un estudio en 2007 estudiantes adolescentes dominicanos entre 12 y 21 años de edad, reportando que el 49.5% de todos los estudiantes evaluados presentaron una pérdida de inserción clínica ≥ 1 mm y no se encontraron diferencias entre hombres y mujeres.

La prevalencia de pérdida de inserción clínica ≥ 2 mm encontrada en este estudio es similar a la reportada por un estudio realizado en adolescentes por Mann y colaboradores (24.5%)⁽¹⁷⁾ y superior a la encontrada en adolescentes chilenos⁽¹⁵⁾ y dominicanos⁽¹⁶⁾.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Davies R, Smith RG, Porter SR. Destructive forms of periodontal disease in adolescents and young adults. *British dental Journal*, 1985; 158: 429-435.
- Gjerme P, Casiano KR, Susin C, Opperman R. Periodontal diseases in central and south america. *Periodontology* 2000 2002; 29: 70-78.
- Clerehug V, Lennon MA, Whortington HV. Aspects of the validity of loss of attachment greater than or equal to 1mm in studies of early periodontitis. *J of Clin Periodontol*. 1988; 15: 207-210.
- Ass AM, Albander JM, Gjerme P. Variation in prevalence of radiographic bone loss in subgroups of 14 year old schoolchildren in Oslo. *J of Clin Periodontol*. 1988; 15: 130-133.
- Clerehug V, Lennon MA, Whortington HV. 5 year results of a longitudinal study of early periodontitis in 14-19 year old adolescent. *J of Clin Periodontol* 1990; 17: 702-708.
- Clerehug V, Lennon MA. A two year longitudinal study of early periodontitis in 14 to 16 years old schoolchildren. *Community Dent health* 1986; 3: 135-141.
- Booth V, Ashley F. The oral health of a group of 15-17 year old of British school children of different ethnic origin. *Community Dent health* 1989; 6: 195-205.
- Wolfe MD, Carlos JP. Periodontal disease in adolescents: epidemiologic findings in Navajo indians. *Community Dent Oral Epidemiol* 1987; 15:33-40.
- Perry DA, Newman MG. Ocurrente of periodontitis in urban adolescent population. *P Periodontol* 1990;61: 185-188.
- República de Colombia. Ministerio de Salud III Estudio Nacional de Salud Bucal EN-SAB III. Serie Documentos Técnicos. Tomo VII. Bogotá, 1999.
- Carlos JP, Wolfe M, and Kingman A. The exten and severity index: A simple method for use in epidemiological studies of periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1986; 13: 500-05.
- Yoneyama T, Okamoto, Lindhe J, Socrasky, and Haffejee, A. D. Probing depth, attachment loss and gingival recession. *J Clin Periodontol* 1988;15:581-91.
- Thomson WM, Hashim R, Pack A. The prevalence and intraoral distribution of periodontal attachment loss in a birth cohort of 26-year-olds. *J Periodontol* 2000;71:1840-1845.
- Albandar JM, Muranga MB, Rams TE. Prevalence of aggressive periodontitis in school attendees in Uganda. *J Clin Periodontol* 2002;29:823-831.
- López R, Fernández O, Jara G, Baelum V. Epidemiology of clinical attachment loss in adolescent. *J Periodontol* 2001;72:1666-1674.
- Collins J et al. Prevalence of Clinical Attachment Loss in Adolescents in Santo Domingo, Dominican Republic. *J Periodontol* 2005; 76:1418-1422.
- Mann J, Cormier PP, Green P, Ram CA, Miller MF, Ship OS. Loss of periodontal attachment in adolescent. *Community Dent Oral Epidemiol* 1981; 9: 135-141.

CORRESPONDENCIA AUTOR

Ángela María Gómez Restrepo

Facultad de Odontología, Universidad de Antioquia. Colombia.

agomezrestrepo@gmail.com

Trabajo recibido el 18/11/2007.

Aprobado para su publicación el 10/03/2008.

Aumento Tridimensional de un Rebordado Alveolar Mediante una Técnica Modificada de Injerto de Tejido Conectivo Interposicionado y Sobrepuesto

Tridimensional Augmentation of an Alveolar Ridge by Means of a Modified Technique of a Grafting of Connective Interposed and Overlapped Tissue

Godoy C^{1,2,4}, Javer E^{1,2,4}, Caffarena R^{2,5}, López C^{1,3,4}

RESUMEN

Los defectos óseos alveolares constituyen cada vez más una problemática prevalente en implantología oral y rehabilitaciones especialmente en el sector antero-superior. En este caso clínico se presenta una solución quirúrgica para un defecto óseo alveolar severo con una pérdida en volumen, y mediante un injerto de tejido conectivo modificado de tipo interposicionado y sobrepuesto.

Rev. Clin Periodoncia Implantol Rehabil. Oral Vol. 1 (1); 27-31, 2008.

Palabras clave: injerto tejido conectivo, defecto óseo alveolar, injerto sobrepuesto, injerto interposicionado.

ABSTRACT

Alveolar bone defects are becoming a recurrent prevalent problem in oral implantology and rehabilitation, specially in the antero-superior area. A surgical solution to a severe bone alveolar defect with volume loss by means of modified connective tissue graft interposed and overlapped is presented in this clinic case.

Rev. Clin Periodoncia Implantol Rehabil. Oral Vol. 1 (1); 27-31, 2008.

Key words: connective graft tissue, alveolar bone defect, overlapped graft, interposed graft.

INTRODUCCIÓN

Uno de los propósitos en la terapia periodontal e implantológica es la preservación del rebordado alveolar en lo que se refiere a su forma y dimensión especialmente por la remodelación que sufre en los eventos normales de cicatrización y remodelación ósea post-exodoncia. Sin embargo a pesar de lo anterior se producen alteraciones en sus dimensiones ápico-coronarias y buco-linguales, agregándose pérdida de papila interdental y de las convexidades propias de las curvaturas radiculares, variables que en su conjunto atentan finalmente con el resultado estético de las futuras rehabilitaciones.⁽¹⁾ Varios factores causan deformidades de los rebordes y entre ellas podemos destacar secuelas de la enfermedad periodontal, lesiones periapicales, fallas de implantes, extracciones traumáticas, traumatismos dentoalveolares, y lesiones tumorales o congénitas. Desde un punto de vista morfológico, Siebert JS (1983)⁽²⁾ clasifica a las deformidades de los rebordes alveolares en tres clases:

Clase I: Pérdida del rebordado alveolar en sentido buco-lingual con una normal dimensión en sentido ápico-coronario.

Clase II: Pérdida del rebordado alveolar en sentido apico-coronario con una normal dimensión en sentido buco-lingual.

Clase III: Pérdida combinada del rebordado alveolar tanto en sentido buco-lingual como en sentido ápico-coronario.

Allen EP et al (1985) introduce el criterio de severidad en el análisis de los rebordes alveolares. La pérdida leve es clasificada en 3mm, moderada de 3 a 6 mm y severa mayor a 6mm.⁽³⁾

Estas deformidades crean resultados insatisfactorios en prótesis fijas plurales e implantes sobre todo en áreas antero-superiores de alto requerimiento estético por parte del paciente. El pronóstico terapéutico es más favorable en defectos de tipo horizontal versus los verticales o defectos combinados en relación a vanos extensos o adyacentes a dientes con gran pérdida de tejidos periodontales de soporte.⁽⁴⁾

Por lo tanto los factores de estética y/o función determinarán el pronóstico terapéutico en las opciones de tratamiento de los rebordes alveolares y la combinación de injertos duros y/o blandos manejados e indicados en forma adecuada reducirán estos defectos. En general los de tipo leve a moderado pueden ser solucionados con injertos de tejidos blandos y los más severos requieren de combinaciones de tejidos duros y blandos.⁽⁵⁾ En la elección de la técnica influye también el tipo de tratamiento. Si la rehabilitación es en base a prótesis fija plural (PFP) el aumento con injertos blandos podría ser suficiente sin embargo para implantes la reconstrucciones en la mayoría de los casos requiere tantos tejidos blandos y duros.⁽⁶⁾

De las técnicas de aumento de tejidos blandos destacan:

“Técnica de Roll”: Indicada en casos de defectos leves a mode-

1. Especialista en Periodoncia.

2. Especialista en Implantología Oral.

3. Profesor Adjunto, Programa de Especialización en Periodon-

cia, Escuela de Graduados, Facultad de Odontología, Universidad de Chile. Chile.

4. Docente curso “Manejo de Tejidos Blandos en Implanto-

logía Oral”. 5. Alumno Curso “Manejo de Tejidos Blandos en Implantología Oral”.

rados y clase I de Siebert. La técnica quirúrgica requiere la preparación de un colgajo con un desplazamiento como pedículo desde palatino de modo que des-epitelizado quede en un bolsillo realizado en el colgajo vestibular. Una modificación de la técnica consiste sólo en el desplazamiento de un pedículo de tejido conectivo preservando la capa epitelizada en la zona dadora palatina.⁽⁷⁾

“Técnica en bolsillo con tejido conectivo”: Permite la corrección de defectos clase I y se realiza a través de la creación de un bolsillo sub-epitelial en el cual se dispone un injerto de tejido conectivo. La incisión de entrada puede ser corono-apical, apico-coronaria o lateral.^(8,9)

“Injerto interposicionado o inlay”: Se utiliza en clase I y clases II o III leves a moderadas. El procedimiento requiere la obtención de un injerto conectivo palatino en cuña y epitelizado que dispuesto en un bolsillo, se sutura a nivel de los tejidos gingivales adyacentes. El objetivo es ocupar los defectos vestibulares cóncavos y ganar parcialmente altura del reborde.⁽¹⁰⁾

“Injerto en onlay o sobrepuesto”: En el sitio receptor se prepara un lecho través de incisiones paralelas en el epitelio del reborde que permitan una comunicación con el componente vascular del tejido conectivo. Por palatino se obtiene un grueso injerto gingival libre que es asegurado por múltiples suturas a manera de un “onlay” sobre el área receptora.⁽¹¹⁾

“Combinación de injerto interpuesto y onlay”: Para obtener simultáneamente un aumento en sentido vertical y horizontal se propone este tipo de combinación y es una de las mejores indicaciones para los rebordes clase III de Siebert.⁽¹²⁾

El caso clínico que se presenta a continuación es una técnica modificada de injerto de tejido conectivo interposicionado y sobrepuesto para recuperar en sentido apico-coronario y vestibulo-palatino el volumen defectuoso de un reborde óseo alveolar.

PROCEDIMIENTO QUIRÚRGICO

Paciente de sexo femenino de 35 años, sin antecedentes de enfermedades sistémicas y portadora de prótesis parcial removible superior para diente 2.1 (pieza 9) (Figura 1). La pieza dentaria se extrajo por una historia de tratamientos endodónticos y periodontales fallidos que condujeron después de una fractura radicular a una reabsorción ósea alveolar completa con una gran secuela de tejidos blandos y duros producto de una lesión periapical. En la clasificación de defectos óseos de reborde se homologa a una clase III de Siebert correspondiente a una pérdida de volumen en altura apico-coronaria y de espesor vestibulo-palatino (Figuras 2 y 3) Previo a la cirugía se realiza la preparación necesaria en pieza 1.1, que sirve para provisionalizar diente 2.1 y eliminar uso de prótesis removible. La toma de decisión quirúrgica en el reborde fue una técnica modificada de injerto de tejido conectivo de origen palatino con recubrimiento parcial y central de epitelio, en ubicación interposicionado y sobrepuesto en relación al defecto original de modo de recuperar los tejidos paraqueratinizados perdidos, y su dimensión vertical y horizontal. El defecto de tejidos blandos mide aproximadamente 8 mm de altura, 4 mm en la parte más extensa de la curvatura vestibulo-palatina y se encuentra sólo circundado por mucosa alveolar. Todo lo anterior proyectado para realizar sobre el vano un pónico que forme parte de una prótesis fija plural y cerámica (Figura 3).

El paciente es premedicado con Amoxicilina 1000 mg, 1 comprimido recubierto cada 12 hrs., por 7 días, con un analgésico, Desketo 25mg (dexketoprofeno, Laboratorio Recalcine,



FIGURA 1. Paciente portadora de prótesis parcial removible superior para pieza 9 (2.1).



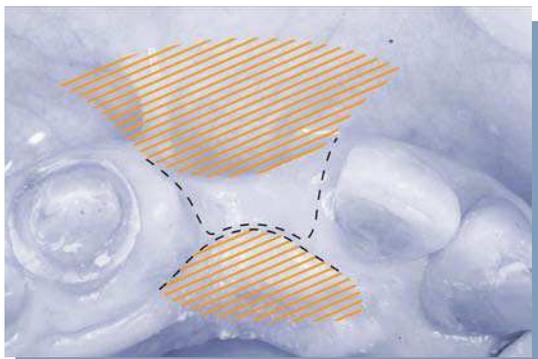
FIGURA 2. Marcada reabsorción reborde zona pieza 2.1, clase III de Siebert correspondiente a pérdida de altura y de volumen vestibulo-palatino.



FIGURA 3. Preparación necesaria en pieza 1.1, que sirve para provisionalizar pieza 2.1 y eliminar uso de prótesis removible.

Chile) cada 12 hrs por tres días y colutorios de clorhexidina al 0,12% a partir del día anterior. Previa anestesia infiltrativa (Septanest®, articaina 1/100000, Septodont, Francia) en vestibular y palatino se inicia la cirugía en el sitio receptor con un colgajo de espesor parcial y diseño de incisiones en “H” con orientación curva y respetando papilas gingivales de piezas vecinas. La incisión horizontal es en posición paramediana de modo de preservar el máximo de tejido blando en lo que a manejo quirúrgico se refiere y desplazada a palatino. Se efectúa un bolsillo de espesor parcial tanto a vestibular como a palatino en una disección en 180° o en abanico del área; debiendo obligatoriamente sobrepasar la línea mucogingival, siendo éste un punto crítico de la técnica (Figuras 4 y 5).

La toma del sitio dador es longitudinal al eje palatino con dos incisiones horizontales y paralelas, a contacto óseo, aproximadamente a 2 a 3 mm hacia apical de los márgenes gingivales, que contornean una zona central que preserva un botón de tejido conectivo con epitelio de mucosa palatina y dos flaps laterales de disección parcial epitelizados (Figura 6). Este es creado a nivel de premolares y primer molar. El volumen del injerto está determinado por la combinación de anchura y altura del reborde a reconstituir, y el colgajo realizado en el sitio receptor. Por ende el aspecto de este injerto de tejido conectivo asemeja una porción epitelizada central circular con dos "faldones" laterales de tejido conectivo (Figura 7).



FIGURAS 4 y 5. Se diseñan incisiones respetando papilas de piezas vecinas. Diseño en "H" preservando punto más alto de remanente de tejido blando en cresta del defecto, efectuando un bolsillo de espesor parcial tanto a vestibular como a palatino; debiendo obligatoriamente sobrepasar la línea mucogingival, siendo éste un punto crítico de la técnica.

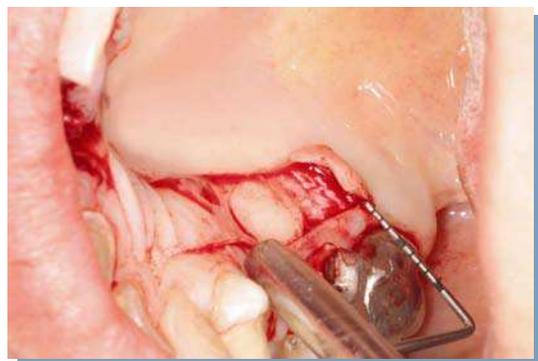


FIGURA 6. Toma de injerto palatino de diseño longitudinal, dejando en su centro botón de tejido conectivo con epitelio palatino.



FIGURA 7. Injerto de tejido conectivo parcialmente epitelizado una vez obtenido.



FIGURA 8. Modificación del injerto de tejido conectivo parcialmente epitelizado.

El injerto conectivo es previamente preparado realizando una incisión en "V" parcial, vale decir sin llegar hasta el otro extremo (Figura 8). Esta nueva porción se desliza bajo la anterior y se fija suturándola a la anterior formando una figura en "cruz" (Figura 9) de modo que los dos brazos que forman la porción horizontal se tunelizarán a vestibular respectivamente a mesial y distal y la porción vertical se dispondrá en el bolsillo palatino (Figura 10). El posicionamiento y fijación del faldón vestibular del injerto se realiza dentro del bolsillo mediante tres puntos de sutura como vectores de anclaje: distal, medial y proximal; logrando así la coincidencia de epitelios, (bolsillo y botón) (Figura 11). Por palatino se fija con un punto externo y la estabilización de bordes con suturas en "O" interrumpidas. El material utilizado en las diversas etapas fue Polysorb® reabsorbible 5-0, aguja ½ de 16mm, reverso cortante (Syneture®, USA). Finalmente el sitio dador fue fijado con suturas tipo colchonero horizontal cruzado con ancla dentaria por vestibular. Las medidas post-operatorias consistieron en indicaciones estrictas de no cepillarse la zona intervenida, frío local y sólo aplicarse colutorios de clorhexidina al 0,12% por 14 días. Los controles se realizan a los tres días, 1 semana (Figura 12), 14 días, 30 días (Figuras 13 y 14), dos meses y seis meses (Figuras 15 y 16). El paciente queda con su provisorio con una mínima presión de la zona intervenida.

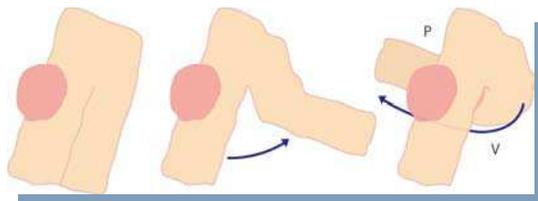


FIGURA 9. Modificación del injerto de tejido conectivo parcialmente epitelizado suturándose para adoptar una forma en "cruz".

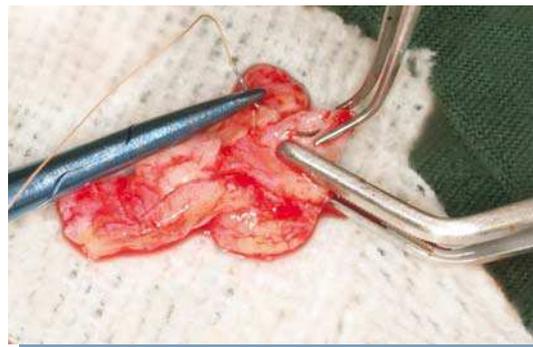


FIGURA 10. Procedimiento de sutura del injerto de tejido conectivo en "cruz".



FIGURA 11. Posicionamiento del faldón vestibular del injerto dentro del bolsillo mediante tres puntos de sutura como vectores de anclaje: distal, medial y proximal; logrando así la coincidencia de epitelios, (bolsillo y botón).



FIGURA 12. Post-operatorio inmediato a los 7 días.



FIGURA 13. Post-operatorio a los 30 días (vista frontal).



FIGURA 14. Post-operatorio a los 30 días (vista oclusal).



FIGURA 15. Post-operatorio a los 6 meses (vista frontal).



FIGURA 16. Post-operatorio a los 6 meses (vista oclusal).

CONCLUSIÓN

Las técnicas combinadas de injertos de tejido conectivo proporcionan una excelente alternativa terapéutica en la recu-

peración del volumen de rebordes óseos alveolares en lo que constituye actualmente la estética de los tejidos blandos y su integración natural al entorno de las rehabilitaciones orales del sector anterosuperior tanto en base a implantes como a piezas dentarias.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Wennström J, Pini Prato GP. Mucogingival therapy—Periodontal plastic surgery. In: Lindhe J, Karring T, Lang NP (eds). *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*, ed 4. Oxford, UK: Blackwell Munksgaard, 2003.
2. Seibert JS. Reconstruction of deformed, partially edentulous ridges, using full thickness onlay grafts. Part I. Technique and wound healing. *Compend Contin Educ Dent* 1983;4:437–453.
3. Allen EP, Gainza CS, Farthing GG, Newbold DA. Improved technique for localized ridge augmentation. A report of 21 cases. *J Periodontol* 1985;56:195–199.
4. Studer S, Naef R, Schärer P. Amélioration esthétique des pertes de substance. Intérêt de la chirurgie mucogingivale. *Clinic* 1998;19:547–561.
5. Seibert JS, Salama H. Alveolar ridge preservation and reconstruction. *Periodontol* 2000 1996;11:69–84.
6. Miller PD Jr. Periodontal plastic surgery. *Curr Opin Periodontol* 1993:136–143.
7. Scharf DR, Tarrow DP. Modified roll technique for localized alveolar ridge augmentation. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1992;12:415–425.
8. Langer B, Calagna L. The subepithelial connective tissue graft. *J Prosthet Dent* 1980;44:363–367.
9. Kaldhal WB, Tussing GJ, Wentz FM, Walker JA. Achieving an esthetic appearance with fixed prosthesis by submucosal graft. *J Am Dent Assoc* 1982;104:449–452.
10. Meltzer JA. Edentulous area tissue graft correction of an esthetic defect. A case report. *J Periodontol* 1979;50:320–322.
11. Seibert JS. Soft tissue grafts in periodontics. In: Robinson PJ, Guersney LH (eds). *Clinical Transplantation in Dental Specialties*. St Louis: Mosby, 1980:107–145.
12. Seibert JS, Louis J. Soft tissue ridge augmentation procedure utilizing a combination onlay-interpositional graft procedure: Case report. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1996;16:311–321.

CORRESPONDENCIA AUTOR

Carlos Godoy Cruzat

General Holley 2381-B oficina 1503, Providencia, Santiago de Chile, Chile.
cgodoy@periodoncia.cl

Trabajo recibido el 09/12/2007.

Aprobado para su publicación el 22/02/2008.

Osteonecrosis de los Maxilares Asociado a Terapia con Bifosfonatos: Situación Actual

Bisphosphonate Therapy-Associated Osteonecrosis of the Jaws: Current Situation

Cisterna C¹, Yanine N², González C³, Villanueva J.⁴

RESUMEN

En los últimos años, debido a distintas causas, un creciente número de pacientes se encuentra bajo tratamiento médico con bifosfonatos. Se ha descrito que estos fármacos podrían estar asociados con la aparición de ulceraciones intraorales espontáneas y osteonecrosis de los huesos maxilares. El propósito de esta revisión bibliográfica es describir las características de los bifosfonatos, su mecanismo de acción, las manifestaciones clínicas de la osteonecrosis de los maxilares, su manejo terapéutico y pautas de prevención. Los resultados indican, que los pacientes en mayor riesgo de desarrollar osteonecrosis de los maxilares son aquellos que reciben terapia con bifosfonatos nitrogenados intravenosos. Sobre el 70% de los casos se produce después de un procedimiento dental quirúrgico. La mandíbula es más comúnmente afectada que el maxilar. Se propone que el origen del cuadro se debe a la baja tasa de recambio óseo y disminuida vascularización que generan los bifosfonatos, lo que conlleva una disminución en la capacidad de cicatrización y regeneración de los tejidos. El manejo de las lesiones es de alta complejidad. Generalmente, se recomienda un tratamiento paliativo con antisépticos orales y antibioterapia. El debridamiento del hueso necrótico se indica en casos severos. Concluimos que es imprescindible conocer esta complicación para un temprano diagnóstico y tratamiento de ella, así como, prevenir su aparición. En este sentido, es recomendable realizar un examen dental, procurando diagnosticar y eventualmente eliminar todo sitio susceptible de infección antes del inicio de una terapia con bifosfonatos. Además, evitar procedimientos quirúrgicos, en pacientes en riesgo de desarrollar la complicación.

Rev. Clin Periodoncia Implantol Rehabil. Oral Vol. 1 (1); 32-37, 2008.

Palabras clave: osteonecrosis, bifosfonatos, osteonecrosis de los maxilares.

ABSTRACT

In recent years, due to different causes, an increasing number of patients are under medical treatment with bisphosphonates. These drugs might be associated with the growing of spontaneous ulceration of the oral mucosa and osteonecrosis of the jaws. The purpose of this review is to describe the characteristics of bisphosphonates, its mechanism of action, clinical manifestation of osteonecrosis of the jaws, therapeutic management and prevention. Patients treated with intravenous nitrogen-containing bisphosphonates, have a major risk to develop osteonecrosis. Over 70% of the cases are preceded by a dental surgical procedure. The mandible is more commonly affected than the maxilla. Probably the origin of the osteonecrosis of the jaws is a decreased microcirculation and a limited bone turnover due to bisphosphonates, leading to diminish their healing capacity and regeneration of the tissues. The management of the lesions is difficult. Palliative treatment is proposed with oral rinses and systemic antibiotic therapy. Removal of necrotic bone is recommended in severe cases. In conclusion, is necessary to know this condition for an early diagnosis and treatment, so to prevent its apparition. In this way, it is recommendable to do an oral examination and diagnosis, to treat active oral infections and eliminate sites at high risk for infection before getting the bisphosphonate therapy started. Furthermore, to avoid surgical procedures in risky patients.

Rev. Clin Periodoncia Implantol Rehabil. Oral Vol. 1 (1); 32-37, 2008.

Key words: osteonecrosis, bisphosphonates, osteonecrosis of the jaws.

INTRODUCCIÓN

Los bifosfonatos (BPs) son un grupo de fármacos inhibidores de la reabsorción ósea mediada por osteoclastos. Están indicados en el manejo de enfermedades metabólicas y malignas con implicancias en el tejido óseo, tales como metástasis óseas por cáncer de mama, próstata o pulmón, mieloma múltiple, hipercalcemia tumoral, enfermedad de Paget, osteogénesis imperfecta y osteoporosis⁽¹⁻⁴⁾.

En el año 2003 Marx, fue el primero en reportar 36 casos de individuos que desarrollaron una exposición ósea a nivel de los maxilares. Estas lesiones de etiología desconocida, no respondían favorablemente a los tratamientos médicos ni quirúrgicos. No obstante, los individuos afectados tenían en común, haber recibido terapia con BPs⁽⁵⁾. Posterior a ello, se han reportado numerosos casos de esta nueva entidad patológica, que se ha denominado osteonecrosis de los maxilares asociada a

bifosfonatos (BON)⁽⁶⁻⁹⁾.

Nuestra revisión bibliográfica, tiene como propósito describir las características generales de los BPs, su mecanismo de acción, las manifestaciones clínicas de BON y el manejo de la complicación, así como, establecer pautas preventivas frente al tratamiento odontológico de pacientes que ingieran estos fármacos en forma crónica.

MATERIAL Y MÉTODO

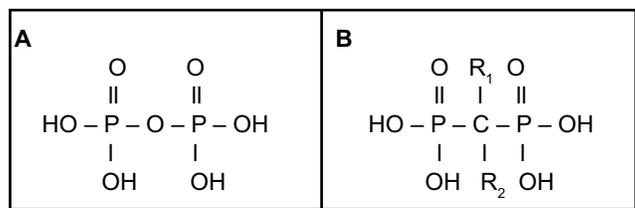
Recolectamos la información utilizando el buscador PubMed. Incluimos artículos de revistas indexadas en dicha base de datos, en idioma inglés y otros, publicados entre el 01 de Enero de 1998 y el 01 de Septiembre de 2007. Empleamos los encabezados de materias médicas (MeSH): *osteonecrosis* y *bisphosphonates*.

1. Cirujano-Dentista, Universidad de Chile. Chile. 2. Cirujano-Dentista. Departamento de Cirugía y Traumatología Máxilo Facial, Universidad de Chile. Chile. 3. Cirujano-Dentista. Clínica integral del adulto, Universidad de Chile. Chile. 4. Cirujano máxilo facial. Departamento de Cirugía y Traumatología Máxilo Facial Universidad de Chile. Chile.

La búsqueda arrojó un total de 438 reportes clínicos y 84 revisiones bibliográficas. Realizamos entonces una selección preliminar en base a los títulos de estas publicaciones, de aquellos reportes o revisiones útiles para desarrollar los objetivos propuestos. Esta selección preliminar quedó compuesta por 70 publicaciones, las cuales incluían en sus títulos uno o más de los siguientes términos: mecanismo de acción, tratamiento, implantes, periodontitis, tratamiento periodontal, o el nombre de alguna especialidad odontológica. Luego revisamos los resúmenes de estas y seleccionamos 40 trabajos, privilegiando aquéllos de mayor actualidad respecto al tópico que desarrollaban, y aquellos reportes que aglutinaban el mayor número de casos, los cuales fueron leídos íntegramente. Adicionalmente incluimos 5 referencias, que obtuvimos desde las citas bibliográficas de los artículos revisados.

Bifosfonatos

El ácido pirofosfórico endógeno, que *in vivo* se encuentra como pirofosfato, es un inhibidor natural de la reabsorción ósea. Este compuesto experimenta con facilidad una hidrólisis enzimática, lo que limita su uso terapéutico (fig. 1a). Los BPs análogos sintéticos del pirofosfato, sustituyen el átomo central de oxígeno de este último, por uno de carbono, lo que les confiere mayor resistencia a la degradación enzimática, y la capacidad de influenciar el metabolismo óseo (figura 1b)⁽¹⁰⁾.



FIGURAS 1A Y 1B. a) Estructura química del ácido pirofosfórico; b) estructura química general de los BPs (adaptada de Fernandes et al, 2005⁽¹⁰⁾).

La estructura P-C-P le brinda a los BPs la capacidad de quelar iones calcio y por tanto, de unirse ávidamente al tejido óseo *in vivo*⁽¹¹⁾. La síntesis de BPs con distintas características farmacológicas se logra variando la composición de las cadenas laterales enlazadas al carbono central de la estructura P-C-P. Esta descrito que el grupo en posición R1, determina la afinidad del fármaco por los cristales óseos, mientras que el grupo en la posición R2, es responsable de la potencia y actividad farmacológica del mismo^(10,12). Aquellos BPs que en R2 tienen grupos que contienen nitrógeno, son potentes inhibidores de la reabsorción⁽¹¹⁾. Esta característica es utilizada para agrupar los BPs en dos categorías: los nitrogenados como por ejemplo el etidronato, y los no nitrogenados como el risedronato y el ácido zoledrónico⁽¹³⁾ (Tabla 1). Los reportes de BON están asociados mayoritariamente a terapias que emplean BPs nitrogenados⁽¹⁴⁾.

Se ha observado que los BPs bloquean la disolución de hidroxiapatita e inhiben la función osteoclástica⁽¹⁵⁾. Además, tendrían un efecto antiangiogénico⁽¹⁶⁾. En este sentido un reciente estudio en sangre periférica reveló que los pacientes con BON presentan una disminución en la cantidad de células progenitoras endoteliales, respecto a individuos normales⁽¹⁷⁾. Otros posibles efectos de los BPs están en discusión. Uno de ellos es el inhibir la proliferación, reducir la viabilidad e inducir la apoptosis de células tumorales humanas⁽¹⁰⁾.

Los BPs poseen baja absorción intestinal y baja biodisponibilidad que fluctúa entre el 0.3% y el 7%⁽¹⁰⁾. Se distribuyen ampliamente por todos los tejidos del organismo. Son excreta-

dos exclusivamente a través del riñón, sin alteraciones metabólicas, descartándose con ello toxicidad asociada a metabolitos o intermediarios. La vida media promedio de los BPs fluctúa desde 3 meses hasta 1 año. Sin embargo, otros reportes sugieren que los BPs pueden permanecer en el tejido óseo por más de 10 años⁽¹⁸⁾.

TABLA 1. Bifosfonatos aprobados a la fecha por la FDA. (Adaptada de Wang HL, Weber & McCauley 2007⁽¹⁹⁾, Gutta & Louis 2007⁽¹²⁾).

Nombre genérico	Nombre comercial	Vía administración	Nitrogenado	Potencia Relativa
Etidronato	Didronel®	Oral/IV	-	x 1
Tiludronato	Skelid®	Oral	-	x 10
Pamidronato disódico	Aredia®	IV	+	x 100
Alendronato sódico	Fosamax®	Oral	+	x 1.000
Ibadronato	Boniva®	Oral/IV	+	x 5.000
Risedronato	Actonel®	Oral	+	x 5.000
Ácido zoledrónico	Zometa®	IV	+	x 10.000

IV = intravenoso

Mecanismo de acción de los bifosfonatos

El mecanismo mediante el cual los BPs inhiben la reabsorción ósea no está totalmente esclarecido. Se sabe que los BPs son incorporados por los tejidos mineralizados y son liberados durante la reabsorción producida por el recambio fisiológico del tejido óseo. En ese momento son internalizados por los osteoclastos⁽¹⁹⁾. Cuando los BPs internalizados son no nitrogenados, el osteoclasto los transforma en un análogo del ATP. Esta molécula inhibe las enzimas intracelulares ATP dependientes, lo que induce la apoptosis del osteoclasto^(11,20). Los BPs nitrogenados en tanto, además de inhibir las enzimas ATP dependientes, bloquean la ruta del mevalonato, responsable de la síntesis de colesterol. La inhibición de la ruta del mevalonato altera el citoesqueleto del osteoclasto, impidiéndole el transporte de vesículas intracelulares. Esto a su vez, imposibilita la formación del borde rizado, estructura esencial para la reabsorción ósea⁽¹⁹⁻²⁰⁾.

Algunos artículos sugieren un mecanismo adicional a los señalados, según el cual los BPs estimularían a los osteoblastos a secretar un factor inhibidor de la formación de osteoclastos. Este factor inhibidor no se ha caracterizado, pero se sabe que posee una masa molecular de 3 a 4 KDa y es lábil ante la acción de proteinasas o calor⁽¹⁸⁾.

Efectos adversos de los bifosfonatos en el territorio maxilo facial

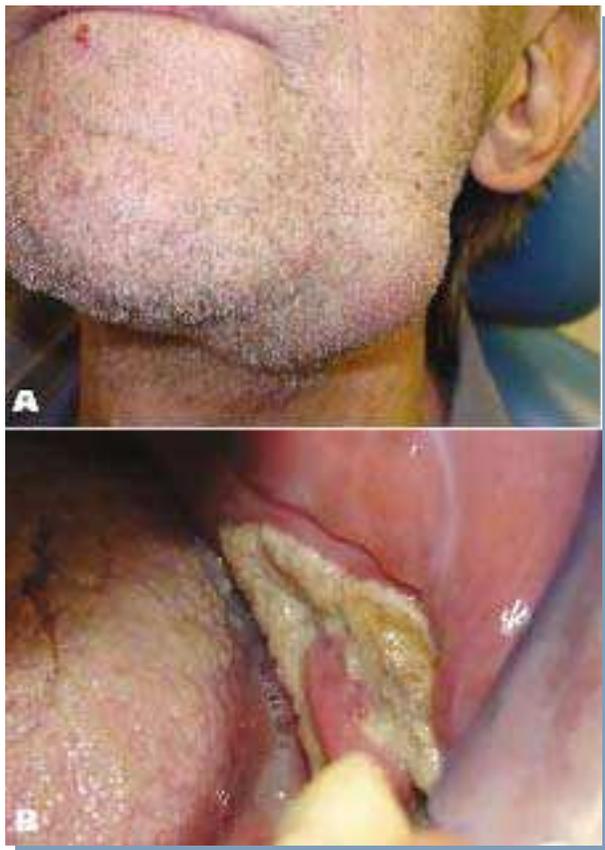
Los BPs son fármacos considerados seguros. Tienen enorme impacto en individuos que padecen metástasis óseas o sufren síntomas severos de osteoporosis, beneficiando y mejorando su calidad de vida^(7,14). Sin embargo, a partir del año 2003 un número creciente de publicaciones los ha relacionado con la aparición de osteonecrosis en los maxilares⁽²¹⁾.

El inicio de la lesión de osteonecrosis se produciría por una pérdida de continuidad en la mucosa oral. Dicha solución de continuidad no cicatrizaría adecuadamente, lo que llevaría a la exposición intraoral de tejido óseo, y a la posterior necrosis del mismo⁽³⁾ (Figura 2A y 2B). En este estadio la lesión es indolora, y no se constatan secuestros óseos. No obstante, la exposición al medio bucal y su variada flora, hacen que la lesión sea susceptible de infectarse. Esto ocurre en la mayoría de los casos, y

trae consigo, dolor, secuestros óseos y un avance progresivo de la pérdida ósea (Figuras 2C y 2D). En casos que comprometen extensas áreas de tejido, es posible observar inclusive fistulas cutáneas y/o exposición ósea extraoral. Además existen reportes de alteraciones sensoriales asociadas, como parestesia mandibular^(14,22).

La mayoría de los casos de BON se presentan tras la realización de extracciones dentales^(7,14). Mavrokokki reportó que el 73% de los casos de BON en Australia fueron posteriores a una exodoncia⁽²³⁾. Otros factores desencadenantes de BON pueden ser la instalación de implantes, una cirugía periapical, una cirugía periodontal o una prótesis desajustada que traumatice los tejidos^(14,22). No obstante, la aparición de estas lesiones también puede ser espontánea⁽¹⁴⁾. La ubicación más frecuente es en la mandíbula, luego el maxilar y en menor medida en ambos huesos simultáneamente⁽³⁾. Marx en una muestra de 119 casos de BON reportó que el 68,1% presentaba lesiones en la mandíbula, el 27,7% en el maxilar y el 4,2% en ambos maxilares en forma simultánea. El mismo estudio señala que en el 73,1% de los casos se registraron hallazgos radiográficos compatibles con una combinación de osteolisis y esclerosis ósea⁽¹⁴⁾.

El estudio histopatológico del tejido afectado, ha revelado la presencia de fragmentos de hueso no vital, colonias bacterianas y ausencia de células inflamatorias. Al examen microbiológico se han identificado algunas cepas bacterianas de la flora oral normal, y ocasionalmente bacterias asociadas a osteomielitis^(9,24).



FIGURAS 2A, B, C y D. Sujeto con mieloma múltiple quien uso pamidronato y ácido zoledrónico por cuatro años. **Imagen A:** vista extraoral del sujeto, quien relata dolor y sangramiento. **Imagen B:** Vista intraoral, evidenciándose zona de exposición ósea, con tejido necrótico asociado. **Imagen C:** radiografía panorámica, que muestra extensa zona radiolúcida en relación a la zona comprometida. **Imagen D:** radiografía panorámica donde se evidencia la progresión de la lesión osteonecrótica al cabo de seis meses, con fractura mandibular (tomada de Migliorati C& cols 2005⁽²²⁾).

Fisiopatología de BON

Llama la atención que estas lesiones aparezcan exclusivamente en los maxilares y no en otros huesos de la economía. Se cree que varios factores confluirían para ello. El primero sería que la cavidad bucal es la única región que expone tejido óseo al medio externo, vía surco gingival. Además los huesos maxilares están sometidos a un gran estrés funcional constantemente, lo que fisiológicamente los obliga a una acelerada tasa de recambio óseo, superior a la del cualquier otro hueso. Más aún, procesos patológicos odontogénicos o un acto quirúrgico, exigen para una adecuada reparación que la velocidad del recambio y remodelación ósea aumenten⁽²¹⁾. Sin embargo, individuos sometidos por tiempo prolongado a altas dosis de BPs, sufren una potente inhibición de la acción osteoclástica, lo que genera una disminución excesiva en la velocidad del recambio y remodelación ósea. Junto a ello, las propiedades antiangiogénicas de los BPs limitan más aún estos procesos. En consecuencia, estaremos frente a un hueso con baja tasa de recambio, con pérdida de vascularización y que posee una capacidad de regeneración y cicatrización limitada. Se propone que este conjunto de elementos, explicarían la aparición de las lesiones osteonecróticas⁽¹⁴⁾.

Incidencia y condiciones de riesgo

Registros preliminares indican que la incidencia de BON varía, según sea la vía de administración de los BPs. En el caso de BPs orales, se señala que la incidencia de BON en todo el mundo el año 2006 fue de 0,7 casos por 100.000 personas expuestas⁽²⁵⁾. Mientras que los tratados con BPs por vía endovenosa presentarían una incidencia de entre un 0,8% y un 12% al cabo de 36 meses de tratamiento^(3,26-27). Además, se estima que un paciente en tratamiento con BPs intravenosos puede desarrollar BON a partir del cuarto mes de administración del fármaco⁽²⁷⁾.

Por otra parte, se han descrito algunas condiciones que harían más probable el desarrollo de BON. Se ha visto que individuos a quienes se les suministra el fármaco por vía intravenosa estarían mucho más propensos a desarrollar la complicación que aquellos que los ingieren por vía oral. También crece la posibilidad de desarrollar BON al aumentar la edad del paciente, el tiempo de exposición al fármaco y la potencia de los BPs utilizados. Además el género femenino sería más susceptible a la ocurrencia de BON^(3,14,28-29). Otras condiciones que aumentarían la probabilidad de BON serían: la quimioterapia, tratamiento con corticoesteroides, diabetes, anemia, coagulopatías, alcoholismo, tabaquismo, presencia de torus lingual o palatino, higiene oral deficiente, infecciones del territorio bucal y cirugías orales^(3, 12).

Tratamiento de la lesión

El manejo de BON es de alta complejidad, no existiendo pautas claras de tratamiento. La información disponible principalmente corresponde a reportes de casos clínicos y la opinión de profesionales que poseen una alta casuística de tratamiento. La terapia es meramente paliativa. El hueso necrosado en tanto no forme secuestros, sigue siendo estructuralmente competente y el tratamiento en estos casos debe apuntar al mantenimiento, evitando la sobreinfección⁽¹⁴⁾.

La terapia antibiótica junto al debridamiento quirúrgico es la mejor opción cuando las lesiones se encuentran infectadas, forman secuestros y causan dolor. Sin embargo, cuando el debridamiento es realizado solo con el fin de facilitar la cicatrización, puede complicar el cuadro^(14, 30).

El cierre mediante colgajos, posterior al debridamiento, debe ser realizado sobre tejido óseo sano. Si no es posible asegurar dicha condición pueden surgir recidivas. El cierre completo de las áreas de tejido óseo expuesto no siempre se puede obtener⁽³¹⁾.

Se debe tener presente que lesiones asociadas a ingesta de BPs orales, son menos frecuentes, menos severas y responden favorablemente a la suspensión del fármaco y al tratamiento quirúrgico respecto de lesiones asociadas a BPs endovenosos⁽³²⁾.

La Asociación Americana de Cirugía Oral y Máxilo Facial basadas en la evidencia disponible, recomienda terapias según las características médicas y clínicas de los individuos afectados (tabla 2):

a) Pacientes con hueso necrótico expuesto, asintomático, sin evidencia de infección: manejo conservador con antisépticos orales como gluconato de clorhexidina al 0,12%.

b) Pacientes con hueso necrótico expuesto sintomático y evidencia de infección: antibioterapia complementada con el uso de antisépticos orales.

c) Pacientes que presentan hueso necrótico expuesto con dolor, infección y al menos una de las siguientes caracterís-

ticas: fractura patológica, fistula extraoral u osteolisis que comprometa el borde basilar: resección quirúrgica del tejido comprometido combinado con antibioterapia⁽¹²⁾.

TABLA 2. Manejo de individuos con BON (criterios Asociación Americana de Cirugía Oral y Máxilo facial⁽¹²⁾).

Condición	Tratamiento
Hueso necrótico expuesto, asintomático sin evidencia de infección.	Antiséptico oral
Hueso necrótico expuesto, sintomático con signos de infección.	Antiséptico oral + antibioterapia
Hueso necrótico expuesto, sintomático con signos de infección asociado a fractura patológica, fistula extraoral u osteolisis.	Resección quirúrgica + antibioterapia

Prevención de BON

Dada la dificultad y poca predictibilidad del tratamiento de la BON, el interés se ha centrado en prevenir la aparición del cuadro. Se dice que es trascendental ejecutar un acucioso examen dental tanto clínico como radiográfico previo al inicio de un tratamiento con BPs. Se debe proceder al tratamiento y control de cualquier patología dentomaxilar antes de comenzar la terapia, de forma similar a un individuo que será sometido a radioterapia. Ello incluye extracción de restos radiculares, tratamiento periodontal, obturación de caries, etc. La higiene oral debe ser óptima, y complementada con antisépticos orales. Junto a esto, deben programarse controles cada 4 meses^(14,22).

Manejo del paciente en tratamiento con bifosfonatos

La mayoría de los autores sugieren evitar cualquier cirugía durante la terapia, y optar por tratamientos alternativos conservadores. Si estos no son posibles, se debe derivar al paciente a un centro especializado en cirugía máxilo facial⁽¹⁴⁾.

La Asociación Americana de Cirugía Oral y Máxilo Facial ha entregado recomendaciones de manejo, basadas en la opinión de expertos y determinadas por la vía de administración de los BPs:

a) Pacientes en tratamiento con BPs vía intravenosa, sin signos ni síntomas de BON:

- Evitar procedimientos que sometan los tejidos óseos a trauma.

- En piezas dentarias sin posibilidad de rehabilitación se indica la endodoncia, evitando la exodoncia.

- Evitar la instalación de implantes dentales.

b) Pacientes en tratamiento con BPs vía oral sin signos ni síntomas de BON:

- Si el sujeto ha estado en tratamiento con BPs por menos de 3 años y no tiene otras condiciones de riesgo, no modificar la planificación de la cirugía.

- Informar al paciente sobre los riesgos eventuales en la cicatrización ósea.

- En caso que la terapia con BPs este asociada a la ingesta de drogas esteroidales, se deben suspender los BPs al menos por 3 meses. El tratamiento con el fármaco se reanuda

cuando la cicatrización ósea sea satisfactoria.

La suspensión de los BPs debe ser autorizada solo por el médico tratante, evitando descompensar sistémicamente al sujeto⁽¹²⁾.

Otras consideraciones odontológicas

Sin duda, la especialidad odontológica que más puede verse relacionada con el desarrollo y el manejo de BON, es cirugía máxilo facial. No obstante, la literatura muestra que los alcances del uso de BPs y BON abarcan a todo el espectro del quehacer odontológico.

El tratamiento periodontal puede gatillar BON. Si bien son escasos, existen algunos reportes de BON tras la realización de cirugía periodontal e incluso posterior al pulido y alisado radicular no quirúrgico⁽³³⁻³⁴⁾. Esto se explicaría porque aun el pulido y alisado radicular no quirúrgico genera un trauma en los tejidos de soporte periodontal, y por tanto, los hace susceptibles a la contaminación bacteriana del hueso alveolar. Esto sumado a factores como una mala higiene oral o el hábito de fumar pueden favorecer la necrosis del tejido⁽³⁴⁾.

Pueden ser también un detonante de BON, la instalación de implantes óseo integrados. Así lo señalan varios reportes, en especial cuando el receptor ha estado sometido a terapia con BPs de gran potencia y/o por largos períodos de tiempo^(14,19). Si la ingesta es por vía oral, en bajas dosis y por períodos cortos de tiempo, la instalación de implantes presenta bajo riesgo de desencadenar BON⁽³⁴⁾. Al respecto, en un estudio retrospectivo de 169 implantes, de 61 pacientes en tratamiento con BPs orales, seguidos por al menos 12 meses, no registró casos de BON⁽²⁵⁾.

Como mencionamos los BPs alteran el equilibrio entre los procesos de reabsorción y aposición, limitando la remodelación ósea. Esto ha impedido conseguir movimientos dentarios en individuos que consumen BPs y requieren tratamiento de ortodoncia⁽³⁶⁾.

Por otro lado, el dolor asociado a BON previo a que la lesión se haga evidente, puede remedar al dolor de origen odontogénico. Esto hace necesario establecer un diagnóstico diferencial, por ejemplo al decidir un tratamiento de endodoncia. En este sentido además, se recomienda que el tratamiento endodóntico de un individuo con riesgo de BON, minimice cualquier posibilidad de trauma en los tejidos marginales a causa del instrumental de aislamiento, o en el tejido periodontal apical, debido a la instrumentación u obturación de conductos⁽³⁷⁻³⁸⁾.

Se sugiere además, evitar la realización de prótesis fija debido a la complejidad de sus eventuales complicaciones⁽²²⁾.

DISCUSIÓN

Algunos BPs como pamidronato, ácido zolendróico y menos frecuentemente alendronato han mostrado una asociación directa con la aparición de osteonecrosis⁽¹⁴⁾. Además, antes de la aparición de los BPs los casos de osteonecrosis eran casi nulos⁽³⁹⁾. Sin embargo, no se han realizado estudios longitudinales controlados randomizados doble ciego, que prueben una relación causa-efecto de los BPs y las lesiones osteonecroticas de los maxilares⁽¹⁴⁾.

La patogénesis de la BON tampoco esta esclarecida. No obstante, recientemente se ha sugerido una asociación entre la aparición de BON concomitantemente con el desarrollo de diabetes. Ambos cuadros están asociados a una isquemia microvascular del tejido óseo, disfunción de las células endoteliales y disminución del recambio y remodelación ósea⁽⁴⁰⁾.

Marx recientemente ha propuesto un examen que cuantifica marcadores de recambio óseo a nivel sanguíneo, como un método de evaluar el riesgo de los individuos en terapia con BPs a desarrollar BON. Establece de acuerdo al resultado de este examen pautas de manejo clínico⁽²⁵⁾. No obstante, esta herramienta no tiene aún validez externa, ni es de fácil acceso.

Pese a lo expuesto, los BPs podrían transformarse en potenciales aliados del odontólogo. Sabido es que la periodontitis genera una destrucción del hueso alveolar. Esto ha hecho evaluar el efecto de agentes que inhiben la reabsorción ósea, como los BPs. Un ensayo clínico, sugiere que el uso de bajas dosis de BPs orales, mejora los resultados clínicos de la terapia periodontal no quirúrgica⁽⁴¹⁾. Mientras que, modelos experimentales en ratas han mostrado que el uso de BPs tópicamente, inhibe la pérdida ósea y causa cambios morfológicos en los osteoclastos⁽⁴²⁾.

Se ha visto además en modelos animales, que el uso de BPs en condiciones determinadas aceleran la oseointegración, mejoran la osteoconducción, y estimulan la neoformación ósea alrededor de implantes⁽⁴³⁻⁴⁵⁾. Esto último, concuerda con resultados registrados en un ensayo clínico donde 108 implantes dentales fueron instalados en individuos en terapia con BPs orales a bajas dosis⁽³⁵⁾.

CONCLUSIONES

Los BPs han beneficiado a muchos pacientes. No obstante, la alteración en los procesos de recambio y remodelación ósea pueden afectar la normal cicatrización de los tejidos orales. Se hace necesario que los profesionales de la salud conozcan la BON, para prevenir su aparición, o bien, para diagnosticarla y tratarla tempranamente. Se recomienda realizar un examen dental antes del inicio de la terapia con BPs, siguiendo un protocolo similar al aplicado a un individuo que será sometido a radioterapia⁽³³⁾. Además se sugiere evitar los procedimientos quirúrgicos que involucren al tejido óseo, en pacientes altamente susceptibles de desarrollar BON⁽³⁴⁾.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Wade J. Rheumatology: 15 Osteoporosis. CMAJ 2001; 165(1): 45-50.
2. Gridelli C. The use of bisphosphonates in elderly cancer patients. Oncologist 2007; 12: 62-71.
3. Lam D, Sándor G, Holmes H, Evans W, Clokie C. A review of Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws and its management. JCDA 2007; 73(5): 417-422.
4. Stoopler E, Volg D, Stadtmayer. Medical management update: Multiple myeloma. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2007; 103: 599-609.
5. Marx R. Pamidronate (Aredia) and Zolendronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic. J Oral Maxillofac Surg 2003; 61: 1115-1116.
6. Migliorati C. Bisphosphonates and oral cavity avascular bone necrosis. J Clin Oncol 2003; 21: 4253-4254.
7. Ruggiero S, Mebrota B, Rosenberg T, Engroff S. Osteonecrosis of the jaws associated with the use of Bisphosphonates: A review of 63 cases. J Oral Maxillofac Surg 2004; 62: 527-534.
8. Bagan J, Murillo J, Jiménez Y, y cols. Avascular jaw Osteonecrosis in association with cancer chemotherapy: series of 10 cases. J Oral Pathol Med 2005; 34: 120-123.
9. Dimitrakopoulos I, Magoupolos C, Karakasis D. Bisphosphonate-induced avascular osteonecrosis of the jaws: a clinical report of the 11 cases. Int J Oral Maxillofac Surg 2006; 35: 588-593.
10. Fernandes C, Souza R, Lancas F. Bisfosfonatos: Síntese, Análises químicas e apli-

coes farmacológicas. *Quim Nova* 2005; 28 (2): 274-280.

11. Luckman S, Coxon F, Ebelino F, Russel R, Rogers M. Heterocycle-containing bisphosphonates cause apoptosis and inhibit bone reorption by preventing protein prenylation: evidence from structure-activity relationships in J774 macrophages. *J Bone Miner Res* 1998; 13: 1668-1678.
12. Gutta Rajesh & Louis Patrick. Bisphosphonates and osteonecrosis of the jaws: Science and rationale. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007; 104: 186-193.
13. Otomo-Corgel Joan. Implants and oral bisphosphonates: risky business? *J Periodontol* 2007; 78(3): 373-376.
14. Marx R, Sawatari Y, Fertin M, Broumand V. Bisphosphonate-induced exposed bone (osteonecrosis/osteopetrosis) of the jaws: risk factors, recognition, prevention and treatment. *J Oral Maxillofac Surg* 2005; 63: 1567-1575.
15. Ficarra G, Beninati F, Rubino I, Vannuchi A, Longo G, Tonelli P, Pini Prato G. Osteonecrosis of the jaws in periodontal patients with a history of bisphosphonates treatment. *J Clin Periodontol* 2005; 32:1123-1128.
16. Wood J, Bonjean K, Ruetz S, y col. Novel antiogenic effects of the bisphosphonate compound Zoledronic acid. *JPET* 2002; 302: 1055-1061.
17. Allegra A, Oteri G, Nastro E, y cols. Patients with bisphosphonates-associated osteonecrosis of the jaw have reduced circulating endothelial cells. *Hematol Oncol* 2007 (en prensa).
18. Fleisch Herbert. Bisphosphonates: Mechanisms of action. *Endocrine Reviews* 1998; 19(1): 80-100.
19. Wang HL, Weber D, McCauley L. Effect of long-term oral bisphosphonates on implant wound healing: literature review and a case report. *J Periodontol* 2007; 78: 584-594.
20. Luckman S, Hughes D, Coxon F, Russell R, Rogers M. Nitrogen-containing bisphosphonates inhibit the Mevalonate pathway and prevent post-translational prenylation of GTP-binding proteins, including Ras. *J Bone Miner Res* 1998; 13:581-589.
21. Anguita T, Agurto J, Roa I, Laissle G. Osteonecrosis associated with the use of bisphosphonates: Case report. *Rev Med Chile* 2006; 134: 1161-1165.
22. Migliorati C, Casiglia J, Epstein J, Jacobsen P, Siegel M, Woo S. Managing the care of patients with bisphosphonate-associated osteonecrosis: an American Academy of Oral Medicine position paper. *J Am Dent Assoc* 2005; 136(12):1658-1668.
23. Mavrokokki T, Cheng A, Stein B, Goss A. Nature and frequency of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws in Australia. *J Oral Maxillofac Surg* 2007; 65(3): 415-423.
24. Leite A, Figueiredo P, Melo N, y cols. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws. Report of a case and literature review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006 Jul;102(1):14-21.
25. Fugazzotto P, Lightfoot W, Jaffin R, Kumar A. Implant placement with or without simultaneous tooth extraction in patients taking oral bisphosphonates: postoperative healing, early follow-up, and the incidence of complications in two private practices. *J Periodontol* 2007; 78: 1664-1669.
26. Marx R. Oral and intravenous bisphosphonates induced osteonecrosis of the jaws. History, etiology, prevention and treatment. Quintessence Publishing Co Inc 2007; 9-96.
27. Durie B, Katz M, Crowley J. Osteonecrosis of the jaw and bisphosphonates. *N Engl J Med* 2005; 353: 99-102.
28. Bamias A, Kastritis E, Bamia C, y cols. Osteonecrosis of the jaw in cancer after treatment with bisphosphonates: incidence and risk factors. *J Clin Oncol* 2005; 23(34):8580-8587.
29. Landis BN, Dojcinovic I, Richter M, Hugentobler M. Osteonecrosis of the jaws: maxillofacial recommendations for bisphosphonate prescribers *J Intern Med* 2007; 261(1):101-102.
30. Markiewicz MR, Margarone JE 3rd, Campbell JH, Aguirre A. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws: a review of current knowledge. *J Am Dent Assoc.* 2005; 136(12):1669-1674.
31. Pastor-Zuazaga D, Garatea-Crelgo J, Martino-Gorbea R, Etayo-Pérez A, Sebastián-López C. Osteonecrosis of the jaws and bisphosphonates. Report of three cases. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2006 Jan 1; 11(1): 76-79.
32. Marx R. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2007; 22(1): 149-151.
33. Soileau K. Oral post-surgical complications following the administration of bisphosphonates given for osteopenia related to malignancy. *J Periodontol* 2006; 77: 738-743.
34. Braun E & Iacono V. Bisphosphonates: case report of nonsurgical periodontal therapy and osteochemonecrosis. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2006; 26:315-319.
35. Jeffcoat M. Safety of oral bisphosphonates: controlled studies on alveolar bone. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2006; 21:349-353.
36. Rinchuse D.J, Rinchuse D, Sosovicka M, Robinson J, Pendleton R. Orthodontic treatment of patients using bisphosphonates: A report of 2 cases. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2007;131(3): 321-326.
37. Sarathy A, Bourgeois SL Jr, Goodell G. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws and endodontic treatment: two case reports. *J Endod* 2005; 31(10):759-763.
38. Katz H. Endodontic implications of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws: a report of three cases. *J Endod* 2005; 31(11):831-834.
39. Woo SB, Hande K, Richardson PG. (letter). *N Eng J Med* 2005; 353: 100.
40. Khamaisi M, Regev E, Yarom N, Avni B, Leitersdorf E, y col. Possible association between diabetes and bisphosphonate-related jaw osteonecrosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92:1172-1175.
41. Lane N, Armitage GC, Loomer P, y col. Bisphosphonate therapy improves the outcome of conventional periodontal treatment: results of a 12-month, randomized, placebo-controlled study. *J Periodontol* 2005 Jul; 76(7):1113-1122.
42. Goya J, Paez H, Mandalunis P. Effect of topical administration of monosodium olpadronate on experimental periodontitis in rats. *J Periodontol* 2006; 77(1):1-6.
43. Eberhardt C, habermann, Muller S, Schwarz M, Bauss F, Kurth A. The bisphosphonate ibandronate accelerates osseointegration of hydroxyapatite-coated cementless implants in an animal model. *J Orthop Sci* 2007; 12:61-66.
44. Kajiwara H, Yamaza T, Yoshinari M, y col. The bisphosphonate pamidronate on the surface of titanium stimulates bone formation around tibial implants in rats. *Biomaterials* 2005; 26: 581-587.
45. Houshmand B, Rahimi H, Ghanavati F, Alisard A, Eslami B. Boosting effect of bisphosphonates on osteoconductive materials: a histologic in vivo evaluation. *J Periodont Res* 2007; 42:119-123.

CORRESPONDENCIA AUTOR

Carlos Cisterna Vergara

Facultad de Odontología, Universidad de Chile

Olivos 943. Independencia. Santiago.

ccisterna@odontologia.uchile.cl

Trabajo recibido el 04/10/2007.

Aprobado para su publicación el 15/01/2008.

NORMAS DE PUBLICACION

La Revista Clínica de Periodoncia, Implantología y Rehabilitación Oral (PIRO) publicará artículos de tipo científico o práctico sobre periodoncia, Osteointegración, rehabilitación y especialidades directamente relacionadas con ellas. El comité editorial seguirá de forma estricta las directrices expuestas a continuación; los artículos que no las sigan serán devueltos para corrección, antes de valorar su publicación.

Los artículos remitidos a esta revista deberán ser originales, no publicados ni enviados a otra publicación, siendo el autor el único responsable de las afirmaciones sostenidas en él.

TIPOS DE ARTÍCULOS

1. Artículos originales que aporten nuevos datos clínicos o de investigación básica relacionada con la especialidad. Trabajos adecuadamente resumidos pueden ser publicados con rapidez como comunicaciones cortas.

2. Artículos de revisión que supongan la actualización de un tema concreto, desde un punto de vista crítico científico y objetivo. Habitualmente las revisiones serán encargadas por el director de sección a personas especializadas en el campo de interés. Éstas no deberán exceder de 5.000 palabras, 100 citas bibliográficas ó 6 tablas o figuras. Se recomienda a los autores interesados en colaborar en este apartado, que contacten con el director de la sección para consultar la adecuación y originalidad del tema propuesto.

3. Resúmenes de literatura actual. Serán concertados por el director de sección con personas interesadas en colaborar de una forma continuada.

4. Casos clínicos. Podrán ser publicados casos clínicos pocos frecuentes o casos que aporten nuevos conceptos terapéuticos. Deben contener documentación clínica e iconográfica completa pre, postoperatoria y del seguimiento, así como explicar de forma clara el tratamiento realizado. El texto debe ser conciso, menos de 6 hojas, y las citas bibliográficas limitarse a las estrictamente necesarias. Resultarán especialmente interesantes secuencias fotográficas de tratamientos multidisciplinarios de casos complejos o técnicas quirúrgicas. El director de la sección orientará al autor sobre la selección y calidad del material fotográfico.

5. Cartas al director, que ofrezcan comentarios o críticas constructivas sobre artículos previamente publicados u otros temas de interés para el lector. Deben ser escuetas, centradas en un tema específico y estar firmadas. Las citas bibliográficas, si existen, aparecerán en el texto entre paréntesis. En caso de que se viertan comentarios sobre un artículo publicado en esta revista, el autor del mismo dispondrá de la oportunidad de respuesta.

6. Artículos seleccionados traducidos de la literatura

internacional, cuando el interés de los mismos para la comunidad hispano-parlante justifique su publicación duplicada.

AUTORES

Únicamente serán autores aquellos individuos que hayan contribuido significativamente en el desarrollo del artículo y que, en calidad de tales, puedan tomar pública responsabilidad de su contenido. Su número, no será, de acuerdo a los criterios de la AMA, superior a 6, salvo en casos excepcionales (Barclay WR, Southgate MT, Mayo RW. Manual for authors and Editors: Editorial Style and Manuscript Preparation. Lange Medical Publication. Los Altos, California 1981). Se entiende por contribución significativa cumplir las tres condiciones que se especifican a continuación: 1) participar en el desarrollo del concepto y diseño del trabajo, o el análisis y la interpretación de los datos; 2) contribuir a la redacción o revisión fundamental del artículo; 3) colaborar en la supervisión final de la versión que será publicada. La simple participación en la adquisición de fondos o en la recopilación de datos no justifica la autoría del trabajo, tampoco es suficiente la supervisión general del grupo de investigación. Los directores pueden requerir a los autores que justifiquen su calidad de tales. A las personas que hayan contribuido en menor medida les será agradecida su colaboración en el apartado de agradecimientos y sus nombres serán enviados en página independiente. Todos los autores deberán firmar la carta de remisión que acompañe el artículo, así como hacer constar en la misma la aceptación de las normas de publicación de La Revista Clínica de Periodoncia, Implantología y Rehabilitación Oral.

PRESENTACIÓN Y ESTRUCTURA DE LOS TRABAJOS

Los manuscritos deben ser enviados a través de la plataforma online, existente en la página web de la Sociedad de Periodoncia, www.spch.cl.

La revista sigue el sistema de publicaciones de Vancouver. El estilo y estructura recomendada viene detallado en: Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas. Requisitos de uniformidad para manuscritos presentados a revistas médicas. Med Clin (Bar) 1991; 97:181-186.

Los artículos originales deberán seguir la siguiente estructura:

La primera página deberá contener: 1) el título del artículo y un subtítulo no superior a 40 letras y espacios, en castellano; 2) el nombre y dos apellidos del autor o autores, con el (los) grado(s) académico(s) más alto(s) y la afiliación a una institución; 3) el nombre del departamento(s)

e institución(es) responsables; 4) la negación de responsabilidad, si procede; 5) el nombre del autor responsable de la correspondencia sobre el manuscrito; y 6) la(s) fuente(s) de apoyo en forma de subvenciones, equipo o fármacos.

Resumen: una página independiente debe contener los apellidos de los autores seguidos de sus iniciales, el título del artículo y el nombre de La Revista Clínica de Periodoncia, Implantología y Rehabilitación Oral, un resumen estructurado del contenido del mismo, no superior a 250 palabras y el listado de palabras clave en castellano. En la siguiente página deben incluirse el resumen y las palabras clave en inglés.

Introducción: debe incluir los fundamentos y el propósito del estudio, utilizando las citas bibliográficas estrictamente necesarias. No realizar una revisión bibliográfica exhaustiva, ni incluir datos o conclusiones del trabajo que se publica.

Material y métodos (Pacientes y métodos en estudios en seres humanos): será presentado con la precisión que sea conveniente para que el lector comprenda y confirme el desarrollo de la investigación. Métodos previamente publicados como índices o técnicas deben describirse sólo brevemente y aportar las correspondientes citas, excepto que se hayan realizado modificaciones en los mismos. Los métodos estadísticos empleados deben ser adecuadamente descritos, y los datos presentados de la forma menos elaborada posible, de manera que el lector con conocimientos pueda verificar los resultados y realizar un análisis crítico. En la medida de lo posible, las variables elegidas deberán ser cuantitativas, las pruebas de significación deberán presentar el grado de significación y si está indicado la intensidad de la relación observada y las estimaciones de porcentajes irán acompañadas de su correspondiente intervalo de confianza. Se especificarán los criterios de selección de individuos, aleatorización, sistemas doble ciego empleados, complicaciones de los tratamientos y tamaños muestrales. En los ensayos clínicos y estudios longitudinales, los individuos que abandonan los estudios deberán ser registrados y comunicados. Se especificarán los programas informáticos empleados y se definirán los términos estadísticos, abreviaturas y símbolos utilizados.

Ensayos clínicos con seres humanos y animales: en los artículos sobre ensayos clínicos con seres humanos y animales de experimentación, deberá confirmarse que el protocolo ha sido aprobado por el Comité de Ensayos Clínicos y Experimentación Animal del Centro, y que el estudio ha seguido los principios de la Declaración de Helsinki de 1975, revisada en 1983.

Resultados: aparecerán en una secuencia lógica en el texto, tablas o figuras, no debiendo repetirse en ellas los mismos datos. Se procurará resaltar las observaciones importantes.

Discusión: resumirá los hallazgos, relacionando las

propias observaciones con otros estudios de interés y señalando las aportaciones y limitaciones de unos y otros. De ella se extraerán las oportunas conclusiones, evitando escrupulosamente afirmaciones gratuitas y conclusiones no apoyadas completamente por los datos del trabajo.

Agradecimientos: únicamente se agradecerá, con un estilo sencillo, su colaboración a personas que hayan hecho contribuciones sustanciales al estudio, debiendo disponer el autor de su consentimiento por escrito.

Bibliografía: las citas bibliográficas, las mínimas necesarias, deben ser numeradas correlativamente en el orden en que aparecen en el texto, tablas y leyendas de las figuras, siendo identificadas en los mismos por números arábigos entre paréntesis. Aquellas referencias más importantes para el trabajo en curso deberán ir comentadas, siendo la extensión máxima de 5 líneas. Se recomienda seguir el estilo de los ejemplos siguientes, que está basado en el Index Medicus. Manuscritos aceptados pero no publicados pueden ser incluidos en la lista bibliográfica, colocando (en prensa) detrás del nombre abreviado de la revista. Artículos no aceptados aún pueden ser citados en el texto pero no en la bibliografía. Se emplearán los nombres abreviados de las revistas de acuerdo al List of the Journals Indexed, publicado anualmente en el ejemplar de enero del Index Medicus. Es recomendable evitar el uso de resúmenes como referencias, y está totalmente prohibido utilizar "observaciones no publicadas" y "comunicaciones personales". Se mencionarán todos los autores si son menos de seis, o los tres primeros y cols., cuando son siete o más. El listado bibliográfico debe ser corregido por el autor, comparándolo con la copia en su poder.

Ejemplos:

1. Artículo en una revista:

Zabalegui J, Gil JA, Zabalegui B. Magnetic resonante imaging as an adjunctive diagnostic aid in patient selection for endosseous implants: preliminary study, Int J Oral Maxillofac Implants 1990;3:283-287.

Cuando el autor es una sociedad o corporación:

FDI/OMS. Patrones cambiantes de salud Bucodental e implicaciones para los recursos humanos dentales: Parte primera. Informe de un grupo de trabajo formado por la Federación Dental Internacional y la Organización Mundial de la Salud. Arch Odontoestomatol 1986; 2:23-40.

2. Libros o monografías:

Autor personal: Doménech JM, Riba MD. Una síntesis de los métodos estadísticos bivariantes. Barcelona: Herder, 1987.

Capítulo de un libro: Barmes A. Prevalence of periodontal disease. En: Frandsen A, editor. Public Health Aspects of Periodontal Disease. Chicago: Quintessence Books, 1984: 21-32.

3. Publicación de una entidad o corporación:

Instituto Nacional de Estadística. Censo de la población de

1981. Resultados por Comunidades Autónomas. Madrid: INE, Artes Gráficas, 1986

4. Tesis Doctoral o Tesina de Licenciatura:

López Bermejo MA. Estudio y evaluación de la salud bucodentaria de la comunidad de la Universidad Complutense. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Medicina. Madrid, 1988.

Para referencias que no puedan ser encajadas dentro de los ejemplos propuestos es recomendable consultar: Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas. Requisitos de uniformidad para manuscritos presentados a revistas biomédicas. *Med Clin (Bar)* 1991; 97: 181-186. También publicado en *Periodoncia* 1994; 4: 215-224.

Tablas: deben presentarse en hojas independientes numeradas según su orden de aparición en el texto con números arábigos. Se emplearán para clarificar puntos importantes, no aceptándose la doble documentación bajo la forma de tablas y figuras. Su localización aproximada en el texto puede ser indicada por una nota marginal entre paréntesis. Los títulos o pies que las acompañen deberán explicar perfectamente el contenido de las mismas.

Figuras: serán consideradas figuras todo tipo de fotografías, gráficas o dibujos, deberán clarificar de forma importante el texto y su número estará reducido al mínimo necesario. Se les asignará un número arábigo, según el orden de aparición en el texto, siendo identificadas por el término abreviado fig.(s), seguido del correspondiente guarismo. Los pies o leyendas de cada una deben ir mecanografiados y numerados en una hoja aparte. Las fotografías se enviarán en papel de un tamaño de 127 por 173, en todo caso nunca mayores de 203 por 254, por triplicado, identificadas por una etiqueta en el dorso que indique el nombre del autor y el número y orientación de la figura. Únicamente en caso de que los autores pretendan publicar varias fotografías en un bloque deben enviarse montadas, separando cada foto con tira adhesiva y blanca de 3mm y rotulándolas con letras adhesivas mayúsculas, negras y de un tamaño de 18 puntos en el ángulo superior izquierdo. Si la foto es muy oscura la letra se colocará sobre un círculo blanco adhesivo de 1 cm de diámetro. Los dibujos deben tener calidad profesional y estar realizados con tinta china o impresora láser con buen contraste.

Abreviaturas y unidades de medida: sólo deberán ser empleadas abreviaturas estándar universalmente aceptadas; consultar Units, Symbols and Abbreviations. The Royal Society of Medicine, London. Cuando se pretenda acortar un término frecuentemente empleado en el texto, la abreviatura correspondiente, entre paréntesis, debe acompañarle la primera vez que aparezca el mismo. Los dientes se numerarán de acuerdo al sistema de la FDI: Two digit system. *Int Dent J* 1971; 21: 104-106 y los implantes siguiendo la misma metodología, es decir citando el número correspondiente al diente de la posición que

ocupan, y añadiendo una "i" minúscula (ej.: un implante en la posición del 13 será 13i). No serán usados números romanos en el texto. Los nombres comerciales no serán utilizados salvo necesidad, en cuyo caso la primera vez que se empleen irán acompañados del símbolo ®.

Se utilizará el sistema métrico decimal para todas aquellas mediciones de longitud, altura, peso y volumen. La temperatura se medirá en grados centígrados, y la presión sanguínea en milímetros de mercurio. Para los valores hematológicos y bioquímicos se utilizará el sistema métrico de acuerdo al International System of Units.

Comunicaciones cortas: serán aceptadas para publicación rápida. Su extensión estará limitada a una página impresa de la revista. No será necesaria la estructura descrita, deberán llevar un resumen y las citas bibliográficas estarán reducidas al mínimo.

PROCEDIMIENTOS DE REVISIÓN Y PUBLICACIÓN

En La Revista Chilena de Periodoncia y Oseointegración, los artículos serán remitidos de forma anónima a un mínimo de dos miembros del Comité Editorial. Los autores recibirán los comentarios, asimismo anónimos, de los referees cuando la comisión de valoración formada por el director, el coordinador del comité editorial y el consultor de estadística considere que esto pueda ser de ayuda, debiendo realizar en caso necesario las correcciones oportunas. La revisión se hará en un período no mayor de 60 días, desde el acuse de recibo del manuscrito por la editorial, siendo el tiempo medio de publicación de seis meses desde la fecha de aceptación.

Todos los artículos aceptados para publicación serán propiedad de la Sociedad de Periodoncia de Chile (SPCH).

El primer firmante del artículo recibirá las pruebas para su corrección, la cual debe hacer en un plazo no superior a 48 horas. Únicamente se pueden realizar mínimas correcciones sobre el contenido del manuscrito original sin incurrir en un coste extra.

AUTORIZACIONES EXPRESAS DE LOS AUTORES DE PERIODONCIA

Los autores que envíen sus artículos a Periodoncia para su publicación, autorizan expresamente a que la revista lleve a cabo las siguientes actuaciones:

1. Reproducir el artículo en la página web de la que la Sociedad de Periodoncia de Chile es titular, así como publicarla en soportes informáticos de cualquier clase.
2. Publicar el artículo en otros idiomas, tanto en La Revista Clínica de Periodoncia, Implantología y Rehabilitación Oral como en la página web de la Sociedad de Periodoncia de Chile, para la cual será necesaria la previa conformidad del autor con la traducción realizada.