

Niveles de piridinolina (ICTP) en el fluido gingival crevicular (FGC) en la periodontitis crónica

Pyridinoline (ICTP) Levels in Gingival Crevicular Fluid (GCF) in Chronic Periodontitis

Jorge González Quesada DDS, MSc¹; Sonia Rivera Álvarez DDS²

1. Especialista y Máster en Periodoncia. Profesor Sección de Periodoncia, Facultad de Odontología, Universidad de Costa Rica, Costa Rica.
2. Especialista en Periodoncia. Profesora Catedrática, Ex Directora del Departamento de Odontología Conservadora, Ex Directora de la Escuela de Graduados, Facultad de Odontología, Universidad de Chile, Chile.

Autor para correspondencia: Dr. Jorge González Quesada - jorge.gonzalezquesada@ucr.ac.cr

Recibido: 4-VIII-2016

Aceptado: 4-X-2016

Publicado Online First: 7-X-2016

DOI: <http://dx.doi.org/10.15517/ijds.v0i0.26497>

RESUMEN

La piridinolina (ICTP) es una molécula de degradación de colágeno que luego de la reabsorción de hueso y la degradación de la matriz colágena es liberada a la circulación y no puede pasar a vías anabólicas y ser reutilizada durante la síntesis de colágeno, por lo cual podría considerarse un biomarcador específico de reabsorción ósea. El objetivo de este trabajo fue determinar los niveles de ICTP en el FGC de pacientes con periodontitis crónica progresiva. Para esto, en 14 sitios inactivos y 14 sitios activos determinados según el método de tolerancia, se midió los niveles de ICTP utilizando el ICTP EIA. Uni Q, los resultados se analizaron usando el programa Stata 7.0 y el student-test para las muestras no paramétricas. Se determinó que los niveles de ICTP en los sitios activos eran elevados y la diferencia con los sitios inactivos eran estadísticamente significativa ($p=0,001$). De esta manera fue posible concluir que los elevados niveles de ICTP permiten sugerir su utilización como predictor de destrucción ósea alveolar.

PALABRAS CLAVE

Piridinolina; Periodontitis; Fluido gingival crevicular.

ABSTRACT

Pyridinoline (ICTP) is a molecule of collagen degradation that after bone resorption and degradation of the collagen matrix is released into the circulation and can not pass anabolic pathways and reused during collagen synthesis, whereby it could be considered a specific biomarker of bone resorption. The aim of this study is to determine the levels of ICTP in the GCF patients with progressive chronic periodontitis. In 14 inactive sites and 14 active sites determined by the method of tolerance, ICTP levels were measured using the ICTP EIA. Uni Q, the results were analyzed using Stata 7.0 program and the student-test for nonparametric samples. It was determined that the levels of ICTP in the active sites were high and the difference inactive sites were statistically significant ($p = 0.001$). Based in our results we concluded that the high levels of ICTP suggests its use as a predictor of alveolar bone destruction.

KEYWORDS

Pyridinoline; Periodontitis; Gingival crevicular fluid.

INTRODUCCIÓN

La periodontitis es una enfermedad infecciosa de etiología multibacteriana, caracterizada por la pérdida de los tejidos de soporte del diente: ligamento periodontal, cemento radicular y hueso alveolar (1). Clínicamente se caracteriza por la pérdida de inserción clínica y formación de bolsas periodontales (2). Los factores microbianos, factores asociados al huésped, como la herencia, y factores ambientales, como el tabaquismo, son igualmente importantes como determinantes del desarrollo y la severidad de la enfermedad. Investigaciones han demostrado la interacción de estos factores en las enfermedades multifactoriales tal como la enfermedad periodontal (3).

Los parámetros tradicionales para el diagnóstico clínico periodontal, nivel de inserción clínica (NIC), profundidad al sondaje (PS); tienen la ventaja de ser de fácil uso, ser efectivos y eficaces y poco invasivos. Sin embargo, son limitados debido a que sólo representan la historia de la enfermedad, al momento de efectuar la evaluación. La determinación del NIC mediante una sonda periodontal y la evaluación radiográfica de pérdida de hueso alveolar son antecedentes históricos de episodios de destrucción y requieren de un umbral

de pérdida de inserción de tejido periodontal de soporte antes que el sitio sea identificado como que experimenta progresión de la enfermedad periodontal (4).

Por lo cual la investigación en el diagnóstico de las enfermedades periodontales ha sido dirigida hacia métodos de identificación de riesgo que puedan ser cuantificados mediante medidas objetivas, estos son los biomarcadores de destrucción (5).

Un biomarcador o marcador biológico es una molécula medida objetivamente y evaluada como un indicador de procesos biológicos normales, procesos patológicos o respuestas farmacológicas a la intervención terapéutica (6). La saliva y el fluido gingival crevicular (FGC) son fáciles de recolectar y contienen marcadores sistémicos y locales derivados de enfermedad periodontal, y podrían ser la base para la evaluación de biomarcadores para la periodontitis y otras enfermedades sistémicas (7). La naturaleza simple y no invasiva del análisis de la saliva y fluido gingival crevicular pueden ser especialmente beneficiosas en la determinación del estatus actual periodontal y para monitorear la respuesta al tratamiento (8). Algunos estudios han demostrado que la determinación de los

niveles de mediadores inflamatorios en fluidos biológicos es un buen indicador de actividad inflamatoria. Además, estudios relacionados a la patogénesis de las enfermedades periodontales usualmente examinan marcadores bioquímicos e inmunológicos en saliva y FGC que podrían reflejar la extensión de la destrucción periodontal y posiblemente predecir futura progresión de la enfermedad. Biomarcadores presentes en el fluido gingival crevicular que han sido estudiados para el diagnóstico periodontal incluyen proteínas del huésped (enzimas, inmunoglobulinas, interleuquinas, citoquinas, quimioquinas, prostaglandinas), hormonas, bacterias y sus productos (5).

La matriz orgánica del hueso esta compuesta en un 90% por colágeno tipo I (9). Los productos de degradación del colágeno son marcadores evaluables de pérdida ósea en enfermedades metabólicas como osteoporosis, artritis reumatoide, enfermedad de Paget e hiperparatiroidismo. El biomarcador piridinolina (ICTP) representa una clase de molécula de degradación de colágeno que incluye piridinolina, deoxypiridinolina, N-telopeptidos y C-telopeptidos, que luego de la reabsorción de hueso y la degradación de la matriz colágena son liberadas a la circulación y no pueden pasar a vías anabólicas y ser reutilizadas durante la síntesis de colágeno, considerándose biomarcadores específicos de reabsorción ósea (10).

Debido a su especificidad con respecto a la reabsorción ósea, la piridinolina podría representar una ayuda diagnóstica potencialmente valiosa en periodoncia, esto debido a que ha mostrado ser un buen predictor de futura pérdida de hueso alveolar y de niveles de inserción (11).

Niveles sanguíneos elevados de ICTP han mostrado tener correlación con reabsorción ósea en diferentes enfermedades metabólicas de hueso, tales como osteoporosis, artritis reumatoide y enfermedad de Paget (12).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudiaron 20 individuos, seleccionados y tratados en el Centro de Referencia de Salud (CRS) Cordillera, Peñalolén, Santiago de Chile, los cuales cumplieron con los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Individuos mayores de 35 años.
- Diagnóstico clínico de periodontitis crónica y niveles de severidad de enfermedad moderada a avanzada.
- Tener al menos 14 dientes, sin contabilizar los terceros molares, de los cuales al menos 8 deben ser molares o premolares.
- Para el diagnóstico de periodontitis crónica al menos 5 a 6 dientes deben tener bolsas periodontales de profundidad de sondaje ≥ 5 mm, pérdida de inserción clínica ≥ 3 mm y evidencia radiográfica de destrucción ósea alveolar. La pérdida de inserción clínica ≥ 3 mm debe ser concomitante con la profundidad de sondaje ≥ 5 mm.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Presentar enfermedades sistémicas que afecten la progresión de la enfermedad periodontal.
- Haber recibido: anti-inflamatorios esteroidales o no esteroidales en el período de 6 meses y terapia periodontal y antibioterapia en el período 12 meses previos al examen clínico inicial y su incorporación al estudio.
- Si es mujer, estar embarazada o usar anticonceptivos orales.

Todos los sujetos recibieron una clara explicación del protocolo de investigación y firmaron un consentimiento informado aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile.

Los parámetros clínicos de profundidad de sondaje, nivel de inserción clínico, sangramiento al sondaje, índice de placa bacteriana fueron evaluados en todos los dientes por un investigador entrenado y calibrado. Los pacientes fueron evaluados clínicamente a los 2 meses para definir periodontitis progresiva de acuerdo al método de tolerancia (14).

Se tomaron muestras de fluido gingival crevicular de 2 sitios activos y 2 sitios inactivos en cada paciente. Una vez definida la progresión de la enfermedad, estos recibieron la terapia periodontal convencional que consiste en destartraje supra y subgingival y alisado radicular e instrucciones de control de placa bacteriana.

Previo aislamiento relativo con tómulas de algodón, destartraje supragingival con curetas periodontales (Hu Friedy, Gracey, USA) y secado gingival cuidadoso con jeringa de aire, se tomó una muestra de fluido gingival crevicular (FGC) en 2 sitios periodontales activos y 2 inactivos, de preferencia proximales de cualquier diente, con tiras de papel Periopaper® (ProFlow, Amityville, NY, USA). Las tiras de papel se colocaron en la bolsa periodontal, hasta obtener una leve resistencia tisular, manteniéndolas en el lugar durante 30 seg (Figura 1). Las tiras contaminadas con saliva o sangre fueron descartadas y se esperó a que el sitio deje de sangrar.



Figura 1. Toma de la muestra de FGC con Periopaper®.

PROTEÍNAS TOTALES

Se preparó una alícuota de FGC de cada muestra en un tubo Eppendorf® estéril mediante elusión centrífuga, sumergiendo la tira de papel en 50 µL de buffer fosfato salino con 0,05% de Tween-20 (PBS-T), y centrifugando a 12.000 rpm durante 5 min. a 4°C (Hermle Labortechnik Z-233 MK-2, Wehingen, Germany). El procedimiento de elusión fue repetido 2 veces. Luego se determinó los niveles totales de proteínas (Micro BCA, Pierce Endogen, Rockford, IL, USA). Las muestras fueron almacenadas a -80°C hasta posterior análisis mediante ELISA.

MEDICIÓN DE MARCADORES

Se determinaron los niveles de ICTP mediante la técnica de ELISA con Kits específicos de acuerdo a las instrucciones del fabricante: ICTP EIA. Uni Q, Orion Diagnostica Oy, Finland, Europe.

La concentración de ICTP se determinó en nanogramos/ mililitro (ng/ml) Los resultados fueron calculados usando las curvas Standard creadas en cada ensayo de ELISA. Las concentraciones de los marcadores fueron relacionados con el contenido de proteínas en las muestras según la siguiente fórmula:

$$\text{Concentración marcador ng / mg de proteínas} = \frac{\text{Concentración del marcador ng / ml}}{\text{Concentración de proteínas mg/ml}}$$

ANÁLISIS DE LOS DATOS

Los datos se analizaron utilizando el software estadístico Stata® 7.0 (Statistics/Data Analysis Stata, Stata Co., Tx, USA). Los parámetros clínicos profundidad de sondaje y nivel de inserción clínica, los niveles de de piridinolina (ICTP), en el FGC se analizaron utilizando las pruebas estadísticas t-test de Student no pareada y U-test Mann-Whitney. Se compararon los niveles de marcadores de progresión de sitios activos con los niveles de

sitios sin progresión. Además de determinar la influencia de otros factores confundentes en los niveles de marcadores de actividad como lo son la profundidad de sondaje, nivel de pérdida de inserción clínica, grado de inflamación gingival, género del paciente, tabaquismo.

El test Chi-square se utilizó para analizar los parámetros clínicos de placa bacteriana y sangramiento al sondaje. Un $p < 0,05$ fue considerado como diferencia significativa mediante el test de Tukey.

RESULTADOS

Se seleccionaron 20 pacientes que cumplieron con los criterios de exclusión e inclusión y aceptaron firmar el consentimiento informado. Las características clínicas de los pacientes al inicio de este estudio se muestran en la Tabla 1.

De los 20 pacientes que participaron en el estudio, en 7 se detectó progresión de la periodontitis según el método de tolerancia (14). Fueron tomadas muestras de FGC en 2 sitios activos (sitios con periodontitis crónica progresiva) y 2 sitios inactivos (sitios control que no mostraron progresión de la periodontitis). Las características

clínicas de los pacientes con progresión se muestran en la Tabla 2.

En relación con la progresión de la enfermedad periodontal, las características clínicas de los sitios activos e inactivos se pueden observar en la Tabla 3.

En la tabla 4 se observa el promedio de la concentración de ICTP (ng/ml) en el FGC de los sitios activos ($n = 14$) y los sitios inactivos ($n = 14$) y la relación de dichos marcadores con el contenido de proteínas totales de la muestra. Se puede observar que la concentración total de proteínas (mg/ml) es mayor en los sitios activos que en los sitios inactivos ($p = 0,001$).

En la Figura 2 se puede observar que los niveles de ICTP en los sitios activos es mayor que en los sitios inactivos y la diferencia entre ambos es estadísticamente significativa ($p = 0,001$).

Al comparar la concentración de ICTP con la concentración total de proteínas de las muestras (Figura 3), se observa que la diferencia entre sitios activos e inactivos al inicio es estadísticamente significativa ($p = 0,001$).

Tabla 1. Características clínicas de los pacientes al inicio del estudio.

Característica	Inicial	Rango (min-max)
Edad (años)	52,4±5,9	44-65
Nivel de inserción clínico (mm)	4,46±0,7	3,5-6,3
Profundidad de sondaje (mm)	3,35±0,45	2,8-4,7
Índice de placa (%)	69,7±6,8	53-81,8
Índice de sangramiento (%)	60,02±5,3	52-73,6
Tabaquismo (%)	35	
Mujeres (%)	60	

Tabla 2. Características clínicas de los pacientes que mostraron progresión de la periodontitis.

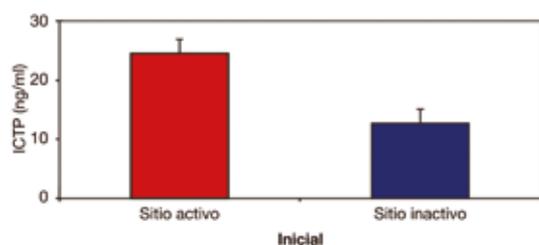
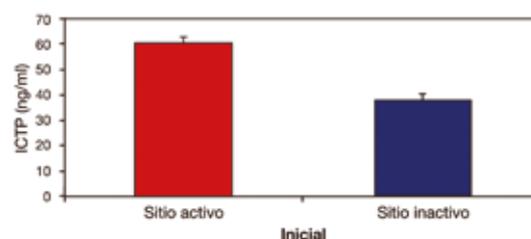
Característica	Inicial	Rango (min-max)
Edad (años)	50,3±5,2	44-60
Nivel de inserción clínico (mm)	4,7±0,8	4,03-6,26
Profundidad de sondaje (mm)	3,7±0,5	3,5-4,71
Índice de placa (%)	68,8±9,1	53-78,5
Índice de sangramiento (%)	58,6±5,6	52-66
Tabaquismo (%)	28,57	
Mujeres (%)	57,14	

Tabla 3. Características clínicas de sitios activos e inactivos, antes y después de realizado el tratamiento periodontal.

Característica	Sitio Activo	Sitio Inactivo
Nivel de inserción clínico(mm)	7,5±1,16	6,43±0,76
Profundidad de sondaje (mm)	6,21±1,19	5,36±0,84
Sangramiento al sondaje	71,4	85,7

Tabla 4. Concentración de ICTP en FGC y su la relación con la concentración de proteínas.

Marcador	Sitio Activo Inicial	Sitio Inactivo Inicial
ICTP ng/ml	24,43 ± 103,98	12,65 ± 13,40
ICTP ng/mg proteína	60,09 ± 291,22	37,75± 51,20
Concentración total de proteínas mg/ml	0,41 ± 0,032	0,34 ± 0,016

**Figura 2.** Concentración de ICTP (ng/ml) en FGC de los sitios activos e inactivos al inicio del estudio.**Figura 3.** Concentración de ICTP (ng/ mg de proteínas) entre sitios activos versus sitios inactivos antes y después del tratamiento.

DISCUSIÓN

En el presente estudio se comparan los niveles de ICTP en el fluido gingival crevicular de sitios que presentaron progresión de la periodontitis crónica y sitios sin progresión de la enfermedad. La concentración de ICTP en los sitios activos fue significativamente mayor que en los sitios inactivos.

Giannobile y colaboradores realizaron un estudio piloto en perros beagles donde relacionaron los niveles de ICTP y activa destrucción ósea, encontrando elevados niveles de ICTP dos semanas después de la colocación de las ligaduras para inducir periodontitis experimental.

Debido a su especificidad con respecto a la reabsorción ósea, la piridinolina podría representar una ayuda diagnóstica potencialmente valiosa en periodoncia, esto debido a que ha mostrado ser un buen predictor de futura pérdida de hueso alveolar y de niveles de inserción (11). En nuestro caso se pudo observar como los niveles de ICTP son significativamente mayores en los sitios activos que en los sitios inactivos, por lo que la ICTP podría ser un biomarcador para evaluar progresión de la periodontitis.

También los niveles de ICTP podrían servir para evaluar los resultados del tratamiento periodontal y monitorear la estabilidad del paciente durante el tratamiento de mantenimiento periodontal. Reinhardt y colaboradores demostraron que elevados niveles de biomarcadores de inflamación y de destrucción ósea como la interleuquina 1 beta y la ICTP, tendrían el potencial para identificar pacientes que son vulnerables para la progresión de la periodontitis (15).

Arikan y colaboradores estudiaron los niveles de ICTP en el fluido gingival crevicular de implantes dentales diagnosticados con periimplantitis y los compararon con los niveles de ICTP en el FGC de implantes clínicamente sanos. Los resultados de

este estudio sugieren que niveles altos de ICTP pueden reflejar un incremento en el riesgo de pérdida ósea alrededor de los implantes dentales, y que dichos niveles podrían servir para distinguir entre sitios enfermos y sanos (16).

En un estudio de Oringer y colaboradores se sugirió la relación de elevados niveles de ICTP y algunas especies bacterianas asociadas a la progresión de la periodontitis, por lo cual recomiendan estudios longitudinales para determinar si niveles elevados de ICTP pudieran predecir el desarrollo de pérdida ósea periimplantaria (17).

CONCLUSIONES

De acuerdo con nuestro estudio los niveles elevados de ICTP observados en los sitios con progresión de la periodontitis crónica, podrían sugerir su utilización como un biomarcador de destrucción ósea periodontal.

Se recomiendan más estudios para evaluar el valor diagnóstico de este posible biomarcador durante la progresión de la periodontitis crónica y ver sus niveles después del tratamiento periodontal.

REFERENCIAS

1. Listgarten M. A. Pathogenesis of periodontitis. *J. Clin Periodontol* 1986; 13: 418-425.
2. Flemmig T. F. Periodontitis. 1999 International Workshop for a Classification of Periodontal Diseases and Conditions. *Annals of Periodontol*; 4: 35-40.
3. Page R., Offenbacher S., Schoeder H., Seymour G., Komman K. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontology* 2000 1997; 14: 216-248.
4. Goodson J. M. Diagnosis of periodontitis by Physical measurement interpretation from episodic disease hypothesis. *J. Periodontol* 1992; 63: 373-378.

5. Taba M., Kinney J., Kim A., Giannobile W. Diagnostic Biomarkers for Oral and Periodontal Diseases. *Dent Clin N. Am* 2005; 49: 551-71.
6. Biomarkers Definitions Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 69: 89-95.
7. Ozmeric N. Advances in periodontal disease markers. *Clin Chim Acta* 2004; 343:1-16.
8. Zambon J. J., Nakamura M., Slots J. Effect of periodontal therapy on salivary enzymatic activity. *J. Periodontal Res* 1985; 20:652-9.
9. Narayanan A. S., Page R. C. Connective tissues of the periodontium: a summary of current work. *Coll Relat Res* 1983; 3 (1): 33-64.
10. Eriksen E. F., Charles P., Melsen F., et al. Serum markers of Type I collagen formation and degradation in metabolic bone disease: correlation with bone histomorphometry. *J. Bone Miner Res* 1993; 8: 127-132.
11. Giannobile W. V. C-telopeptide pyridinoline cross-links. Sensitive indicators of periodontal tissue destruction. *Ann N. Y Acad Sci* 1999; 878: 404-412.
12. Uebelhart D., Gineyts E., Chapuy M. C. Urinary excretion of pyridinium crosslinks: a new marker of bone resorption in metabolic bone disease. *Bone Miner* 1990;8: 87-96.
13. Palys M. D., Haffajee A. D., Socransky S. S., et al. Relationship between C-telopeptide pyridinoline cross-links (ICTP) and putative periodontal pathogens in periodontitis. *J. Clin Periodontol* 1998; 25:865-71.
14. Haffajee A. D., Socransky S., Goodson J. M. Clinical parameters as predictors of destructive periodontal disease activity. *J. Clin Periodontol* 1983; 10:257-265.
15. Reinhardt RA1, Stoner J. A., Golub L. M., Lee H. M., Nummikoski P. V., Sorsa T., Payne J. B. Association of gingival crevicular fluid biomarkers during periodontal maintenance with subsequent progressive periodontitis. *J. Periodontol* 2010. Feb81(2): 251-9.
16. Arikan F. L., Buduneli N., Lappin D. F. C-telopeptide pyridinoline crosslinks of type I collagen, soluble RANKL, and osteoprotegerin levels in crevicular fluid of dental implants with peri-implantitis: a case-control study. *Int J. Oral Maxillofac Implants*. 2011 Mar-Apr; 26 (2): 282-9.
17. Oringer R. J. L., Palys M. D., Iranmanesh A, Fiorellini J. P., Haffajee A. D., Socransky S. S., Giannobile W. V. C-telopeptide pyridinoline cross-links (ICTP) and periodontal pathogens associated with endosseous oral implants. *Clin Oral Implants Res*. 1998 Dec; 9 (6): 365-73.



Attribution (BY-NC) - (BY) You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggest the licensor endorses you or your use. (NC) You may not use the material for commercial purposes.