



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

ACTUALIZACIÓN EN LA IDENTIFICACIÓN DE
BIOMARCADORES DE ENFERMEDAD PERIODONTAL Y
CARIES DENTAL PRESENTES EN SALIVA.

TESINA

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

CIRUJANO DENTISTA

P R E S E N T A:

ADRIÁN FLORES GARCÍA

TUTOR: Mtro. JOSÉ GUILLERMO VILLAGÓMEZ OLEA

CIUDAD UNIVERSITARIA, CDMX

2017



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

Los fracasos, repetidos fracasos, son huellas en el camino hacia el logro. Uno fracasa de camino hacia el éxito. C. S. Lewis.

Nuestra recompensa se encuentra en el esfuerzo y no en el resultado. Un esfuerzo total es una victoria completa. Mahatma Gandhi

Agradezco a Dios todos y cada uno de los días de mi vida, por permitirme crecer y aprender en cada uno de ellos en todo sentido.

A mi principal pilar y sostén: Mi Familia

A mis padres por su apoyo y ejemplo de fortaleza y amor. Siempre será inefable mi agradecimiento y amor hacia ustedes. Mis logros son por ustedes así que también son suyos.

A mi madre, eternamente agradecido por fijarme siempre en mente el apoyo incondicional hacia las personas, que de las mayores satisfacciones de la vida se la llevan quienes pueden compartir y ayudar a los demás, una causa y consecuencia del por qué elegí la odontología. Gracias por esperarme horas en la madrugada hasta terminar mis tareas y estar al pendiente de mi preparación profesional, como también siempre motivándome a forjar la mejor versión de mí.

A mi padre por estar siempre ahí en todo momento, ayudar a levantarme cuando más lo necesito, y darme el gran ejemplo de responsabilidad, honestidad y persistencia.

A una persona muy especial en mi vida quien me trató como un hijo más y a quien pude ver como una segunda madre, se nos ha adelantado en el sendero más difícil que tenemos y con los pasos más cansados pero valientes que he visto. Jamás olvidaré aquél día cuando al amanecer me dio la noticia de que fui aceptado en la ENP 2, gracias por siempre tía Silvia.

A Iván, mi mejor amigo y compañero siempre presente, por ser mi primer paciente y permitirme aprender agradezco también las veces que me has apoyado para tener siempre actitud positiva.

A mi segunda casa y la mejor institución, gracias UNAM por permitirme conocer tu grandeza que incluye a todos los académicos que entregan su pasión todos los días, especialmente a los de la Facultad de Odontología.

Al Mtro. José Guillermo Villagómez Olea por su atención, paciencia y apoyo para lograr el presente trabajo. Así como la Dra. Lila A. Domínguez Sandoval.

A mis amigos y compañeros de la carrera con los cuales avance en el sendero de la más grata experiencia de mi vida, la Universidad, gracias César, Jimena, Nallely, Laura, Omar, Angie, Luis, Francisco, Ere, Viridiana y a todos los que me falta por mencionar.

Agradecido siempre también con nuestros pacientes que nos permiten aprender innumerables detalles que necesitamos, no sólo los exclusivos a Odontología.

ÍNDICE

OBJETIVOS	7
1 SALIVA: GENERALIDADES	8
1.1 CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS	9
1.2 MECANISMOS DE SECRECIÓN SALIVAL	9
1.3 REGULACIÓN DE LA SECRECIÓN SALIVAL	11
1.4 FUNCIONES DE LA SALIVA	12
1.5 BIOFLUIDOS COMO FUENTES DE BIOMARCADORES Y VENTAJAS DE LA SALIVA	14
1.6 CONSIDERACIONES PARA EL ESTUDIO DE SALIVA	15
2 DEFINICIÓN DE BIOMARCADOR	16
2.1 CLASIFICACIÓN DE BIOMARCADORES	17
2.2 DESCUBRIMIENTO Y VALIDACIÓN DE NUEVOS BIOMARCADORES	17
2.3 TECNOLOGÍAS ÓMICAS PARA EL DESCUBRIMIENTO DE BIOMARCADORES	20
2.4 PROBLEMAS Y DESVENTAJAS EN LA BÚSQUEDA DE BIOMARCADORES	26
3 ENFERMEDAD PERIODONTAL	28
3.1 PREVALENCIA EN EE.UU.	28
3.2 PREVALENCIA EN MÉXICO	28
3.3 CLASIFICACIÓN DE ENFERMEDAD PERIODONTAL	29
3.4 DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDAD PERIODONTAL	32
3.5 MICROORGANISMOS ASOCIADOS A ENFERMEDAD PERIODONTAL	34
4 BIOMARCADORES PARA LA ENFERMEDAD PERIODONTAL	36
4.1 BIOMARCADORES INFLAMATORIOS	37
4.2 BIOMARCADORES DE LA DEGRADACIÓN	38
4.3 MICROORGANISMOS COMO BIOMARCADORES ASOCIADOS A ENFERMEDAD PERIODONTAL	38
4.4 METABOLITOS COMO BIOMARCADORES DE ENFERMEDAD PERIODONTAL	41
5 CARIES DENTAL	42
5.1 PREVALENCIA EN EE. UU.	42
5.2 PREVALENCIA EN MÉXICO	42
5.3 CLASIFICACIÓN DE CARIES DENTAL	43

6 BIOMARCADORES PARA CARIES DENTAL	45
6.1 MICROORGANISMOS COMO BIOMARCADORES DE LA CARIES DENTAL.....	45
6.2 EVALUACIÓN DEL RIESGO DE CARIES MEDIANTE EL ANÁLISIS DE FACTORES INHERENTES AL HUÉSPED Y RELACIONADOS CON LA SALIVA.....	49
6.2.1 FLUJO SALIVAL.....	49
6.2.2 PH Y CAPACIDAD BUFFER.	50
6.2.3 PROTEÍNAS SALIVALES.....	50
6.2.4 INMUNOGLOBULINAS COMO BIOMARCADORES	52
6.2.5 METABOLITOS COMO BIOMARCADORES DE LA CARIES DENTAL	53
7. CONCLUSIONES	55
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56

INTRODUCCIÓN

Como parte importante del reconocimiento de las enfermedades, desde su origen, desarrollo y tratamiento, es de vital importancia el establecimiento de un diagnóstico certero y rápido. En odontología, actualmente se utilizan elementos y auxiliares como historia clínica, valoraciones o pruebas clínicas, radiografías, o pruebas de laboratorio. Con el apoyo de éstos en conjunto con el conocimiento y juicio crítico del clínico se elige el tratamiento adecuado para cada paciente.

Asimismo, es necesario tener un control y monitoreo del curso de los tratamientos, contando con la capacidad de cuantificar el proceso o los resultados de dichos procesos

Sin embargo, aún se carece de herramientas para conseguir tanto diagnósticos como pronósticos, monitoreos, etc., ideales, pero esto podría ser posible gracias a recientes avances científicos y tecnológicos en materia de biomarcadores utilizados para enfermedades del sistema estomatognático.

Las enfermedades orales más frecuentes son la caries y enfermedad periodontal. La primera se considera la enfermedad más prevalente en la humanidad, mientras que la segunda es la enfermedad inflamatoria más común, ambas con altas tasas de morbilidad. El presente trabajo se basa en dichos avances en materia de enfermedad y caries dental.

OBJETIVOS

General

Hacer una revisión bibliográfica para identificar y actualizar el conocimiento sobre potenciales biomarcadores de enfermedad periodontal y caries dental

Específicos

Clasificar las características de los biomarcadores con base a su naturaleza.

Identificar si existen biomarcadores que hayan sido confirmados y validados por medio de las diferentes fases de descubrimiento y validación clínica.

Identificar cuales son las ventajas y limitaciones que actualmente representa el descubrimiento, validación y establecimiento de biomarcadores para caries dental y enfermedad periodontal.

1 SALIVA: Generalidades

La saliva es un biofluido, producido por las glándulas salivales mayores (97%) y menores (3%), donde se encuentran presentes elementos tanto derivados de las mismas pero también de otras fuentes, como plasma, fluido crevicular gingival, células descamadas, bacterias, etc. Tiene un papel muy importante en el mantenimiento de la homeostasis oral pues lubrica los tejidos, controla el crecimiento bacteriano, es fuente de moléculas remineralizantes y mantiene un pH cercano a la neutralidad. Hasta el día de hoy se ha identificado la presencia de más de 2200 proteínas constitutivas, cifra similar a la cantidad (2698) reportada en el plasma. ⁽²⁾ Sin embargo, un grupo menor de estas representa a las más abundantes, entre las cuales se encuentra amilasa salival, mucina, inmunoglobulina A secretoria (sIgA), proteínas ricas en prolina (acídicas y básicas), peroxidasa, lactoferrina, etc. Asimismo, están presentes otros metabolitos como urea, amoníaco, ácido úrico, glucosa, colesterol, ácidos grasos, triglicéridos y iones como Na^+ , Cl^- , Ca^{2+} , K^+ , HCO_3^- , H_2PO_4^- , F^- , I^- y Mg^{2+} . ⁽²⁾ Todos estos elementos presentes lo hacen un medio atractivo en el campo de los biomarcadores moleculares, pues podrían servir para realizar detecciones tempranas de enfermedad, pero también de evaluación del riesgo, clasificación molecular, tratamiento personalizado y monitoreo de la enfermedad y, aunque las condiciones que se piensa reflejan de manera más confidente son aquellas que aquejan a la cavidad oral, como caries dental y enfermedad periodontal ⁽³⁾, también existe evidencia de que podría servir para condiciones distantes o sistémicas.

1.1 CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS

La saliva total es una solución hipotónica proveniente de los acinos salivales, pero también de otras fuentes como el fluido crevicular gingival y exudados de la mucosa oral. La mayor parte es secretada por las glándulas salivales mayores (parótida, submandibular y sublingual) y en menor medida por los cientos glándulas menores, que tapizan a toda la cavidad oral. (3) Al ser prístina, previo a su secreción, es incolora, inodora con una densidad relativa de 1.004 -1.009 y un pH entre 6.6 - 7.1. Su producción diaria oscila entre 0.5-1.5 litros, el 99% de su contenido agua y el resto proteínas, péptidos, iones, lípidos, ácidos nucleicos libres, entre otros. (3) La secreción salival sigue un ritmo circadiano en el que los mayores niveles de secreción se producen durante el día, hasta disminuir durante el sueño. (4)

1.2 MECANISMOS DE SECRECIÓN SALIVAL

El proceso de secreción de los fluidos salivales lo podemos dividir en dos fases consecutivas. La *primer fase* en la que la saliva tiene una similitud al plasma en cuanto a sus componentes iónicos, es decir es isotónica con el plasma. Esto sucede en el lumen acinar, antes de introducirse este fluido inicial en los túbulos excretores. (4)

En la *segunda fase* y una vez este fluido inicial ha iniciado su recorrido a través de estos túbulos en su camino hacia la cavidad oral, se va modificando en su composición por la reabsorción que se produce en los túbulos, concretamente sodio, y cloro, añadiéndose por el contrario potasio y bicarbonato. (4)

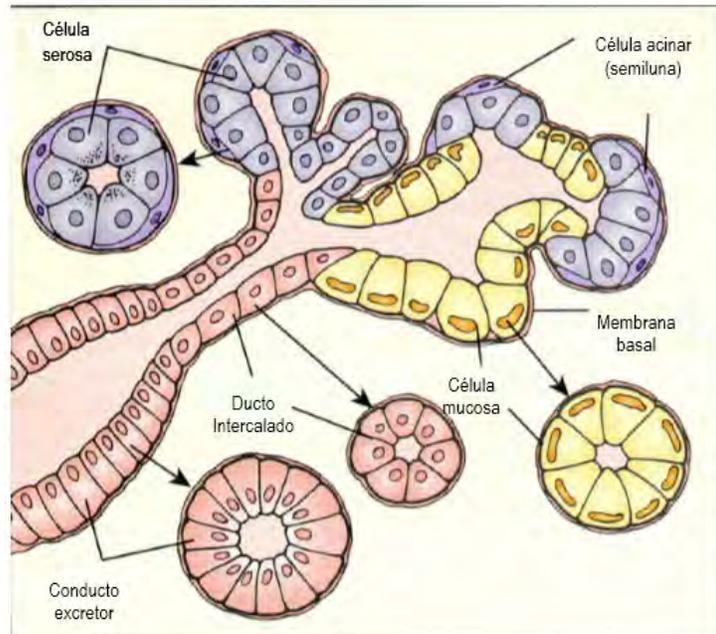


Fig. 1 Mecanismo de secreción salival

Fig.1 Se muestran los tres espacios donde se desarrolla el proceso de la secreción de fluidos.

Esto provoca lo que al principio era un fluido isotónico con el plasma, acaba siendo hipotónico cuando llega a la boca.

Mecanismo de secreción de las proteínas salivales

La mayor parte de las proteínas son producidas y segregadas por las células acinares. Dicho proceso se inicia en el retículo endoplasmático rugoso, donde se sintetizan, luego a partir del Complejo de Golgi hasta que se forman unos gránulos que viajan a la parte apical de la célula

acinar. El proceso de exocitosis para por fusiones entre las membranas de dichos gránulos proteicos y la membrana del lumen acinar, hasta que se rompen y sueltan su contenido en el lumen acinar. ⁽⁴⁾

El proceso para regulación de la secreción proteica de los acinis en caso de las glándulas parótidas y submandibulares está mediado por el sistema nervioso simpático y en el caso de las glándulas sublinguales y parte de las glándulas parótidas interviene el sistema nervioso parasimpático.

1.3 REGULACIÓN DE LA SECRECIÓN SALIVAL

En la médula existe un centro salival dedicado a regular la secreción de éste fluido orgánico. Se puede estimular el centro salival por medio de un reflejo no condicionado y uno condicionado. ⁽⁴⁾

Reflejo no condicionado; El inicio de éste reflejo es gracias a dos receptores, la primera es tras la estimulación de quimiorreceptores existentes en las papilas gustativas y por otro lado tras el estímulo con la masticación de mecanorreceptores presentes en el ligamento periodontal. Se estimulan estos receptores y por vía aferente nerviosa llegará la señal al centro salival en la médula. Los estímulos gustativos son transportados por fibras del VII (facial) y IX (glosofaríngeo) par craneal. Los estímulos masticatorios se transportaran mediante el V par (trigémino). ⁽⁴⁾

Reflejo condicionado; a través de la vista y con los pensamientos en la comida se puede generar un reflejo que va al núcleo salival estimulando así la secreción de saliva. ⁽⁴⁾

Una vez se ha estimulado el centro salival este genera serie de señales eferentes a través de fibras del parasimpático y simpático para llegar a las glándulas salivales. Concretamente las fibras parasimpáticas van con el nervio facial y con el glosofaríngeo, mientras que las simpáticas a partir

del tronco simpático, siguen a los vasos que llegan a las glándulas. El control parasimpático de las fibras que acompañan al nervio facial se ejerce sobre las glándulas submandibulares, sublinguales y glándulas menores, mientras que las parasimpáticas del glossofaríngeo actúan sobre las parótidas. ⁽⁴⁾

Una vez llegan los estímulos a las glándulas salivales se liberan neurotransmisores desde las neuronas postganglionares que provocarán la secreción salival. ⁽⁴⁾

1.4 FUNCIONES DE LA SALIVA

Aclaración salival

Diluyendo y eliminando sustancias existentes en la boca, tales como restos de alimentos, así como las bacterias y otros agentes extraños.

Neutralización de ácidos en boca

Como medida de protección a los dientes contra la erosión. Existe una saliva residual que forma como una fina capa cubriendo la superficie de los dientes. Está formada por mucinas, enzimas, proteínas antibacterianas e inmunoglobulinas. Su acción amortiguadora es debida al bicarbonato, fosfatos y proteínas de la saliva que permiten que su pH oscile entre 6.7 - 7.4. La concentración del bicarbonato depende en gran medida del flujo salival, de ésta manera éste se disminuye en casos de intensa hiposialia. Inhibe la precipitación de sales de fosfato cálcico.

Tanto el pH como las concentraciones salivales de calcio y fosfato, son factores muy importantes para mantener la saliva saturada con respecto a la hidroxiapatita. ⁽⁴⁾

Mantenimiento de la integridad de la mucosa oral y su lubricación

La lubricación depende de unas glucoproteínas de alto peso molecular, se trata de mucinas que son segregadas por las glándulas submandibulares, sublinguales así como glándulas salivales menores. Existen dos familia de estas mucinas MG1 y MG2. De las mucinas la que más contribuye en la lubricación es la MG1 (MUC5B); esta es el constituyente fundamental de la fina lámina salival que cubre la mucosa oral. ⁽⁴⁾

Acción antibacteriana

Ésta función es contribuida por varios componentes, como las mucinas MG2, de bajo peso molecular; tienen un papel importante en la aglutinación bacteriana y en el aclaramiento, siendo estas funciones mayores que las que tienen las MG1. ⁽⁴⁾

También las mucinas tienen la capacidad de unirse a la pared bacteriana impidiendo así su adhesión a las células epiteliales. La combinación de ésta agregación bacteriana y el lavado mecánico que ejerce la saliva constituyen un factor muy importante para impedir la colonización microbiana en la boca y consecuentemente las infecciones. ⁽⁴⁾

Enzimas: algunas enzimas como la lisozima, la lactoferrina, la calprotectina, y lactoperoxidasa.

Otras proteínas: cistatinas y las histatinas también tienen una acción antibacteriana.

Mantenimiento de la integridad de la mucosa oral y de las papilas gustativas

El factor de crecimiento epidérmico (FCE) es un polipéptido de bajo peso molecular que se ha hallado en las glándulas submandibulares y en parótidas, así como en otras glándulas del aparato digestivo. Desempeña un papel muy importante en el mantenimiento de la integridad de la mucosa oral, esofágica y gástrica. Entre sus funciones destaca la curación de las úlceras y la inhibición de la secreción gástrica. La masticación y la exposición al jugo gástrico dan lugar a un incremento en la producción de FCE. ⁽⁴⁾

Digestión de almidón y lípidos

La amilasa es la enzima que transforma los carbohidratos en maltosas, sin embargo tiene un papel poco importante para digestión de polisacáridos por su rápida inactivación por el ácido gástrico. La lipasa es segregada por células acinares de las glándulas serosas de von Ebner situadas en la parte posterior de la lengua y alrededor de las papilas circunvaladas. ⁽⁴⁾

1.5 BIOFLUIDOS COMO FUENTES DE BIOMARCADORES Y VENTAJAS DE LA SALIVA.

El uso de biofluidos es un medio atractivo para encontrar sustancias indicadoras de la enfermedad, y dentro de estos se han estudiado principalmente al suero y la orina. Sin embargo, son muestras que tienen como desventaja ya sea ser dolorosa, invasiva y/o incomoda su obtención. Las ventajas de la utilización de la saliva como método de análisis incluyen: su fácil recolección, técnicas no invasivas (ausencia de punciones y dolor), fácil transporte y bajo costo. ⁽⁴⁾ Por eso, se ha visto a la saliva como una potencial alternativa pues podría ser un medio por el cual obtener a una plétora de moléculas. ⁽³⁾ El probable obstáculo en los análisis salivales es la concentración baja de las sustancias en comparación con las concentraciones observadas en el suero. Sin

embargo las nuevas tecnologías de alta sensibilidad permiten evitar el problema mencionado.⁽⁴⁾

De hecho el uso de la saliva como muestra válida para el diagnóstico de una enfermedad viral no oral es relativamente reciente. Se propagó y difundió la idea de importancia de su uso cuando se comprobó su eficacia en el diagnóstico de procesos víricos, especialmente para el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) que llevó en 2003 a la aprobación por la FDA de pruebas comerciales de diagnóstico rápido para detectar anticuerpos de dicha enfermedad.⁽⁴⁾

Por otro lado es importante mencionar que se necesita definir y especificar en cada estudio salival los valores en saliva del mismo modo que se tienen valores para el suero, ya que existen diferentes tipos de saliva y ritmos fisiológicos diarios. La presencia de bacterias, células epiteliales y leucocitos en saliva son un factor más a considerar ya que hay componentes de la saliva por ejemplo enzimas que es difícil determinar su origen aunado a que el resultado de la acción de bacterias puede modificar la composición salival, de ésta manera la recolección de la muestra debe depositarse inmediatamente el hielo para frenar el metabolismo bacteriano.⁽⁴⁾

1.6 CONSIDERACIONES PARA EL ESTUDIO DE SALIVA

Antes del estudio se debe de tomar en cuenta las siguientes variables: La cantidad de saliva que se necesitará para las determinaciones buscadas. El tipo de saliva (estimulada o no estimulada, total o saliva glandular). El método de estimulación, teniendo en cuenta que los iones en la saliva estimulada varía en los primeros minutos de la estimulación, así que se recomienda estimular la primera saliva estimulada por no ser representativa. Las propiedades de almacenamiento pueden influir en el

análisis bioquímico de sustancias que presentan inestabilidad térmica y/o que pueden ser modificadas por actividad bacteriana. ⁽⁴⁾

Como norma general se acepta que la muestra de saliva se almacena a temperatura ambiente cuando va a ser analizada en los próximos 30 a 90 minutos desde la toma, aunque la mayoría de los autores recomiendan el depósito inmediato en hielo a 4°C cuando el análisis se realizará en las siguientes 3 a 6 horas desde la toma, y a -20° C y mejor aún a -80°C cuando el análisis se va a realizar días o meses después. ⁽⁴⁾ En caso de centrar el estudio de ARN es imprescindible tratar la muestra con algún inhibidor de RNasas (p.e. inhibidor superASA) inmediatamente después de su extracción ya que dichas enzimas están altamente representadas en saliva. ⁽⁴⁾

La mayoría de autores recomiendan que la obtención de la muestra de saliva sea a horas determinadas, principalmente a la primera hora de la mañana. Lo ideal es que el paciente no haya ingerido alimento alguno al menos dos horas antes de la recolección para evitar distorsiones ocasionadas por la digestión de los mismos. Éstas consideraciones son importantes ya que el metabolismo y composición de microorganismos que componen la flora oral normal está sujeta a ritmos circadianos. ⁽⁴⁾

2 DEFINICIÓN DE BIOMARCADOR

Un biomarcador -según el *National Institutes of Health Biomarkers Definitions Working Group*- se define como: "una característica objetivamente medida y evaluada como un indicador de procesos biológicos normales, procesos patogénicos o como resultado de respuestas farmacológicas a una intervención terapéutica" ⁽⁵⁾. También se le ha definido como "cualquier sustancia, estructura o proceso que se

puede medir en el cuerpo o sus productos e influir o predecir la incidencia de resultado o enfermedad”⁽⁵⁾

Como se menciona, estos indicadores biológicos pueden servir para distintos propósitos, como la detección de signos tempranos de la enfermedad, la confirmación de los diagnósticos, el seguimiento de los efectos de los tratamientos o de la progresión de la enfermedad y la predicción de los resultados clínicos.⁽⁶⁾

2.1 CLASIFICACIÓN DE BIOMARCADORES

Los biomarcadores pueden clasificarse según sus aplicaciones clínicas: en marcadores diagnósticos y marcadores predictivos o pronósticos. Por ejemplo, en cáncer, se utilizan marcadores diagnósticos para determinar en un principio la clasificación histopatológica y la etapa o fase de la enfermedad, y los marcadores pronósticos pueden predecir el desarrollo y la perspectiva de recuperación de la enfermedad. Basándose en los casos individuales, los marcadores predictivos se pueden utilizar para la selección del procedimiento terapéutico correcto.⁽⁷⁾

2.2 DESCUBRIMIENTO Y VALIDACIÓN DE NUEVOS BIOMARCADORES

Actualmente, la búsqueda de diversas moléculas en fluidos y tejidos biológicos es la principal fuente para encontrar nuevos biomarcadores,⁽⁸⁾ Gracias al desarrollo y robustecimiento de tecnologías en la era post-genómica, la búsqueda de biomarcadores ha tomado un enfoque basado en los estudios ÓMICOS, sin embargo, hay que resaltar que el proceso que conduce desde el descubrimiento hasta la validación es largo y extremadamente costoso⁽⁸⁾.

Pueden llegar a transcurrir incluso hasta 20 o 30 años desde la descripción inicial hasta su empleo en la práctica clínica. Por lo general las fases de éste proceso son: el **descubrimiento**, la **confirmación**, la **verificación** y la **validación**, en las cuales se van reduciendo paulatinamente las moléculas candidatos (potenciales biomarcadores) analizadas a la vez que se aumenta el tamaño de estudios cohortes de pacientes. ⁽⁶⁾

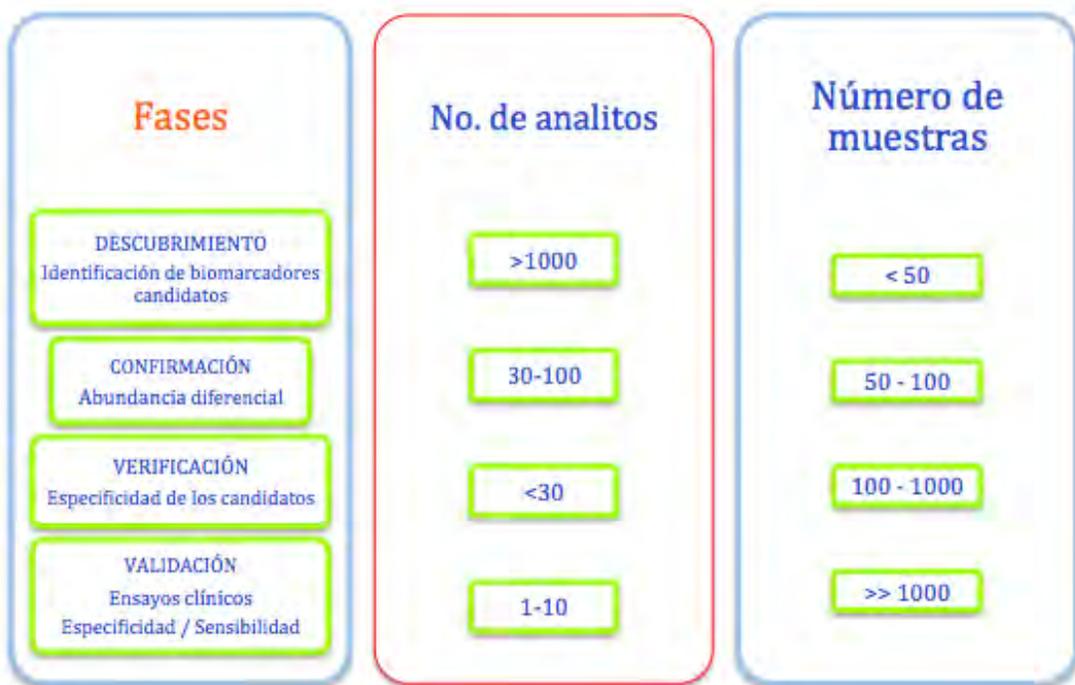


Fig. 2. Esquema de las fases en el descubrimiento y validación de un nuevo biomarcador. ⁽⁸⁾

Fase de descubrimiento

En esta fase inicial se comparan un número reducido de muestras que reflejan de forma sumamente precisa la enfermedad en estudio, minimizando de éste modo la presencia de posibles sesgos. El resultado de éste análisis suele reportar un gran número de biomarcadores candidatos entre los cuales hay abundantes falsos positivos, por lo que deberán filtrarse y validarse en posteriores etapas. ⁽⁸⁾

Fase de confirmación

Se busca establecer una asociación clara entre las moléculas candidatos a las utilizadas en la fase anterior que aporten una mayor exactitud y permitan una mejor cuantificación. En esta fase se evalúan parámetros como la sensibilidad y la especificidad (ver cuadro 1) ⁽⁸⁾

CUADRO 1. Definiciones de sensibilidad y especificidad (1)

Sensibilidad: Se define como el porcentaje de las pruebas positivas que se observa al aplicar una determinada prueba a sujetos afectados por la enfermedad blanco. Si en 100 sujetos afectados la prueba es positiva, es decir fuera de los límites de referencia en todos, su sensibilidad diagnóstica es igual al 100%; si es positiva en 75 mientras en los otros 25 no, es distinta de la población de referencia y su sensibilidad diagnóstica es de 75%. ⁽¹⁾

Especificidad: Se define como el porcentaje de las pruebas negativas que se obtiene aplicando una determinada prueba de laboratorio a una población de sujetos sanos, no afectados por la enfermedad que se intenta diagnosticar. Si en 100 sujetos no afectados la prueba da 100 resultados negativos, entonces la prueba posee una especificidad del 100 %, si en los mismos 100 sujetos es negativa en 80 y mientras que es positiva en 20 su especificidad es del 80%. ⁽¹⁾

Fase de validación

Se evalúan los biomarcadores candidatos mediante técnicas optimizadas en poblaciones muy amplias (de varios miles de pacientes) que permitan realizar el ensayo clínico previo a su implementación o comercialización.⁽⁸⁾

2.3 TECNOLOGÍAS ÓMICAS PARA EL DESCUBRIMIENTO DE BIOMARCADORES

Las fuentes comunes de nuevos biomarcadores que se incorporarán en el panel de biomarcadores son conjuntos de datos masivos producidos por fuentes de información recientes de descubrimiento de biomarcadores conocidos colectivamente como enfoques ómicos.

Estos enfoques apuntan a la medición cuantitativa más o menos precisa de tantas biomoléculas de la misma clase como sea posible. De esta manera, la transcriptómica determina los ARNm (ARN mensajeros) expresados dentro de una determinada fuente; la proteómica, las proteínas o más bien los péptidos que comprenden estas proteínas; y la metabolómica, el conjunto de pequeñas moléculas tales como intermediarios metabólicos, mensajeros y otros compuestos encontrados dentro de una muestra biológica.⁽⁶⁾

GENÓMICA: Es el estudio de todos los genes, incluidos sus funciones y elementos reguladores, presentes en los genomas de los organismos. Dicho genoma consiste en los cromosomas y cualquier elemento extracromosómico que pueda estar presente. La determinación de la secuencia de bases nucleótidas del genoma completo de un organismo es una de las principales metas de ésta ciencia, y ha sido posible mediante los avances recientes en automatización e informática de la secuenciación del DNA.⁽⁹⁾ El conocimiento de la secuencia de DNA

contigua del cromosoma de una bacteria da importantes indicios sobre su constitución genética, pudiendo abordarlo para identificar codificando factores de virulencia de los microorganismos. ⁽⁹⁾

TRANSCRIPTÓMICA: El término transcriptómica es el estudio que engloba a la totalidad de RNA mensajero que se está transcribiendo en un momento dado en un entorno determinado. Existen diversas aproximaciones al estudio de distintas especies configurantes del transcriptoma que tradicionalmente se han utilizado para el estudio de la presencia de mensajeros concretos en saliva.

Microarreglos de ADN

El conocimiento del genoma proporcionado por el proyecto del genoma humano, aunado al avance tecnológico ha facilitado el desarrollo de técnicas que permiten el análisis simultáneo de muchos genes a partir de una muestra de ARN, es decir a la técnica de microarreglos de ADN. ⁽⁴⁾

Un microarreglo es una superficie de cuarzo en la que se fijan en lugares específicos cebadores que reconocen un gen concreto, de manera que si los enfrentamos a una muestra de ARN convenientemente marcada podemos detectar si un gen en concreto se expresa en función de si ha habido o no hibridación, así como el grado de expresión en función del número de moléculas que han hibridado. ⁽⁴⁾

Los microarreglos permiten por tanto analizar de manera global en genoma humano, de manera que se pueden estudiar la totalidad de genes que se están expresando en un sistema, así como alteraciones como consecuencia de un proceso patológico o de un determinado fármaco. ⁽⁴⁾ Li y cols, mediante el uso de microarreglos de alta densidad han establecido las bases para el conocimiento del transcriptoma salival normal. ⁽⁴⁾

METABOLÓMICA: Considerando que los metabolitos son los productos finales de todos los procesos que se producen en las células, y las cantidades de metabolitos en la enfermedad reflejan la adaptación de los sistemas biológicos a los estados patológicos, dichos metabolitos son el fundamento de estudio de la metabolómica. Hoy se estima que hay más de 2.000 metabolitos que pueden ser sintetizados de forma endógena. Otro factor contribuyente importante para el conjunto de metabolitos del organismo es la flora intestinal. Al igual que en el caso de la proteómica, el objetivo de la metabolómica es caracterizar el complemento de moléculas pequeñas de una muestra determinada e interrogar a las redes metabólicas en condiciones normales y patológicas, de manera cualitativa y cuantitativa. Las tecnologías de metabolómica se han aplicado a diferentes áreas de investigación clínica, entre ellas el descubrimiento de biomarcadores y fármacos, la toxicología y la nutrición. ⁽¹⁰⁾

PROTEÓMICA La proteómica es el estudio a gran escala de las proteínas. La mayoría de los estudios realizados en la búsqueda de biomarcadores proteicos presentes en el fluido salivar han empleado herramientas como electrofóresis bidimensional acoplada a la espectrometría de masas (2D-MS por sus siglas en inglés). Asimismo, para la corroboración de las proteínas identificadas mediante los instrumentos previamente mencionados, se utilizan algunas técnicas de inmunoensayo, como Western Blot o ensayos ELISA (Ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas, por sus siglas en inglés). Esto demuestra la estrecha correlación que existe entre el transcriptoma como el proteoma salival lo que de algún modo valida la selección de marcadores propuestos mediante el uso de tecnologías tan diferentes. ⁽⁴⁾

La electroforesis bidimensional consiste en la separación electroforética de una mezcla compleja de proteínas utilizando dos propiedades. La primera es el punto isoeléctrico y la segunda la masa.

En primer lugar se separan las proteínas mediante electroforesis en un gel de acrilamida utilizando un gradiente de pH, de manera que quedan separadas en función de su carga electrostática neta. Una vez concluido se trata el gel con un agente desnaturante (SDS) que no es otra cosa que un detergente que lineariza las proteínas embebidas en el gel y les da una carga neta negativa en función de su tamaño ya que cuanto mayores sean, mayor será el número de moléculas de SDS que se une a las mismas. Se somete el gel de nuevo a un campo eléctrico, esta vez en perpendicular al primero, de manera que las proteínas quedan separadas. El resultado se visualiza mediante tinción de las mismas con plata.

Fig. 3 Electroforesis bidimensional ⁽⁴⁾

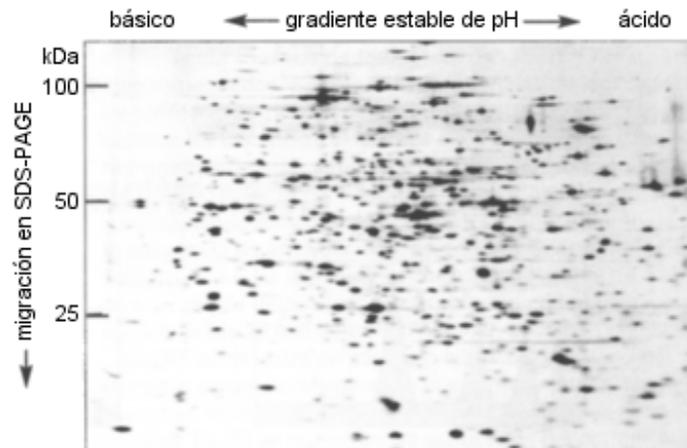


Fig 3. Cada uno de los puntos presentes corresponde a una proteína diferente. El problema ahora reside en identificar dichos puntos. Para ello se utiliza la espectrometría de masas.

La espectrometría de masas es una técnica analítica en la que los átomos o moléculas de una muestra son ionizados, con mayor frecuencia positivamente, separados por su relación masa/carga (m/z) y posteriormente detectados y registrados. Es una técnica consolidada, que durante la pasada década ha tenido un gran avance en el ámbito biológico y se está imponiendo en los laboratorios analíticos biosanitarios de investigación o de diagnóstico. ⁽⁶⁾ Las cualidades de esta técnica son: su alta especificidad analítica, el amplio intervalo de aplicabilidad con buena practicabilidad al trabajar con moléculas grandes o pequeñas, posibilidad de obtener información cualitativa y cuantitativa en una única prueba así como su flexibilidad que permite diseñar procedimientos analíticos en relativamente poco tiempo, permite la automatización y miniaturización del equipo, existiendo ya espectrómetros del tamaño de un teléfono móvil. Si bien presenta limitaciones, es una técnica imprescindible en ámbitos como la proteómica y será en un futuro próximo, técnica de rutina para cualquier laboratorio de análisis clínicos. ⁽⁶⁾ Los parámetros obtenidos con esta técnica permiten correlacionarlos con aspectos biológicos relacionados con ciertas enfermedades, patologías metabólicas o con la identificación y estructura de proteínas y péptidos. ⁽⁶⁾ Las aplicaciones actuales de la proteómica basada en Espectrometría de Masas (MS, por sus siglas en inglés) en el desarrollo de biomarcadores pueden dividirse básicamente en dos fases separadas pero interconectadas. En el primer descubrimiento o en la fase de identificación inicial, se determinan biomarcadores candidatos potencialmente útiles. La segunda fase es la de verificación y se utiliza para evaluar las abundancias diferenciales de péptidos/proteínas en un conjunto de muestras independiente con el fin de establecer la reproducibilidad de los resultados iniciales. Una fase de validación preclínica también se realiza utilizando muestras clínicas a gran escala, pero esta fase usualmente se

lleva a cabo realizando inmunoensayos y ya no con experimentos por MS.
(6)

Cuadro 2. Ejemplo del desarrollo de biomarcadores (proteicos) basados en una tecnología ómica y validación por inmunoensayos. (6)

Fase	Objetivos	Métodos	Número de candidatos	Número de muestras
Descubrimiento	Identificación de biomarcadores potenciales	Análisis diferencial a gran escala	100-1000	1-10
Verificación	Corroborar el nivel de expresión de los posibles biomarcadores candidatos	Cuantificación específica: SRM, también conocido como Monitoreo de Reacción Múltiple (MRM) y Monitoreo Paralelo de la Reacción (PRM)	10-100	10-100
Validación	Desarrollar un ensayo clínico y realizar una validación de cohorte importante para biomarcadores potenciales	Inmunoensayos	1-10	100-1000

2.4 PROBLEMAS Y DESVENTAJAS EN LA BÚSQUEDA DE BIOMARCADORES

La determinación ideal de un biomarcador debe ser rápida, fácil de realizar y tener la mayor sensibilidad y especificidad posible. Su interpretación debe conseguir detectar la enfermedad, medir e identificar su progreso así como permitir la monitorización de la respuesta terapéutica. Es deseable que la determinación del biomarcador se pueda realizar a partir de una muestra de fácil obtención y no invasivo, como la saliva, así también es deseable que el método se pueda aplicar a un número elevado de muestras, con un costo razonable y utilizando equipos instrumentales accesibles a laboratorios comunes. (6)

Sin embargo, todo lo anterior no siempre es factible. Además el conseguir un biomarcador que sea independiente y verdaderamente nuevo con sensibilidad y especificidad lo suficientemente aceptables para la detección de una enfermedad es difícil y poco común. (6)

Un problema más al que se enfrentan los biomarcadores es la variabilidad interindividual. La poblaciones humanas están lejos de ser homogéneas, tanto en su estructura genética subyacente, -que puede afectar en última instancia el comportamiento de los biomarcadores- como en sus exposiciones ambientales, que influyen en la prevalencia de enfermedades crónicas o infraclínicas. Un intervalo de referencia bien adaptado es un requisito previo para la interpretación adecuada de los resultados de cuantificación de biomarcadores. Sin embargo, parece que en muchos casos este intervalo debe ajustarse a patrones que varían como la edad, el sexo, la etnia o el índice de masa corporal. La clasificación incorrecta de la lectura de laboratorio que cae dentro del intervalo de referencia puede conducir a un falso negativo. (6) El mejor ejemplo de esto es una correlación inversa del antígeno específico prostático (PSA) y el índice de masa corporal (IMC) que se ve modificado por la edad. En las personas candidatas obesas para el tratamiento,

(pacientes en su quinta y sexta décadas) , se realiza un ajuste apropiado del intervalo de valores de referencia de IMC-PSA logrando así una mayor sensibilidad en el cribado que mitiga el PSA en niveles bajo cuantificado erróneamente para una detección oportuna de cáncer de próstata. ⁽⁶⁾

El método convencional que pudiese resolver el problema de sensibilidad y especificidad relativamente bajo de biomarcadores recién descubiertos es realizar combinaciones en paneles ⁽⁶⁾ que consiste en estudiar múltiples analitos para tener un mejor desempeño en las pruebas, bajo el principio de que enfermedades complejas desarrollan efectos o modificaciones en más de una red de moléculas, y si cada una de estas redes estuviese representada por su propio biomarcador el panel combinado es más fuerte.⁽⁶⁾ Para lograr esto, los paneles de biomarcadores deben de tener una reproducibilidad alta, sin embargo, en muchos casos poseen reproducibilidad relativamente baja de los resultados cuando se reproducen los ensayos en muestras independientes. ⁽⁶⁾

Además, cuando diferentes grupos de investigación emprenden el descubrimiento de biomarcadores para la misma enfermedad, rara vez llegan a la misma lista de moléculas candidatas. De hecho, la comparación de las listas de genes predictivos descubiertas por diferentes grupos revela una superposición muy pequeña. ⁽⁶⁾

En la investigación de nuevos biomarcadores hay que analizar cientos de sueros, orinas o tejidos humanos, también es viable utilizar especímenes animales para poderlo comprobar en el animal, como por ejemplo ratones modelo para cáncer de mama, y posteriormente confirmar los resultados en humanos. ⁽⁶⁾

Hay muchas razones para la aparente desproporción entre los esfuerzos de desarrollo de biomarcadores y la aprobación de la FDA (*US Food and Drug Administration*). Algunas cuestiones son de naturaleza tecnológica,

incluida la necesidad de que las pruebas sean muy sensibles, amplias, cuantitativas y realizadas con un rendimiento suficiente para analizar un tamaño de muestras apropiado para su aprobación. La necesidad de contar con métricas estándar para el aseguramiento de la calidad y el control de calidad que permitan la comparación cruzada y la validación de resultados entre diferentes laboratorios. ⁽⁶⁾

3 ENFERMEDAD PERIODONTAL

La enfermedad periodontal comprende a un conjunto de infecciones multifactoriales inflamatorias crónicas que afectan al hueso y tejidos de soporte del diente ⁽¹¹⁾ .

3.1 PREVALENCIA EN EE.UU.

Estas enfermedades tienen una alta prevalencia en los EE.UU., donde más de la mitad de los adultos se ven afectados en algún nivel de la enfermedad. Una investigación sobre la prevalencia de la periodontitis en adultos en los Estados Unidos, con datos de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (National Healthand Nutrition Examination Survey) de 2009 y 2010 muestran que, más del 47% de de adultos tenía periodontitis, lo que equivale a 64,7 millones de adultos. ⁽¹¹⁾

3.2 PREVALENCIA EN MÉXICO

Aunque en México no se cuenta con datos epidemiológicos nacionales, tenemos algunos indicadores como estudios en localidades, clínicas y universidades. En un estudio realizado a partir de una muestra de 630 pacientes de la población que acude a la clínica de Admisión de la Facultad de Odontología de la UNAM, se realizó valoración periodontal

registrando el nivel de inserción de dos cuadrantes contralaterales, superior e inferior. La prevalencia de periodontitis crónica fue de 67.2%, la severidad o el promedio de pérdida de inserción por sujeto fue de 2.29 mm y la extensión de la enfermedad, el porcentaje de sitios afectados fue del 55.7 % En distribución de frecuencias por grupos de edad fueron del intervalo de 30-34 años el que presentó una mayor frecuencia del 22%. Por género su distribución: 394 sujetos (62.5%) fueron del género femenino y 236 sujetos (37.5%) fueron del género masculino. La prevalencia de periodontitis crónica se manifiesta más en los grupos de edad de 40-44 y 45-49 años. ⁽¹²⁾

3.3 CLASIFICACIÓN DE ENFERMEDAD PERIODONTAL

Cuadro 3. Clasificación actual de enfermedades y condiciones del periodonto

CLASIFICACIÓN DE LAS ENFERMEDADES Y CONDICIONES DEL PERIODONTO ⁽⁹⁾

De acuerdo con la International Workshop American Academy of Periodontology (1999), la enfermedad periodontal se clasifica en:

I. ENFERMEDADES GINGIVALES

1) Inducidas por placa dental

- a) Lesiones gingivales modificadas por factores sistémicos**
- b) Asociada a medicamentos**
- c) Modificadas por malnutrición**

2) No inducidas por placa dental

a) Enfermedades gingivales originada por bacterias específicas

b) De origen viral

c) De origen fúngico

d) De origen genético

e) Manifestaciones gingivales de condiciones sistémicas

f) Lesiones traumáticas

g) Reacciones de cuerpos extraños

h) Otros

II. PERIODONTITIS CRÓNICA

a) Localizada

b) Generalizada

III. PERIODONTITIS AGRESIVA

a) Localizada

b) Generalizada

IV. PERIODONTITIS COMO MANIFESTACIÓN DE ENFERMEDAD SISTÉMICA

1) Asociada a desorden hematológico

2) Asociada a desorden genético

3) Otros

V. ENFERMEDADES PERIODONTALES NECROSANTES

1) Gingivitis úlcero necrosante (GUN)

2) Periodontitis úlcero necrosante (PUN)

VI. ABSCESOS DEL PERIODONTO

- 1) Absceso gingival
- 2) Absceso periodontal
- 3) Absceso perioral

VII. PERIODONTITIS RELACIONADA CON LESIONES ENDODÓNICAS

VIII. DEFORMIDADES Y AFECCIONES DEL DESARROLLO O ADQUIRIDAS

- 1) Factores locales del diente que pueden modificar o inducir lesiones gingivales inducidas por placa dental
 - 2) Deformidades y condiciones mucogingivales alrededor del diente
 - 3) Deformidades y condiciones mucogingivales en el reborde residual
 - 4) Trauma oclusal
-

3.4 DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDAD PERIODONTAL

En odontología puede haber un nivel de incertidumbre en la predicción de los resultados del tratamiento y la estabilidad del sitio periodontal. Usando como referencia el valor numérico de profundidades de sondeo como una medida de la progresión de la enfermedad se consideran 2 mm de pérdida de inserción clínica en un sitio. ⁽¹¹⁾ Con éste método diagnóstico se hace una evaluación de la historia de la enfermedad más que una evaluación en tiempo real del proceso o actividad de la enfermedad. ⁽¹¹⁾,
⁽¹³⁾

Por lo tanto, existe la necesidad de un innovador instrumento de diagnóstico con la capacidad de detectar cambios en tiempo real en el periodonto. El fluido crevicular gingival y la saliva, han surgido como posibles herramientas de diagnóstico suplementario. ⁽¹¹⁾

Las primeras investigaciones centradas en el líquido crevicular buscaron identificar la presencia y las funciones de proteínas, en particular las enzimas liberadas del tejido periodontal dañado. Investigaciones posteriores comenzaron a explorar la saliva como un fluido oral derivado del huésped con capacidades diagnósticas potenciales. ⁽¹¹⁾

La fisiología del tejido periodontal y sus alteraciones son muy complejas y han proporcionado desafíos a lo largo del camino hacia el objetivo de los diagnósticos salivales de los consultorios para el tratamiento individualizado y el mantenimiento de la salud periodontal. ⁽¹¹⁾

Los elementos y auxiliares de diagnóstico actuales utilizados para determinar la gravedad, la respuesta al tratamiento y la actividad de la enfermedad periodontal incluyen: profundidad del surco o profundidad de

bolsa; nivel de inserción clínica; sangrado al sondear; inflamación gingival; presencia de placa y sarro o nivel de cuidado de higiene bucal; supuración; así como valoración radiográfica para observar la pérdida ósea. ⁽¹¹⁾, ⁽¹³⁾

Un dato importante que tenemos del diagnóstico de la enfermedad es que sólo después del inicio del proceso biológico de la enfermedad, las evaluaciones clínicas proporcionarán un diagnóstico de enfermedad periodontal. ⁽¹¹⁾

Pero se deben tomar en cuenta también, los errores de medición, como la angulación y la fuerza de la sonda, pueden interferir con las mediciones precisas del nivel de inserción y pueden ser lo suficientemente significativos como para distorsionar la planificación del tratamiento clínico. ⁽¹¹⁾

Estas mediciones clínicas son útiles para la evaluación, pero no son objetivas para determinar la actividad actual de la enfermedad o el riesgo futuro de pérdida de estructura periodontal. ⁽¹¹⁾

Considerando la fisiopatología de la enfermedad, la periodontitis puede dividirse de manera general en tres grandes fases: inflamación, degradación del tejido conectivo, y resorción ósea. ⁽¹¹⁾ Durante cada proceso de la enfermedad, se han identificado biomarcadores específicos derivados del huésped que pueden proporcionar una idea general de la fase de alteración patológica que el paciente está experimentando.

En las primeras etapas de la enfermedad, numerosas citocinas, como la prostaglandina E2, la interleucina-1 (IL1), la interleucina-6 (IL-6) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), se liberan de diversas células, como del epitelio de unión, fibroblastos del tejido conectivo, macrófagos y neutrófilos polimorfonucleares. ⁽¹¹⁾

A medida que avanza la enfermedad, se liberan potentes enzimas, como la metaloproteinasa de matriz 8, la metaloproteinasa de matriz 9 y la metaloproteinasa de matriz 13, en el sitio infectado, lo que conduce a la destrucción del colágeno del tejido conectivo y a la pérdida de hueso alveolar. ⁽¹¹⁾

A medida que la enfermedad se hace más severa, los niveles de factor de necrosis tumoral- α , e interleucina-1 se elevan y la osteoclastogénesis y la resorción ósea alveolar pierden el equilibrio. ⁽¹¹⁾

Estudios han demostrado que dicha respuesta inflamatoria puede inducir una activación a distancia y, de ésta manera se asocia con enfermedades sistémicas como la cardiopatía coronaria, las enfermedades vasculares, infarto cerebral, artritis reumatoide y diabetes mellitus debido a esto, el estudio de los biomarcadores en los biofluidos tiene gran relevancia para evaluar las moléculas inflamatorias y otros mediadores que conducen a la enfermedad periodontal y otras complicaciones sistémicas. ⁽¹⁴⁾

3.5 MICROORGANISMOS ASOCIADOS A ENFERMEDAD PERIODONTAL

Hasta hace muy poco, las identidades de los microorganismos relacionados con lesiones periodontales o con la salud periodontal se limitaban a las de aquellos que podían cultivarse en el laboratorio. Con base en la asociación con diferentes estados patológicos, estos microorganismos se clasificaron en grupos de patogenicidad potencial. Este agrupamiento proviene de una publicación fundamental de 1998 en la que Sigmund Socransky y cols. del Forsyth Institute Boston, MA, hicieron una descripción detallada de los complejos microbianos que existen dentro de la biopelícula subgingival en diversos estados de salud

y enfermedad periodontales. Usando análisis en tablero de ajedrez por hibridación DNA-DNA para identificación y enumeración de bacterias, estudiaron aproximadamente 13 000 muestras de placa de 185 adultos, y emplearon análisis de grupos y técnicas de ordenación a nivel de comunidad para identificar consorcios de bacterias que es probable que covaríen dentro del hábitat de la película. ⁽⁹⁾



Figura 4. Complejos microbianos en la placa subgingival. A. actino, *A. actinomycetemcomitans* serotipo a o b según se indique. ⁽⁹⁾

Se reconocieron 6 complejos bacterianos estrechamente asociados, los cuales suelen nombrarse por su código de color. así éstos grupos incluyen cuatro complejos formados principalmente por colonizadores tempranos de las superficies dentales; un complejo azul consistente en especies de *Actinomyces*; un complejo amarillo formado por distintos miembros del género *Streptococcus*; un complejo verde que consta de *Eikenella corrodens* varias especies de *Capnocytophaga*, *Campylobacter concisus* y *A. actinomycetemcomitans* serotipo a; y un complejo púrpura consistente en *Veillonella parvula* y *Actinomyces odontolyticus*. Se identificaron otros dos grupos bacterianos formados por varias especies íntimamente relacionados con las afecciones periodontales: un complejo

anaranjado de tamaño considerable formado por múltiples miembros de los géneros *Prevotella*, *Fusobacterium* y *Campylobacter* así como *Streptococcus constellatus* y *Eubacterium nodatum*; y un complejo rojo que representa una proporción relativamente pequeña de la microbiota subgingival, constituido por tres bacterias anaeróbicas gramnegativas (*P. gingivalis*, *Tannerella forsythia* y *Treponema denticola*), que con frecuencia están elevadas en las muestras de placa adyacentes a lesiones periodontales. Es notable el hecho de que especies como *A. actinomycetemcomitans* serotipo b y *Selenomonas noxia* no se agruparon en ninguno de los anteriores consorcios bacterianos, aunque *A. actinomycetemcomitans* se relaciona fuertemente con periodontitis agresiva localizada. ⁽⁹⁾

4 BIOMARCADORES PARA LA ENFERMEDAD PERIODONTAL

El análisis de biomarcadores asociados con enfermedades en biofluidos, (plasma, sangre, suero, orina, saliva, líquido cefalorraquídeo, líquido sinovial, semen) ha ayudado en el diagnóstico clínico. ⁽¹⁴⁾. De este modo se considera una forma útil evaluar mediadores inflamatorios que conducen a la enfermedad periodontal. La saliva ofrece una fuente de muestra no invasiva y altamente accesible, y también contiene biomarcadores potenciales de la enfermedad periodontal. ⁽¹⁴⁾.

En un estudio se evaluaron publicaciones de la base de datos Science Citation Index (SCI) específicamente de artículos que refieran biomarcadores y enfermedad periodontal para cuatro tipos de biofluidos (suero, plasma, saliva y líquido crevicular) entre 1996 y 2010. Del total de 2245 artículos, el número de publicaciones de artículos originales referentes a suero fue de 1137, plasma 470, fluido crevicular 256 y saliva 713. La mayoría de biomarcadores encontrados palabras clave en las categorías de suero, plasma, saliva y fluido crevicular fueron: la proteína

C reactiva (CRP), la interleucina 6 (IL-6), la inmunoglobulina A (IgA) y la interleucina 1b (IL -1b). Los factores inflamatorios, como la familia de las interleucinas y la familia de las metaloproteinasas de matriz, también aparecieron en los diez principales. ⁽¹⁴⁾ Incluso como marcadores de la degradación del tejido conectivo se han encontrado la sobreexpresión de las enzimas metaloproteinasas de matriz 8 y 9 y la aspartato aminotransferasa, la cual es una enzima liberada durante procesos de muerte celular. ⁽¹¹⁾

Se puede verificar que las actividades de investigación se amplían cada año mostrando interés en el tema de investigación de "enfermedad periodontal" y "biofluidos". ⁽¹⁴⁾

4.1 BIOMARCADORES INFLAMATORIOS

Dado el componente inflamatorio, de destrucción de los tejidos y presencia de microorganismos, se han propuesto que una combinación de moléculas y células dentro de estas categorías pueden constituir potenciales biomarcadores para la detección, monitoreo y predicción de la enfermedad. ⁽¹¹⁾

La interleucina-6 una citocina proteolítica está involucrada en respuestas inflamatorias y de regulación de la inmunidad. El incremento de ésta citocina se ha correlacionado con la gingivitis y está presente en personas con periodontitis a diferencia de personas sanas. La IL-6 estimula la diferenciación de osteoclastos y la resorción de hueso. También se correlaciona con la destrucción de tejidos de soporte dental y tejidos periimplantares. ⁽¹¹⁾ La interleucina 1-Beta (IL-1B) es un potente estimulador de la inflamación y se han observado valores altos de IL-1B en presencia de enfermedad periodontal. En más estudios que se han realizado se ha correlacionado con la progresión de la enfermedad

periodontal considerandose para ser un buen biomarcador potencial que puede discernir sitios activos o inactivos de la enfermedad. ⁽¹⁵⁾

Así mismo el Factor de Necrosis Tumoral-alfa (TNF-alfa) es otro mediador de inflamación e inmunidad, que se ha correlacionado a la estimulación de respuestas inflamatorias sistémicas y de inhibir la síntesis de colágeno óseo y la inducción de colagenasas. ⁽¹¹⁾

4.2 BIOMARCADORES DE LA DEGRADACIÓN

Como marcadores de la degradación del tejido conectivo se han encontrado la sobreexpresión de las enzimas metaloproteinasas de matriz 8 y 9 y la aspartato aminotransferasa, la cual es una enzima liberada durante procesos de muerte celular ⁽¹¹⁾ y por esto es liberada durante la lesión celular y asociada a la progresión de la enfermedad.

Por su parte, la fosfatasa alcalina está asociada a las calcificaciones y se aumenta en presencia de enfermedad periodontal. ⁽¹¹⁾

4.3 MICROORGANISMOS COMO BIOMARCADORES ASOCIADOS A ENFERMEDAD PERIODONTAL

Dentro de los microorganismos asociados a la enfermedad periodontal y, los cuales también podrían ser biomarcadores del estado de enfermedad, tenemos a las bacterias *Porphyromonas gingivallis*, *Agregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia* y *Treponema denticolla*. ⁽¹¹⁾

Cuadro. 4 Características de las principales bacterias asociadas a enfermedad periodontal. ⁽⁹⁾, ⁽¹⁶⁾

Bacteria	Morfología	Gram	Aerobia/Anaerobia
Porphyromona gingivallis	Cocobacilo	Gram negativa	Anaerobia estricta
Agregatibacter actinomycetemcomitans	Cocobacilo	Gram negativa	Anaerobia facultativa
Tanerella forsythia	Fusiforme	Gram negativa	Anaerobia estricta
Treponema denticolla	Espiroqueta	Gram negativa	Anaerobia estricta

Porphyromonas gingivallis, es una bacteria del “complejo rojo de Socransky” que está cercanamente relacionada al desarrollo de enfermedad periodontal. ⁽¹¹⁾ Existen diferentes estudios que demuestran que componentes de su membrana celular externa, como lipopolisacáridos, son potentes inductores de inflamación crónica y asimismo se ha asociado su abundancia al desarrollo de estas enfermedades, lo que la pone de manera relevante como un microorganismo que podría ser biomarcador. La relación salival de *Porphyromonas gingivalis* (relación: recuentos de *P. gingivalis* / recuento total de bacterias) puede ser un indicador potencial de la progresión de la periodontitis. ⁽¹³⁾ Por esto se han desarrollado kits para cuantificar de manera rápida y simple la presencia de esta bacteria. ⁽¹¹⁾ El kit puede detectar cepas aisladas de laboratorio y clínicas de *P. gingivalis* en concentraciones De 5×10^4 a 5×10^5 CFU · mL⁻¹ y dar un resultado dentro de los primeros 90 segundos. En comparación con la tecnología de

PCR en tiempo real, el kit de *P. gingivalis*-saliva es rápido y tiene una sensibilidad de 92% y una especificidad del 96%.⁽¹¹⁾

Algunos estudios determinaron que los patógenos de la placa subgingival eran indicadores útiles de la progresión de la enfermedad periodontal. El seguimiento de las proporciones de *P. gingivalis* y *Treponema denticola* en la placa subgingival tenía el potencial de ayudar a identificar los sitios en riesgo significativo de progresión de la periodontitis. Los niveles de bacterias del complejo rojo de Socransky (*P. gingivalis*, *Tannerella forsythia* y *T. denticola*) en la placa subgingival tenían una fuerte relación con los parámetros clínicos.⁽¹³⁾

Los niveles más altos de *P. gingivalis*, *Prevotella intermedia* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* en la placa subgingival parecen estar relacionados con un mayor riesgo de progresión de la periodontitis.⁽¹³⁾

En un estudio realizado en 163 pacientes con periodontitis crónica dándoles seguimiento cada 3 meses durante 24 meses para identificar la progresión de la enfermedad, evaluando los marcadores bacteriológicos presentes en placa subgingival incluyendo: *P. gingivalis*, *P. intermedia*, y *A.actinomycetemcomitans*, entre los pacientes tratados por periodontitis crónica que presentaron o no progresión de la enfermedad durante los 2 años de seguimiento. Definiendo también los valores diagnósticos para indicar la progresión y la estabilidad de la periodontitis, incluyendo la comparación entre los niveles de patógenos periodontales en la placa subgingival de las bolsas más profundas comparados a los de la saliva.⁽¹³⁾

De los 163 pacientes de seguimiento incluidos en el estudio, 32 abandonaron durante el período de estudio debido a una variedad de causas y otros 7 se retiraron debido al uso de agentes antimicrobianos durante el estudio para el tratamiento de abscesos periodontales agudos. Al final, 124 sujetos completaron con éxito el protocolo del estudio. De los

124 pacientes que completaron el protocolo del estudio, 62 pacientes (50%) presentaron progresión de la enfermedad, mientras que el mismo número de pacientes (50%) presentó enfermedad estable. ⁽¹³⁾

Además en dicho estudio el área bajo la curva de los recuentos de *P. gingivalis* fue la más grande entre todos los marcadores evaluados. Indicando así que los recuentos de *P. gingivalis* de la placa subgingival de bolsas periodontales podrían ser utilizados como indicadores de la progresión de la periodontitis. ⁽¹³⁾

4.4 METABOLITOS COMO BIOMARCADORES DE ENFERMEDAD PERIODONTAL

Además se han estudiado los niveles de adrenomedulina (AM) y óxido nítrico (NO) en la saliva y del fluido crevicular gingival de pacientes con gingivitis, periodontitis agresiva y periodontitis crónica comparados con controles sanos. Se reporto la existencia de altas concentraciones de óxido nítrico en los pacientes con periodontitis agresiva y concentraciones altas en los pacientes con cualquier tipo de periodontitis a diferencia de los que solo presentaban gingivitis. De ésta manera se consideró también potencial para diagnóstico periodontal al óxido nítrico y la adrenomedulina. ⁽¹¹⁾

5 CARIES DENTAL

La caries dental es una enfermedad infecciosa multifactorial que lleva a la pérdida de minerales de los tejidos duros de los dientes y posteriormente a la destrucción de las estructuras dentales. ⁽¹⁷⁾

También se le ha definido como: enfermedad infecciosa multifactorial causada por interacciones complejas entre las bacterias productoras de ácido, los carbohidratos fermentables y factores del huésped, como la saliva. ⁽¹⁸⁾

5.1 PREVALENCIA EN EE. UU.

Se le considera un problema de salud importante a nivel mundial. En E.E.UU, tiene una prevalencia de más del 40 por ciento en los niños, jóvenes y alrededor del 90 por ciento en los adultos. ⁽¹⁸⁾

5.2 PREVALENCIA EN MÉXICO

En México se realiza un estudio por el Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Patologías Bucales en donde la prevalencia de caries del total de la población examinada, fue de 96.4%.⁽¹⁹⁾ Así mismo, se estudió esta enfermedad en relación con la edad, encontrándose que en todos los grupos fue superior al 90%. El grupo con el porcentaje más bajo fue el de la población de 20 a 24 años con un 91.0 %, y se detectó una coincidencia en la cifra más elevada en cuatro grupos, los que van de 45 a 64 años con un 98.7 %. En nuestro país los pacientes de 2 a 10 años tienen un promedio de caries en dentición primaria de cuatro dientes afectados, los pacientes de 6 a 19 años cinco dientes permanentes y los adultos mayores de 20 años, 13 dientes afectados en promedio. Esto trae como consecuencia que los adultos mayores conserven, en el 93% de los casos, cuando mucho 20 dientes. ⁽¹⁹⁾

5.3 CLASIFICACIÓN DE CARIES DENTAL

Cuadro 5. Clasificación de caries de la ADA

Sistema de clasificación de caries de la Asociación Dental Americana ⁽²⁰⁾						
	Sano	Inicial	Moderado	Avanzado		
Presentación clínica	No hay lesión clínica detectable. El tejido dental se aprecia normal en cuanto a color, translucidez y brillo.	Primera lesión clínicamente detectable compatible con desmineralización leve. Lesión limitada al esmalte o a la desmineralización superficial del cemento / dentina. La forma más suave es detectable sólo después del secado. Cuando están establecidas y activas, las lesiones pueden ser blancas o marrones y el esmalte ha perdido su brillo normal	Signos visibles de ruptura del esmalte o signos de que la dentina es moderadamente desmineralizada	El esmalte está completamente cavitado y la dentina está expuesta. La lesión de la dentina está profundamente desmineralizada		

Otra calificación	Sin cambio de superficie o adecuadamente restaurado	Visualmente no cavitado	Cavitación temprana, cavitación superficial, microcavitación	Propagación / diseminación, cavitación profunda tardía
--------------------------	--	--------------------------------	---	---

Dentina Infectada	Ninguna	Improbable	Posible	Presente
--------------------------	----------------	-------------------	----------------	-----------------

Fig. 5 Sistema de clasificación de caries de la ADA

Sistema de clasificación de caries de la Asociación Dental Americana. (17)							
	Sano	Inicial		Moderado		Avanzado	
Aspecto de las superficies oclusales (fosetas y fisuras)	ICDAS 0	ICDAS 1	ICDAS 2	ICDAS 3	ICDAS 4	ICDAS 5	ICDAS 6
							
Superficies lisas accesibles, incluyendo la cervical y la raíz							

Fig. 5 El sistema de notación ICDAS (International Caries Detection and Assessment System) vincula la visión clínica de las lesiones de caries oclusales con el grado histológicamente determinado de penetración dentinaria utilizando las pruebas reunidas y publicadas por la Fundación ICDAS durante la última década; ICDAS también tiene un menú de opciones, incluyendo 3 niveles de clasificación de lesión de caries, puntuación radiográfica y un sistema integrado de gestión de caries basado en el riesgo ICCMS (Clasificación Internacional de Caries y Sistema de Manejo).⁽²⁰⁾

6 BIOMARCADORES PARA CARIES DENTAL.

Muchos componentes de la saliva se han asociado con el riesgo de caries de un individuo. Los compuestos orgánicos e inorgánicos del sistema de defensa salival podrían ser factores significativos que contribuyen a la caries. De ésta manera la saliva se ha visualizado como una fuente potencial de para la caries dental. ⁽¹⁷⁾ Estos biomarcadores salivales pueden explotarse para la predicción, el diagnóstico, el pronóstico y el manejo de la caries dental, así como para evaluar el resultado de los regímenes terapéuticos. ⁽¹⁷⁾

6.1 MICROORGANISMOS COMO BIOMARCADORES DE LA CARIES DENTAL.

Un factor etiológico primario de la caries bien definido es la producción de ácidos orgánicos a partir del metabolismo de carbohidratos por las bacterias en la saliva y la placa. Las bacterias que se asocian al desarrollo de la caries están generalmente presentes en cantidades relativamente pequeñas en la saliva y la placa sanas. Sin embargo, bajo perturbaciones ecológicas tales como la mayor frecuencia de consumo de carbohidratos fermentables, las condiciones de pH ácido favorecerán la proliferación de bacterias tolerantes y formadoras de ácidos. Cuando las bacterias cariogénicas dominan la saliva y la placa, se producen más ácidos a velocidades aún más rápidas, aumentando así la prevalencia de estas bacterias. ⁽¹⁸⁾. Así los niveles de especies cariogénicas presentes en saliva son una herramienta potencial para la evaluación de riesgo de caries dental.

ESTREPTOCOCOS

Los estreptococos orales asociados a caries son llamados *Streptococcus mutans*. Entre los rasgos fisiológicos de estos, esta su capacidad para la síntesis de polisacáridos extracelulares a partir de sacarosa, lo que fomenta su firme adhesión a los dientes y promueve la agrupación de células, fermentación rápida de carbohidratos a ácidos y tolerancia a pH bajo. ⁽¹⁸⁾ ⁽¹⁷⁾

Los Estreptococos incluyen bacterias de siete especies: *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus cricetus*, *Streptococcus rattus*, *Streptococcus ferus*, *Streptococcus macacae* y *Streptococcus downei*. ⁽¹⁷⁾

Estudios han demostrado que el aumento de las proporciones de estreptococos mutans y lactobacilos en la saliva se correlacionan con el aumento de la caries de iniciación y progresión respectivamente así como la presencia de caries en raíz. ⁽¹⁸⁾ Estudios previos apoyan una correlación significativa entre su concentración en saliva y su proporción en placa, permitiendo así que la cuantificación en saliva sea una alternativa legítima para evaluar el riesgo de caries. ⁽¹⁷⁾

Thenisch y cols., Recopilaron 981 informes evaluando la asociación de *S. Mutans* y caries en niños en edad preescolar y concluyeron que la presencia de este género en saliva de niños jóvenes sin caries parece estar asociada con un aumento considerable en el riesgo de caries posterior. En cuanto a la relación entre la caries en la primera infancia y *S. mutans*, Parisotto y cols., también llevaron a cabo una revisión sistemática concluyendo que su nivel en saliva es un indicador de riesgo para caries en la primera infancia. ⁽¹⁸⁾

En cuanto al umbral predictivo de los estreptococos mutans, no se han establecido valores absolutos para categorizar un valor alto o bajo. Por

ejemplo, Krasse y Fure propusieron que los estreptococos mutans por mililitro de saliva podían considerarse de alto valor en una persona con sólo unos pocos dientes y sin restauraciones. Sin embargo, puede que no sea de alto valor en una persona con muchas restauraciones. En cuanto a los lactobacilos, los recuentos de 10^4 UFC / ml en la saliva se consideran bajos; Los valores altos serían iguales o superiores a 10^6 UFC / ml en saliva. ⁽¹⁸⁾

Los estudios sobre sensibilidad, es decir, la probabilidad de que los individuos con caries activa tengan valores altos para *S. mutans* o lactobacilos, variaron del 44% al 71% y son más bajos que su especificidad (56% al 100%), es decir, la probabilidad de que los individuos sin nuevas caries o una baja incidencia de caries tienen valores bajos para estas especies. Esto sugiere que el valor predictivo negativo podría ser más preciso en comparación con el valor predictivo positivo. ⁽¹⁸⁾

El valor predictivo del nivel en saliva de *S. mutans* ha sido evaluado en muchos estudios; Sin embargo, los resultados no son consistentes. Aunque algunos estudios encontraron una asociación significativa entre los niveles salivales de los estreptococos mutans y el posterior inicio de la caries, otros estudios no revelaron una clara asociación entre ellos. Las discrepancias observadas también podrían deberse a los diferentes métodos utilizados para detectar los niveles de ésta bacteria.

Yang y cols. ⁽²¹⁾ mostraron mediante el estudio del microbioma oral de 19 sujetos con caries activa vs. 26 sujetos sanos libres de la enfermedad se observa la sobreabundancia de bacterias del género *Prevotella*.

El objetivo de estos estudios es el poder desarrollar indicadores microbianos de caries, tanto para diagnósticar como predecir la enfermedad en sujetos que se consideren sanos. ⁽¹⁸⁾

Las especies de lactobacilos también se correlacionan en la progresión de la caries dental, aunque no se le consideran iniciadores de la misma, en pruebas de saliva ésta especie bacteriana se relaciona también a ambientes ácidos, siendo un indicador de una dieta cariogénica. ⁽¹⁷⁾ Ésta especie bacteriana no coloniza con avidez el esmalte dental, en cambio a menudo se ha cultivado a partir de lesiones cariosas establecidas. ⁽¹⁸⁾

También hay evidencia que relaciona *Actinomyces spp* con el inicio de la caries superficial de las raíces. ⁽¹⁷⁾ Se ha demostrado que las bacterias de este género inducen caries radicales en los animales y también pueden metabolizar los carbohidratos pero no son particularmente acidogénicos ni tolerantes a los ácidos en comparación con el *S. mutans* y *Lactobacillus*. ⁽¹⁸⁾

De igual manera algunos estudios apoyan una asociación significativa entre la caries dental y la presencia y los niveles de *C. albicans* en saliva. ⁽¹⁷⁾ La presencia de especies de *Cándida* en la cavidad oral se asocia con una mala higiene oral y una alta ingesta de carbohidratos. Los estudios de las especies de *cándida* sugieren su potencial cariogénico ya que exhiben propiedades heterofermentativas acidogénicas, especialmente en presencia de carbohidratos, y la coagregación con otras bacterias en las biopelículas. ⁽⁵⁾

Cuadro 6. Características de microorganismos posibles biomarcadores de caries dental. ⁽⁹⁾

Microorganismo	Morfología	Gram	Aerobia/Anaerobia
<i>Streptococcus mutans</i>	Cocos	Positivo	Anaerobia facultativa
<i>Lactobacillos</i>	Bacilos	Positivo	Anaerobia facultativa
<i>Actinomyces spp</i>	Bacilos	Positivo	Microaerofílico/ Anaerobio
<i>Candida albicans</i>	Levadura	Positiva	Aerobia estricta

6.2 EVALUACIÓN DEL RIESGO DE CARIES MEDIANTE EL ANÁLISIS DE FACTORES INHERENTES AL HUÉSPED Y RELACIONADOS CON LA SALIVA

6.2.1 FLUJO SALIVAL

El tiempo promedio para la depuración de la saliva es mucho más corto que el tiempo requerido para la división celular de bacterias orales. La baja tasa de flujo salivar es un factor de riesgo para la incidencia de caries. Las alteraciones más frecuentes en el flujo salival implican reducción de la secreción, que puede estar influida por medicamentos, cambios patológicos en las glándulas salivales y edad, etc. Se considera un factor de riesgo potencial cuando la tasa de flujo salival no estimulada

es inferior a 0,30 ml / min y el flujo salival estimulado es inferior a 0,7 ml / min. ⁽¹⁸⁾

6.2.2 PH Y CAPACIDAD BUFFER. ⁽¹⁸⁾

Los estudios demuestran mayor tasa de producción de ácido en individuos con caries activa a diferencia de individuos sin caries. La evaluación cuantitativa de la resistencia al cambio del pH se denomina capacidad buffer. Las pruebas indican que la capacidad buffer protege los dientes de la caries, así mismo que la baja capacidad buffer protege suele relacionarse con desarrollo de caries debido al deterioro en la neutralización de ácidos de la placa y la remineralización atenuada de lesiones precoces en el esmalte dental. Además se ha demostrado una asociación entre niveles bajos de caries y alta capacidad buffer. Los individuos con capacidad buffer alta suelen ser presentar cierta resistencia a la caries. ⁽¹⁸⁾

6.2.3 Proteínas salivales

MUC7

Las mucinas salivales juegan un papel importante en la salud de la cavidad oral. Una disminución de los niveles de MUC7, una de las mucinas predominantes en la saliva se asocia con el aumento significativo de *S. mutans*, lo que plantea la posibilidad de que en reducción de los niveles de MUC7 podría servir como un predictor importante en la evaluación del riesgo de caries para los adultos mayores. ⁽¹⁸⁾

PRPs

Existen resultados contradictorios en términos de encontrar una relación entre la prevalencia de caries y las proteínas salivares ricas en prolina (PRPs) ⁽¹⁷⁾

Las glicoproteínas salivales participan en la formación de la película de esmalte adquirida. Los oligosacáridos específicos de las glicoproteínas salivales podrían facilitar la unión bacteriana y la colonización en la superficie de los dientes o proteger contra la colonización promoviendo la aglutinación y la eliminación de bacterias libres. Basado en el patrón de oligosacáridos determinados genéticamente presentes en las glicoproteínas salivales, Denny y cols., desarrollaron una nueva prueba de saliva para evaluar el riesgo de caries, y encontraron que los niveles de oligosacáridos seleccionados correlacionaron con la incidencia de caries en adultos jóvenes. ⁽¹⁸⁾

Los bajos niveles salivales de alfa-defensinas HNP1-3 pueden representar un factor biológico que contribuye a la susceptibilidad de caries en los niños. ⁽¹⁸⁾

Utilizando un enfoque proteómico, Rudney y cols. Sugirieron que los niveles salivales de estaterina y cistatina S pueden ser indicadores potenciales de riesgo para el desarrollo de caries. ⁽¹⁸⁾ Ya que se detectaron niveles más altos de estaterina y cistatina S en niños sin caries. ⁽¹⁸⁾

6.2.4 INMUNOGLOBULINAS COMO BIOMARCADORES

Las inmunoglobulinas en la saliva pertenecen principalmente a la subclase IgA (> 85%) y, en menor medida, a las subclases IgG e IgM. ⁽¹⁷⁾

Las respuestas de anticuerpos IgA salivales a los estreptococos mutans se pueden observar en la primera infancia. Los niveles de IgA secretoras específicas (SIgA) mostraron una relación con el riesgo de caries, y la literatura está dividida casi por igual para y contra un papel anticaries para SIgA específica. ⁽¹⁸⁾

Mientras que algunos estudios informan una relación inversa entre la concentración de IgA salival total y la presencia de caries, una correlación positiva o ninguna relación, los hallazgos de estos estudios no mostraron un patrón consistente. ⁽¹⁷⁾ La controversia también permanece en la investigación sobre IgG e IgM como biomarcadores para la caries. Una relación inversa entre la IgG salival total y el número de superficies que presentan caries y una asociación positiva entre la IgG específica y el incremento de caries se han reportado en un estudio longitudinal de 2 años. Sin embargo, otros estudios no mostraron correlación entre la IgG y la caries. ⁽¹⁷⁾ Un papel protector de las IgG anti estreptocócicas contra la colonización de *S. mutans* y la caries ha sido sugerido por algunas pruebas experimentales. Sin embargo, en otro estudio, el nivel de IgG anti estreptococos mutans parecía ser directamente proporcional a la incidencia de caries, refutando la especulación sobre el papel protector de las IgG anti estreptocócicas. ⁽¹⁷⁾

Los estudios sobre la relación entre inmunoglobulinas y caries tienen varias limitaciones metodológicas que hacen difícil sacar conclusiones. La mayoría de los estudios son transversales con un pequeño número de

sujetos. Esto puede limitar el poder estadístico y la posibilidad de establecer cualquier relación.⁽¹⁷⁾

6.2.5 METABOLITOS COMO BIOMARCADORES DE LA CARIES DENTAL

Entre muchos biomarcadores en la saliva, ha habido un creciente interés en el papel de nitratos y nitritos en la protección contra la caries dental. Aunque el óxido nítrico y sus metabolitos, nitratos y nitritos, se han asociado con efectos deletéreos en los seres humanos durante muchos años, la evidencia reciente sugiere el papel antimicrobiano del óxido nítrico en la cavidad oral.⁽²²⁾

Mediante la acción de la enzima nitrato reductasa en la boca, los nitratos se reducen rápidamente a nitritos. Éstos pueden entonces acidificarse a través del encuentro con micro flora de placa incluyendo *Lactobacillus*, *Streptococcus mutans* y *Actinomyces*. La acidificación de los nitritos produce una mezcla compleja de óxidos de nitrógeno y ácido nitroso. El óxido nitroso es inestable y se descompone rápidamente para producir óxido nítrico. Como el óxido nítrico es un radical altamente reactivo, está implicado en los mecanismos de defensa naturales no específicos de la cavidad oral para prevenir el sobrecrecimiento bacteriano. Se piensa que el óxido nítrico tiene un efecto antibacteriano ya sea por inhibición del crecimiento bacteriano y / o por citotoxicidad mediada por macrófagos. Syed y cols. realizaron un estudio que incluyó a 100 niños de edades comprendidas entre 6-12 años. De estos, 50 niños tenían caries activas y 50 niños libres de caries, para determinar niveles de óxido nítrico en saliva.

El valor promedio del óxido nítrico salival para el grupo de caries activa fue $335,4 \pm 111,2$ lg / mL y para el grupo sin caries fue de $581,3 \pm 134,6$ lg / mL, encontrando que el nivel de óxido nítrico salivar del grupo sin caries era significativamente más alto que el grupo con caries activo. De esta manera se considera que el óxido nítrico puede utilizarse en el futuro como biomarcador para evaluar el riesgo de caries del niño. ⁽²²⁾

7. CONCLUSIONES

La saliva es un medio atractivo y factible para la búsqueda de biomarcadores que incluye a las enfermedades más frecuentes en cavidad oral (caries y enfermedad periodontal).

Los biomarcadores para estas enfermedades, no sólo servirán para el diagnóstico, sino también para otros aspectos como pronóstico, evaluación de terapia.

La naturaleza de los biomarcadores es muy variable, pues se han descrito moléculas como ADN, ARN, proteínas, metabolitos, etc.

Actualmente no existe ningún biomarcador validado tanto para enfermedad periodontal como caries.

Sin embargo, algunos biomarcadores (como IL-1 beta, IL-6, MMP-8, MMP-9, Streptococcus y Lactobacillus), han sido replicados en diferentes estudios, lo que muestra su potencial y posible futura aplicación.

El campo de búsqueda de biomarcadores es muy reciente pues apenas se han desarrollado las tecnologías para su estudio de los diferentes biofluidos.

Todos estos estudios se han realizado en países líderes en investigación y no es de nuestro conocimiento, que alguno se haya o se este realización en el nuestro país (México).

Es importante incorporar este conocimiento en odontología pues marcará la pauta del diagnóstico, pronóstico, etc., de las enfermedades orales.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Antonozzi I, Gulletta E. Medicina de laboratorio : fundamentos y aplicaciones en el diagnóstico clínico. Buenos Aires ; Madrid etc.: Panamericana; 2016. XXV, 1144 p. p.
2. Loo JA, Yan W, Ramachandran P, Wong DT. Comparative human salivary and plasma proteomes. *J Dent Res.* 2010;89(10):1016-23.
3. Zhang CZ, Cheng XQ, Li JY, Zhang P, Yi P, Xu X, et al. Saliva in the diagnosis of diseases. *Int J Oral Sci.* 2016;8(3):133-7.
4. Bagán Sebastián JV, Jiménez Soriano Y. Fisiopatología de las glándulas salivales. 1* ed. Valencia: Medicina oral; 2010. 359 p. p.
5. Gao Y. Urine proteomics in kidney disease biomarker discovery. Springer, editor. New Jersey 2015.
6. Preedy VR; Pattel V.B, General methods in biomarker research and their applications. Springer, editor 2015.
7. Barallobre-Barreiros, J. Chung, Y.L. Proteomic and metabolomic approaches to biomarker discovery. Elsevier, editor. London 2015.
8. Llombart Sebastià V, Montaner Villalonga J, Hernández Guillamón MdM, García Dorado D. Aplicaciones proteómicas para el descubrimiento de biomarcadores diagnósticos en ictus [Tesi doctoral - Universitat Autònoma de Barcelona, Departament de Biologia Animal, Biologia Vegetal i Ecologia, 2016] 2016.
9. Lamont RJ, Hajishengallis GN, Jenkinson HF. Oral microbiology and immunology. 2nd ed ed. Washington, D.C.: ASM; 2014. XXVI, 504 p. p.
10. Barallobre-Barreiro J, Chung YL, Mayr M. Proteomics and metabolomics for mechanistic insights and biomarker discovery in cardiovascular disease. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed).* 2013;66(8):657-61.
11. Korte DL, Kinney J. Personalized medicine: an update of salivary biomarkers for periodontal diseases. *Periodontol 2000.* 2016;70(1):26-37.
12. Rojo B.N.R; Flores E. A; Arcos C.M. Prevalencia, severidad y extensión de periodontitis crónica. *Revista Odontológica Mexicana* 2011;15(1):31-9.
13. Kakuta E, Nomura Y, Morozumi T, Nakagawa T, Nakamura T, Noguchi K, et al. Assessing the progression of chronic periodontitis using subgingival pathogen levels: a 24-month prospective multicenter cohort study. *BMC Oral Health.* 2017;17(1):46.
14. Pei-Huan Lin, Shu-Kai Yeh, We C H, H-Y C, Ch-H C, Jo-R S, et al. Research performance of biomarkers from biofluids in periodontal disease publications. *Journal of Dental Sciences.* 2015;10(1):61-7.
15. Gomes FI, Aragao MG, Barbosa FC, Bezerra MM, de Paulo Teixeira Pinto V, Chaves HV. Inflammatory Cytokines Interleukin-1beta and Tumour Necrosis Factor-alpha - Novel Biomarkers for the Detection of Periodontal Diseases: a Literature Review. *J Oral Maxillofac Res.* 2016;7(2):e2.

16. Valero G. P. L. Bacterias de interés odontológico. Murcia: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Murcia; 2015. 86 p. p.
17. Gao X, Jiang S, Koh D, Hsu CY. Salivary biomarkers for dental caries. *Periodontol 2000*. 2016;70(1):128-41.
18. Guo L, Shi W. Salivary biomarkers for caries risk assessment. *J Calif Dent Assoc*. 2013;41(2):107-9, 12-8.
19. Mejía AMG. Perfil epidemiológico de la salud bucal en México 2010. In: salud Sd, editor. D.F. : SINAVE ; 2011. p. 101.
20. Young DA, Novy BB, Zeller GG, Hale R, Hart TC, Truelove EL, et al. The American Dental Association Caries Classification System for clinical practice: a report of the American Dental Association Council on Scientific Affairs. *J Am Dent Assoc*. 2015;146(2):79-86.
21. Yang F, Zeng X, Ning K, Liu KL, Lo CC, Wang W, et al. Saliva microbiomes distinguish caries-active from healthy human populations. *ISME J*. 2012;6(1):1-10.
22. Syed M, Sachdev V, Chopra R. Intercomparison of salivary nitric oxide as a biomarker of dental caries risk between caries-active and caries-free children. *Eur Arch Paediatr Dent*. 2016;17(4):239-43.