

Métodos avanzados de diagnóstico de la enfermedad periodontal

Faeda RS, Traverso Martínez AE, Rossa Jr. C. Métodos avanzados de diagnóstico de la enfermedad periodontal. Rev Estomatol Herediana 2003;13(1-2) : 50 - 57.

RESUMEN

Históricamente la severidad de la enfermedad periodontal se establece mediante la evaluación del sangrado al sondaje, movilidad dentaria, profundidad de sondaje, pérdida de inserción clínica y destrucción de hueso alveolar. Con la introducción de sondas computarizadas y de digitalización de imágenes radiográficas, el diagnóstico clínico ha entrado a una nueva fase. Esta tecnología reciente proporciona medidas más precisas y sensibles sobre la progresión de la enfermedad ayudando al establecimiento de patrones para utilizar nuevos exámenes microbiológicos, inmunológicos y genéticos que permitan determinar sitios o pacientes de riesgo. Idealmente, estos métodos deben ser utilizados para detectar la enfermedad incipiente y monitorizar factores de riesgo. Sus parámetros de uso, sus límites y aplicaciones deben ser claramente explicados para una clara comprensión de su utilización clínica, así como en investigación. Esta revisión de la literatura proporcionará una visión general de los métodos de diagnóstico disponibles en la actualidad.

Palabras clave: Diagnóstico - Enfermedad periodontal - Tests microbiológicos - Tests inmunológicos.

Advanced diagnostic methods for periodontal disease.

ABSTRACT

Historically, periodontal disease severity includes, bleeding at probing, dental movement, depth at probing, loose of clinical insertion, and destruction of the alveolar dental bone, found upon clinical examination. This periodontal evaluation has changed with the appearance of computerized probes and digital images. These techniques give more accurate and sensitive measurements of the progression of periodontal disease and help to evaluate microbiologic, immunologic and genetic factors that may determine risk patients and areas for the disease. These methods must be used to detect when the disease is beginning and track risk factors. Their usage criteria, limits and applications must be clearly explained for their clinical usage comprehension and for investigation. This literature review will give a general vision of the actual diagnose methods.

Keywords: Diagnosis - Periodontal diseases - Microbiological tests - Immunological tests.

Introducción

La literatura actual reconoce a la enfermedad periodontal como un proceso iniciado por una infección microbiana seguida de la respuesta del huésped. Los signos clínicos aparecen con el tiempo como resultado del desequilibrio que se produce entre la respuesta del organismo y el agente infeccioso (5,7). Todo este proceso de interacción entre microorganismo-huésped se manifiesta clínicamente con períodos de exacerbación y remisión de la enfermedad (20).

El diagnóstico clínico de enfermedad periodontal incluye en primer lugar la evaluación de los signos clínicos de

inflamación, incluyendo alteraciones de color y textura del tejido gingival marginal, así como la tendencia al sangrado provocado por el sondaje. Las evidencias indican que los criterios tradicionales de diagnóstico como edema gingival, placa, sangrado y exudado presentan una especificidad favorable de 71-97%, pero su sensibilidad para detectar sitios con progresión activa es apenas de 42% (8). La extensión de la pérdida de las estructuras de inserción es hecha por las mediciones de la profundidad de bolsa y del nivel de inserción, juntamente con el examen radiográfico, el cual proporcionará la información respecto de la pérdida

ósea (4,17).

A pesar que por muchos años, el sondaje y las radiografías periapicales han formado la base del diagnóstico de la enfermedad periodontal, estos métodos están sujetos a errores, debido a que existe una gran variación entre sus aplicaciones y solo permiten diagnosticar la enfermedad después que ha ocurrido la destrucción de los tejidos (11,17). Recientemente gracias al desarrollo tecnológico han aparecido nuevos métodos de diagnóstico, cuyas características principales son las de proporcionar mayor información sobre la condición de la enfermedad periodontal al momento del examen. Estos métodos

Rafael S. Faeda¹
Aurora E. Traverso Martínez²
Carlos Rossa Jr.³

¹Bachiller en Odontología,
²Maestría en Periodoncia, Doctoranda del curso de Post-gradado en Periodoncia.

³Profesor Asistente Doctor, Departamento de Diagnóstico y Cirugía Oral, Disciplina de Periodoncia, Facultad de Odontología de Avanzada, Universidad del Estado de San Pablo (UNESP-FCAV), Brasil.

utilizan instrumentos para el diagnóstico clínico y de laboratorio.

Para el diagnóstico clínico existe: sondaje electrónico, sondaje manual con sensor de fuerza y medidor de temperatura del surco. Como instrumentos de evaluación de la condición ósea se tiene: radiografía de sustracción, técnicas de medicina nuclear, evaluación computarizada de la densidad ósea y resonancia magnética. Para la evaluación de laboratorio, en los aspectos microbiológicos se cuenta con: microscopio de campo oscuro, cultivo y sensibilidad microbiana, sondas de DNA, reacción de polimerasa en cadena (PCR) y ensayos inmunológicos como el test BANA. Para la evaluación de la respuesta del hospedero se dispone de indicadores de inflamación (interleucinas), marcadores de sangre periférica y análisis de sustancias como aspartameaminotransferasa (AST) en el fluido gingival.

En la presente revisión de la literatura se describen brevemente los diferentes métodos actuales de diagnóstico de la enfermedad periodontal así como sus indicaciones, ventajas y desventajas.

1. Sondaje automatizada y computarizada

Un gran número de nuevos dispositivos están siendo utilizados para la evaluación clínica precisa, estos incluyen diversas sondas periodontales, algunas

de las cuales están conectadas al computador para facilitar el análisis de los datos. Debido a la variedad de errores inherentes a las mediciones de la inserción o de la profundidad de bolsa se están utilizando sondas electrónicas con fuerza de inserción constante que permiten un mayor control sobre el principal factor de distorsión como es la presión aplicada (4,17,23).

La sonda Florida es una sonda computarizada frecuentemente utilizada en investigación (Fig. 1). Este dispositivo realiza una medición relativa de la pérdida de inserción, al adoptar como punto fijo de referencia la zona oclusal o incisal de los dientes, consiguiendo así controlar los errores de medición, su precisión es de hasta 99% en la pérdida de inserción en torno de 1mm. La sonda es conectada a un computador y los datos colectados son relacionados a través de un software (4, 6, 17, 23).

Así como la sonda Florida, existen otras sondas computarizadas para medir la profundidad de sondaje tales como la sonda Foster Miller, la cual toma como punto de referencia la unión cemento esmalte pudiendo detectar una diferencia mínima de hasta 0.2mm (23); otro instrumento es la sonda Interprobe, la cual es posicionada en el margen gingival y un fino filamento es introducido hasta alcanzar el fondo de la bolsa, consiguiendo medir con precisión hasta una diferencia de 0.5mm (17,18).

Otros dispositivos de menor costo

están surgiendo en el mercado, así se dispone de sondas manuales que controlan la fuerza de inserción en la tentativa de limitar los errores debidos a las diferencias generadas en la fuerza de sondaje. Entre estos se puede mencionar al Sensor Probe (Pro-Dentec) y la TPS Probe (Vivacare). Los estudios han indicado que el uso de una sonda con presión constante no resulta necesariamente en el perfeccionamiento de los resultados del examinador (17).

Si bien la sonda periodontal automatizada y computarizada es un test prometedor diagnóstico de la actividad de la enfermedad periodontal, se debe mencionar que ni este ni ninguno de los otros dispositivos están siendo adoptados por los clínicos debido a su alto costo y a la complejidad de su uso.

2. Cuantificador de Movilidad

Un signo de patología periodontal, importante para el diagnóstico es la movilidad dental. La movilidad dental es generalmente registrada en una escala semi-cuantitativa (0-3), donde "0" es considerada una movilidad normal en cuanto que "3" es considerada una movilidad severa con un mínimo de 3mm en sentido vestibulo-lingual.

Para reducir la imprecisión inherente a este tipo de análisis ha sido desarrollado, un dispositivo automatizado El Periotest (Siemens, Bensheim, Germany), el cual fue comercialmente introducido en 1986. Se trata de un dispositivo que mide el efecto del amortecimiento del periodonto cuando un diente es percutado con una fuerza pre establecida y el tiempo requerido para que el diente retorne a su posición original es medido en una escala de 0 a 50. Ocasionalmente son detectados valores negativos, determinando la ausencia de movimiento fisiológico (anquilosis). La escala propuesta por el fabricante indica que medidas por debajo de 10 unidades corresponde a ausencia de movilidad, medidas de 10 a 19 indican discreto movimiento, medidas de 20 a 29 están asociadas con movimiento visible, en cuanto medidas de 30 a 50 reflejan movilidad severa (4,11,17).

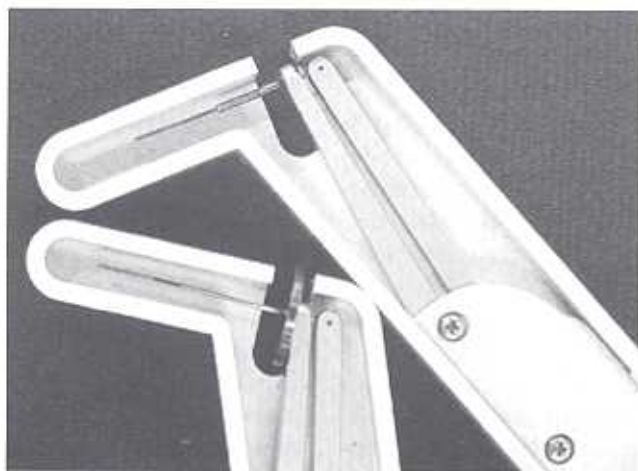


Fig. 1. Puntas activas de la sonda computarizada (Florida Probe)

La aplicación de este dispositivo para diagnóstico de enfermedad periodontal es compleja, pues si bien la movilidad dental está relacionada a la pérdida de soporte óseo alveolar, también puede ser causada por lesiones endodónticas agudas y problemas oclusales. Por consiguiente, a pesar que los datos recogidos por el Periotest son precisos e importantes, ellos no pueden ser considerados determinantes en el diagnóstico periodontal (11).

3. Examen radiográfico

Las radiografías muestran la altura del hueso alveolar y el contorno de la cresta ósea proporcionando información respecto de la altura y configuración del hueso alveolar interproximal. Como las radiografías ofrecen una medida de la gravedad de pérdida ósea en un tiempo, para determinar si la periodontitis está progresando se requieren radiografías en serie que permitan su comparación. El examen de radiografías subsecuentes evaluará la pérdida o ganancia ósea. Por otro lado, el examen radiográfico tiene la limitación de proporcionar imágenes bidimensionales, con superposiciones de estructuras que no permiten percibir muchas características anatómicas. Además, para que se detecten anomalías se requiere que el 30 a 60% del contenido de mineral óseo se haya perdido, de allí que las lesiones con leves destrucciones óseas que no presentan suficiente alteración en la densidad no pueden ser observadas en las radiografías.

3.1. Sustracción radiográfica digital

Esta técnica tiene como objetivo detectar pequeños cambios óseos que son invisibles al ojo del examinador, possibilitando la identificación de sitios específicos que necesitan intervención. Los pequeños cambios en la densidad ósea no son detectados por los métodos radiográficos convencionales debido a las grandes variaciones en las estructuras anatómicas y a los cambios de la densidad y contraste de la imagen radiográfica.

La técnica de sustracción radiográfica aumenta la detección de estructu-

ras óseas patológicas, mejorando significativamente la sensibilidad y precisión de la evaluación. La técnica de sustracción radiográfica consiste en la sustracción de todas las estructuras que no sufrieron modificaciones, en dos películas radiográficas diferentes, exhibiendo apenas las áreas donde ocurrieron modificaciones. El proceso de digitalización convierte el análogo contenido en la radiografía de transmisión en números que son proporcionales a la claridad de la radiografía en una posición particular. Este proceso puede ser realizado utilizando un sensor intraoral o indirectamente una cámara de video. Para el análisis se utiliza una computadora y un software. En la computadora se sustrae todas las estructuras presentes en la primera radiografía de la segunda radiografía, dejando apenas la pérdida ósea (oscuro) o ganancia ósea (claro). La localización de las alteraciones óseas pueden ser más fácilmente identificadas sobreponiéndose la imagen sustraída sobre la radiografía original. Estas imágenes sustraídas también pueden ser coloreadas para aumentar su nitidez. Con este método, la pérdida ósea asume el rojo y la ganancia ósea el color verde (7,22).

3.2. Técnicas de medicina nuclear

Las técnicas radiográficas son capaces de detectar alteraciones solo después que ha ocurrido una alteración en la arquitectura ósea. Por esta razón, han sido de considerable interés las técnicas que detectan los cambios en el metabolismo óseo antes que se produzca una alteración estructural que sea evidente en una radiografía.

Alrededor de 1970, Kaplan et al. propuso la hipótesis que las técnicas de medicina nuclear utilizadas en el estudio del metabolismo óseo, también podían ser aplicadas para el estudio de la reabsorción ósea en la periodontitis. Por el hecho que la reabsorción ósea puede ser acompañada por otras alteraciones de la superficie ósea, la medicina nuclear puede detectar cambios en el metabolismo óseo en procesos de reabsorción y de neo-formación ósea. Debido a que la periodontitis presenta pe-

riodos de reabsorción ósea, el análisis es hecho por el bone-seeking radiopharmaceutical uptake (BSRU), que indica si la pérdida ósea está ocurriendo en el momento del examen. Un diente con alto BSRU en un tiempo cero, significa una pérdida ósea significativa y un bajo BSRU poca pérdida ósea. El progreso de la medicina nuclear para determinar la actividad de la enfermedad periodontal es prometedor, especialmente en investigación, sin embargo en la actualidad no es aplicable en la práctica clínica.

3.3. CADIA (computer-assisted densitometric image analysis)

El análisis de la densidad por imagen auxiliada por computador es un nuevo método de la tecnología digital, que intenta demostrar precozmente cambios cuantitativos en la densidad del hueso alveolar. Ha sido utilizado con éxito para proporcionar mayores informaciones para el diagnóstico en áreas de difícil visualización.

La tomografía computadorizada (TC) y la resonancia magnética (RM) son importantes para el diagnóstico de lesiones y tumores de los maxilares sin embargo su aplicación en el diagnóstico de la enfermedad periodontal ha sido poco explorada.

El alto costo, la elevada exposición del paciente a los iones radioactivos, la necesidad de mantener el paciente inmóvil por largos períodos de tiempo y la presencia de artefactos de imagen dado por restauraciones metálicas, limitan el uso de la RM para el diagnóstico periodontal, (4).

4. Evaluaciones microbiológica

4.1. Microscopio de campo oscuro y contraste

La placa bacteriana subgingival es un acumulo complejo de diferentes tipos de bacterias. Las características morfológicas de los microorganismos han sido examinadas en la tentativa de desarrollar un método rápido y fácil de ser aplicado en la evaluación de la naturaleza de la placa subgingival. La técnica de microscopio de campo oscuro ha sido utilizada para evaluar individualmente las caracte-

terísticas morfológicas de los microorganismos de la placa bacteriana, siendo que los microorganismos de morfología redonda serían "cocos no móviles" y se encontraría en la placa de los sitios clínicamente saludables, por otro lado los microorganismos móviles del tipo espiral (espiroquetas) y bastones se encontrarían en placas de sitios con periodontitis. Este tipo de evaluación podría ser empleado para determinar cambios en la microbiota periodontal, principalmente en la fase de mantenimiento. Sin embargo, bacterias periodontopatógenas como *A. actinomycetemcomitans* y *P. gingivalis*, no pueden ser identificadas a través del microscopio. Por otro lado, este método también no determina la sensibilidad antimicrobiana de las especies detectables.

El microscopio por contraste, proporciona un tipo similar de análisis, sin embargo no analiza los microorganismos individualmente sino la movilidad de la placa. La ausencia de movilidad está relacionada con condiciones de salud, en cuanto que la placa en movimiento está asociada con enfermedad. Sin embargo algunos estudios sugieren que la presencia de movilidad no estaría íntimamente asociada con la actividad de la enfermedad (11,17,25).

4.2. Cultivo y Sensibilidad microbiana

En la clínica, el cultivo tiene la mejor y útil aplicación, siendo conocido como "gold standard" de la microbiología contra el cual todos las otras pruebas son comparadas y evaluadas. En este examen, la muestra de placa es tomada del paciente y enviada al laboratorio en donde las bacterias crecerán en un medio de cultivo adecuado y cuando sea necesario en condiciones anaerobias (Fig. 2).

La muestra es colectada y transportada en un medio especial, debiendo llegar al laboratorio en un día o dos para mantener la viabilidad de las bacterias. Después del periodo de incubación, los cultivos bacterianos son identificados a través de la observación de la morfología de las colonias; examen microscópico con tinción de Gram y de pruebas bioquímicas (19) (Fig. 3). Los patógenos más comunes son identificados y analizados en cuanto a su susceptibilidad a los antibióticos. Las informaciones sobre la composición de la placa y la susceptibilidad o resistencia a los microorganismos específicos; indica cuál antibiótico debe ser usado en conjunto con la terapia periodontal. La técnica del cultivo detecta microorganismos vivos, al contrario de las técnicas inmunodiagnósticas y moleculares, que pueden identificar anti-

genos o DNA bacteriano de células muertas sin significado clínico (3). A pesar de los avances tecnológicos, el cultivo continúa siendo un método trabajoso que consume bastante tiempo y su costo es elevado (11,17). Los microorganismos subgingivales son muy sensibles y pueden ser fácilmente afectados en la obtención de la muestra, dispersión, incubación y selección de los medios de cultivo, entre otros procedimientos técnicos.

4.3. Detección molecular

Existen dos técnicas importantes para la detección molecular: las sondas de DNA y la Reacción de Polimerasa en cadena (PCR). Ambas técnicas detectan secuencias e específicas de nucleótidos para identificar bacterias.

Sondas de DNA :

Todos los seres vivos contienen DNA, el cual está organizado en una doble cadena compuesta por nucleótidos complementarios ordenados en una secuencia específica que posee toda la información genética necesaria para la codificación de las proteínas. La incorporación de una molécula marcadora, usualmente la haptine, en una secuencia específica de nucleótidos, genera la llamada sonda de DNA, la cual puede ser usada para identificar



Fig. 2. Obtención de muestra con cono de papel para cultivo y análisis microbiológico (cono estéril, 30 segundos en el surco gingival)



Fig. 3. Colonia de *A. actinomycetemcomitans*, técnica de cultivo bacteriano en medio anaerobio, se observa la forma estrellada característica de esta colonia. (Foto cedida por el Dr. Rodrigo Rego)

bacterias patógenas específicas encontradas en la placa subgingival. Así, la característica de cualquier bacteria es determinada por el número de uniones entre las sondas y las bacterias. La señal generada por la unión entre la cadena complementaria de DNA y la sonda, es comparada con las señales generadas por las referencias conocidas, determinando así el tipo bacteriano. Este método ofrece varias ventajas:

- Es rápido, proporcionando resultados dentro de las 24 horas después del muestreo.
- Permite analizar un gran número de muestras para identificar una amplia variedad de especies bacterianas, pudiendo ser aplicado en investigaciones epidemiológicas.
- Pueden ser identificadas especies delicadas o bacterias que no crecen en medio de cultura (espiroquetas).
- Como no es necesaria la viabilidad de las bacterias, no es preciso que haya un rápido transporte para el laboratorio.
- Las membranas pueden ser re-sondadas si es necesario identificar otros tipos bacterianos en el futuro.
- El costo es menor que el del cultivo.

La desventaja de este procedimiento es su incapacidad para identificar especies inesperadas o no usuales, diferenciar bacterias vivas o muertas y determinar la susceptibilidad del organismo a determinado tipo de antibiótico. En los Estados Unidos existe el teste Microdent DMDx, el cual es encontrado comercialmente (11, 17, 23, 24).

Reacción de polimerasa en cadena (PCR):

El PCR es un método relativamente nuevo basada en los ácidos nucleicos, es capaz de detectar la presencia de hasta un microorganismo en la muestra escogida, por lo que se considera la prueba que posee la más alta sensibilidad dentro de todos los métodos microbiológicos.

La reacción de polimerasa en cade-

na, es un procedimiento rápido para la amplificación enzimática de un segmento específico del DNA, es como el clonaje molecular. Algunas de las aplicaciones de este método son: clonaje directa de DNA o RNA, bioingeniería, diagnóstico pre-natal de enfermedades genéticas y análisis forense.

La reacción de polimerasa en cadena (PCR) consiste en la amplificación de una región de la molécula de DNA (15). Este pedazo de DNA, es una secuencia conocida de nucleótidos (primers), específica para cada microorganismo. El producto de la amplificación del DNA, obtenido después de repetidos ciclos de desnaturación, anillamiento y extensión del DNA, indica la presencia del microorganismo buscado.

El PCR está siendo utilizado para la identificación de bacterias y virus asociados a la enfermedad periodontal (14). Es considerado un método práctico, rápido, presenta alta sensibilidad y especificidad, muestra un excelente límite de detección y no requiere de microorganismos viables. Además, cuando es realizado en condiciones ideales muestra poca reacción cruzada con microorganismos no buscados. Una prueba comercial basada en PCR es el Bioscan (Chile). A pesar de las ventajas del PCR, la técnica solo da resultados cualitativos indicando presencia o ausencia de patógenos. Por otro lado su alta sensibilidad puede detectar patógenos que no tienen importancia clínica, así como microorganismos no viables, que no poseen significado clínico (3). Además no es posible determinar el perfil de susceptibilidad antimicrobiana de los microorganismos detectados (21).

4.4. Métodos inmunológicos para identificación bacteriana

Las bacterias poseen proteínas en su superficie, algunas de las cuales son específicas para determinadas especies. Inyectando bacterias muertas en un animal de experimentación como un conejo, se produce el anticuerpo específico contra esas bacterias. Marcando ese anticuerpo con un agente fluorescente o colorimétrico, se puede

identificar a la bacteria en la muestra de placa. El sistema indicador resulta en un cambio de color o emisión de fluorescencia cuando el anticuerpo reacciona con la proteína específica de la superficie. Un ejemplo de esta prueba comercialmente disponible es Evalusite (Kodak) capaz de detectar tres especies bacterianas (*A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*). La muestra subgingival es obtenida y procesada en aproximadamente 10 minutos. Esta prueba, así como otras llamadas de inmunodiagnóstico, pueden ser consideradas rápidas y prácticas. Sin embargo, presenta límite de detección relativamente bajo, puede presentar reacción cruzada con otras especies bacterianas y no ofrece informaciones sobre resistencia o susceptibilidad antimicrobiana de las bacterias detectadas.

4.5. Prueba enzimática

Esta prueba detecta enzimas que son exclusivas de algunas especies bacterianas. De esta manera, la exposición de la muestra microbiana subgingival a sustratos que pueden ser solamente hidrolizados por una enzima específica, detectará a las bacterias que la producen. Es el caso de la enzima N-benzoyl-DL-arginine-2-naphthylamide (BANA) que es hidrolizada por una enzima semejante a la tripsina, enzima que es producida por un grupo de tres patógenos subgingivales (*Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus* y *Treponema denticola* y especies del género *Campylobacter*).

El producto de la hidrólisis es observado a través de una reacción cromogénica proporcional a la cantidad de enzimas presentes (13). Basados en esta metodología algunas pruebas se encuentran disponibles en el mercado internacional (BANA-TEST, SK-013, Perioscan). Estas pruebas son realizadas fácilmente en el consultorio en un período de tiempo razonable. La prueba consiste de un cartón con una tira de papel filtro impregnado con BANA, al cual se aplica la muestra de placa bacteriana. Una tira paralela impregnada con un agente cromogénico (sal de fast black K) es puesta encima, de manera que la tira de

BANA entra en contacto. El cartón es incubado a 55 °C por 15 minutos. Si el resultado es positivo, la tira cambia de color a azul-negro. Un resultado positivo significa probablemente, la presencia de microorganismos anaerobios en la región subgingival correspondiente a un sitio específico y este puede ser un factor predisponente para una futura pérdida de inserción. Además, una prueba positiva puede indicar la decisión de administrar un antibiótico.

En el presente, las pruebas microbiológicas deben ser consideradas como un instrumento importante para el diagnóstico de las infecciones periodontales. Las posibles indicaciones de estas pruebas, deben estar de acuerdo con las necesidades de cada caso y con las reconocidas limitaciones que cada tipo de metodología tiene. El beneficio del diagnóstico microbiológico debe depender del posible impacto que produce la información obtenida en las decisiones clínicas y de las consecuencias de estas en el tratamiento propuesto.

5. Respuesta del Hospedero, pruebas inmunológicas y genéticas

5.1. Evaluación del fluido crevicular

Los parámetros de respuesta del hospedero, parecen ser las informaciones más confiables sobre el inicio de la actividad de la enfermedad periodontal. Cuando son evaluados los parámetros clínicos, es probable que con el tiempo y la experiencia se desarrolle una gran sensibilidad de sondaje y se consiga detectar enfermedades incipientes, sin embargo la reacción del organismo es muy importante para permitir un diagnóstico precoz de la destrucción de los tejidos. Por tal razón, es importante analizar los mediadores específicos de la reacción inflamatoria en los tejidos, para utilizarlos como indicadores de la actividad de la enfermedad.

El fluido crevicular parece ser el vehículo ideal de los mediadores químicos (16). Algunas de las sustancias encontradas en el fluido, son producidas por los leucocitos polimorfonucleares (PMNs), macrófagos y células

plasmáticas. Los productos de interés de los PMNs incluyen: β -glucuronidasa, elastasa y colagenasa. Los factores macrófagos que se presentan como señales de actividad de la enfermedad incluyen, la interleucina 1 β (IL-1 β), interleucina 6 (IL-6) y factor de necrosis tumoral (TNF- α). Además de las mencionadas también la prostaglandina E2 (PGE₂) puede actuar como mediador general de la inflamación y la reabsorción ósea.

La actividad inmunológica se inicia con los PMNs, seguida por los macrófagos para culminar con la actividad de las células plasmáticas. Estas últimas son exclusivas de la periodontitis, y permiten la diferenciación clara entre gingivitis y periodontitis (5).

Se supone que la actividad de las células plasmáticas locales señala la conversión de la enfermedad latente en un proceso activo, ocasionando destrucción ósea, por tal razón es posible diferenciar la actividad de las células plasmáticas locales en relación a las células plasmáticas sistémicas, comparando el nivel de IgG del fluido crevicular con el del suero del mismo paciente. Si las tasas de Ig1 y Ig4 están elevadas en relación al suero, se tratará de un sitio activo de enfermedad, caso contrario, indicará latencia o ausencia de enfermedad (5).

Con la idea de que la enfermedad periodontal ocurre en múltiples sitios de acción y remisión, los estudios indican que la activación puede ser provocada por PMNs dando lugar a episodios de pérdida ósea, seguidos por períodos de latencia y remisión. El mismo argumento puede ser usado para la activación de macrófagos. La presencia de productos finales como la IL-1 β , TNF- α e IFN- α , que también actúan como moléculas inmunorregulatorias, podrían indicar la presencia de pérdida ósea.

La cuantificación de β -glucuronidasa, lactato deshidrogenasa y elastasa en el fluido crevicular es un indicador del flujo de neutrófilos en los tejidos y en el surco gingival. Estas células son rápidamente movilizadas en respuesta al acumulo bacteriano. Cuando un gran

número de estas células se acumula en un espacio limitado, ocurre pérdida de inserción y hasta un absceso. El uso de la β -glucuronidasa para probar la actividad de la enfermedad periodontal logra una sensibilidad y especificidad mayor de 80% (11, 12, 17, 23).

La elastasa también es proporcionada por los lisosomas de los PMNs, su presencia en niveles elevados en el fluido, es un indicador de actividad de la enfermedad. El Prognos Stik (Dentsply) es una prueba experimental recientemente desarrollada para evaluar el nivel de elastasa en el fluido crevicular. El fluido crevicular es colectado en una tira de filtro impregnada con una cantidad conocida de sustrato marcado con un indicador fluorescente. La elastasa presente en la tira cliva el sustrato en un tiempo de reacción de 4-8 minutos produciendo la liberación del indicador, el cual es visible cuando es observado con luz fluorescente (4, 17).

Otro producto de la actividad inmunológica es el ácido araquidónico, el cual es metabolizado en sustancias como la prostaglandina, considerada como un indicador de la respuesta inflamatoria. Este mediador es importante por que la PGE₂ participa en varios procesos inflamatorios como desencadenador de la destrucción de los tejidos, incluyendo el hueso alveolar. Usada como método diagnóstico posee una sensibilidad de 0.76 y especificidad de 0.96, teniendo un valor diagnóstico de 0.92. El elevado nivel de PGE₂ en el fluido puede indicar la pérdida de inserción periodontal con más de 6 meses de anticipación (23).

Los productos extracelulares provenientes de la destrucción de los tejidos, contienen una compleja mezcla de polisacáridos que están ligados a proteínas específicas, llamadas glucosaminoglucanos. Cuando ellos están presentes en el fluido crevicular, indican destrucción de tejido óseo o conjuntivo en la enfermedad periodontal (23).

El Perioguard Periodontal Tissue Monitor, mide la aspartatoaminotransferasa (AST), una enzima liberada en la lisis celular activa. El fluido crevicular

es colectado en tiras de filtro y en seguida es incubado por 10 minutos en un sustrato específico para AST y posteriormente actuará con una base cromatogena. La presencia de AST en la tira de filtro es revelada por el cambio de color cuando se compara con un control positivo y negativo.

Los niveles plasmáticos aumentados de AST son usados en medicina como indicador de la destrucción celular, como ocurre en el infarto de miocardio o enfermedades hepáticas. La prueba PerioGuard se basa en el descubrimiento que el alto nivel de AST en el fluido crevicular está asociado a la destrucción celular en sitios específicos que corresponden a la presencia de enfermedad activa. El monitoreo de los niveles de AST en el fluido crevicular como identificador de la actividad de la enfermedad, no está libre de problemas. Se ha determinado que una muestra de 5-10 segundos puede ser más sensible que una muestra de mayor tiempo porque la AST presente en la tira dura pocos segundos. Cuando las muestras son dejadas por largos períodos puede ocurrir la dilución en el fluido con poca actividad enzimática.

La prueba teste ideal para determinar la actividad de la enfermedad debe identificar simultáneamente los sitios con enfermedad (alta sensibilidad) y los sitios saludables (alta especificidad). Los testes con AST para fluido crevicular, poseen una alta sensibilidad (0,93) y una moderada especificidad (0,68) diagnosticando la ocurrencia de enfermedad de 3 a 6 meses antes que se puedan identificar clínicamente las alteraciones. Esta prueba puede ser un elemento auxiliar valioso en la evaluación clínica de sitios específicos en pacientes periodontales recurrentes en terapia de mantenimiento, haciendo de esta forma la selección del tratamiento ideal con costo beneficio (1,4,17,23).

5.2. Evaluación de la Sangre Periférica

El análisis de los constituyentes de la sangre periférica para el diagnóstico de la enfermedad periodontal ha sido utilizado por mucho tiempo. Las investigaciones han centrado sus observa-

ciones en las células blancas y en el nivel de anticuerpos circulantes contra los periodontopatógenos, relacionando esos componentes a la actividad de la enfermedad periodontal. A pesar que la sangre periférica ha demostrado considerable potencial diagnóstico todavía presenta dificultades ya que si bien identifica la presencia de la enfermedad, no es posible discriminar los sitios afectados.

Los tres constituyentes de sangre periférica que parecen ser importantes para el diagnóstico son el funcionamiento de los PMNs, nivel de anticuerpos circulantes y la respuesta de los monocitos a los LPS bacterianos. El estudio de la función de los neutrófilos de sangre periférica puede identificar individuos con riesgo de actividad a la enfermedad. Los defectos en las funciones de los neutrófilos tales como, quimiotaxis y/o fagocitosis, han sido claramente asociados con varias formas severas de periodontitis. Por otro lado la elevación plasmática de anticuerpos contra placa bacteriana, también ha sido asociada con el aumento en la severidad de la enfermedad periodontal. Por tal razón, el análisis de anticuerpos sistémicos es un reflejo de la respuesta del huésped a una infección asociada a episodios de enfermedad periodontal. En relación a la respuesta de los monocitos, las investigaciones indican que la susceptibilidad a la destrucción periodontal puede estar relacionada a un aumento en la respuesta del organismo a bacterias Gram.-negativas (23).

5.3. Análisis genético

La severidad de algunos casos de periodontitis ha sido motivo de mucha preocupación por el clínico. Parece que dentro del grupo de pacientes portadores de periodontitis del adulto, existe un subgrupo susceptible a periodontitis severa. La importancia de clasificar un paciente como susceptible estaría relacionada a un peor pronóstico y a una alta probabilidad de que el paciente tenga una progresión muy rápida de la enfermedad. Los desordenes genéticos relacionados a polimorfismos han recibido la mayor atención, principal-

mente por tener la capacidad de alterar localmente el proceso inflamatorio. Los principales polimorfismos de interés en periodoncia serían: el polimorfismo para IL-1 y TNF- α . El polimorfismo ha sido utilizado como marcador genético para distinguir diferentes formas hereditarias de un gen. Para ser considerado polimorfo, un gen debe presentar ocurrencia de múltiples alelos en un locus, donde por lo menos dos alelos aparecen con frecuencia superior a 1%.

Un test genético para enfermedad periodontal recientemente desarrollado ha sido el PST (Genetic Susceptibility Test), considerado como un teste de susceptibilidad genética para la enfermedad periodontal. El fabricante afirma que este test identifica pacientes de alto riesgo para Periodontitis. Esta afirmación es un poco exagerada ya que este test sólo muestra que el paciente presenta polimorfismo del alelo 2, de la IL-1 β , siendo que la susceptibilidad del paciente sería para cualquier enfermedad mediada por IL-1 β y no específicamente para periodontitis.

Bases racionales para la utilización de pruebas diagnósticas

Las pruebas de diagnóstico pueden ser utilizadas para aumentar la seguridad del diagnóstico, con el objetivo de confirmar o rechazar hipótesis, localizar factores de riesgo no evidentes y obtener datos para establecer pronósticos adecuados. Después de la realización del diagnóstico, otras pruebas pueden ser realizadas para establecer la elección de antibióticos, monitorear pacientes y determinar la finalización del tratamiento. Las investigaciones realizadas sobre el análisis de progresión de la enfermedad periodontal están creciendo cada día. El desarrollo y asociación de métodos (padronización de las medidas de sondaje, exámenes microbiológicos, análisis de la respuesta del huésped, caracterización genética) más precisos, prácticos, rápidos y con costos adecuados a la necesidad de utilización, abrirá nuevos horizontes en relación al conocimiento de la etiopatogénesis, diagnóstico precoz y tratamiento de los pacientes.

Referencias

- Chambers DA, Crawford JM, Mukherjee S, Cohen RL. Aspartate aminotransferase increases in crevicular fluid during experimental periodontitis in beagle dogs. *J Periodontol* 1984; 55(9):526-530.
- Chen C, Slots J. Microbiological tests for *Actinobacillus Actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis*. *Periodontol* 2000; 1999;(20):53-64.
- Chen P, et al. The use of monoclonal antibodies to detect *Bacteroides gingivalis* in biological samples. *Infect Immun* 1986; 54(3):798-803.
- Dreyer WP. Technological advances in the clinical diagnosis of periodontal diseases. *Int Dental J* 1993; 43(6):557-66.
- Fine DH. Incorporating new technologies in periodontal diagnosis into training programs and patient care: a critical assessment and a plan for the future. *J Periodontol* 1992; 63(Suppl):383-93.
- Gibbs CH, et al. Description and clinical evaluation of a new computerized periodontal probe - the Florida Probe. *J Clin Periodontol* 1988; 15(2):137-44.
- Grondahl HG, Grondahl K. Subtraction radiography for diagnosis of periodontal bone lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1983; 55(2):208-13.
- Haffajee AD, Socransky SS, Goodson JM. Clinical parameters as predictors of destructive periodontal disease activity. *J Clin Periodontol* 1983; 10(3):257-65.
- Hausmann E, Allen K, Norderyd J, Ren W, Shibly O, Machte I. Studies on the relationship between changes in radiographic bone height and probing attachment. *J Clin Periodontol* 1994; 21(2):128-32.
- Kerr JP, Barlett EB. A Statistically tailored neural network approach to tomographic image reconstruction. *Med Phys* 1995; 22(5):601-10.
- Lamster IB, Celenti RS, Jans HH, Fine JB, Grbic JT. Current status of tests for periodontal disease. *Adv Dent Res* 1993; 7(2):182-90.
- Lamster IB, Oshrain RL, Harper DS, Celenti RS, Hovliaris CA, Gordon JM. Enzyme activity in crevicular fluid for detection and prediction of clinical attachment loss in patients with chronic adult periodontitis. *J Periodontol* 1988; 59(8):516-23.
- Loesche WJ. The identification of bacteria associated with periodontal disease and dental caries by enzymatic methods. *Oral Microbiol Immunol* 1986; 1(1):65-72.
- Lotufo REM, et al. Prevalence of subgingival periodontopathic bacteria and herpesviruses in a remote native brazilian population. *J Dent Res* 1998; 77(abs833).
- Mullis KB, Faloona FA. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol* 1987; 155:335-50.
- Page RC. Host response test for diagnosing periodontal diseases. *J Periodontol* 1992; 64(Suppl):356-66.
- Papapanou PN, Engebretson SP, Lamster IB. Current and future approaches for diagnosis of periodontal disease. *N Y State Dent J* 1999; 65(4):32-7.
- Perry DA, Taggart EJ, Leung A, Newburn E. Comparison of conventional probe with electronic and manual pressure-regulated probes. *J Periodontol* 1994; 65(10):908-13.
- Slots J, Rams TE, Listgarten MA. Yeasts, enteric rods and pseudomonads in the subgingival flora of severe adult periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1988; 3(2):47-52.
- Socransky SS, Haffajee AD, Goodson JM, Lindhe J. New concepts of destructive periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1984; 11(1):21-32.
- Watanabe K, Frommel TO. Detection of *Porphyromonas gingivalis* in oral plaque samples by use of polymerase chain reaction. *J Dent Res* 1993; 72(6):1040-44.
- Wenzel A, Warrer K, Karring T. Digital subtraction radiography in assessing bone changes in periodontal defects following guided tissue regeneration. *J Clin Periodontol* 1992; 19(3):208-13.
- Williams RC, Howell TH. New technologies for the diagnosis of periodontal disease. *J Prosthet Dent* 1993; 69(6):551-57.
- Yang MC, Simona C, Schappi P, Graf H, Espeland M. Predictive power of various models for longitudinal attachment level changes. *J Clin Periodontol* 1992; 19(2):77-83.
- Zappa U, Marksrg RG, Clark WB, Magnusson I. Episodic probing attachment loss in humans: histologic associations. *J Periodontol* 1990; 61(7):420-26.