



Esta obra está bajo  
una Licencia Creative Commons  
Atribución 4.0 Internacional.

# *Porphyromonas gingivalis* en fluido crevicular de pacientes diabéticos tipo 2.

*Porphyromonas gingivalis* in crevicular fluid of type 2 diabetic patients.

Maria Rosenda Britos<sup>1,a</sup>, Cynthia Solange Sin<sup>1,2,b</sup>, Silvia Mercedes Ortega<sup>1,2,c</sup>

## RESUMEN

**Objetivo:** Obtener la prevalencia de *Porphyromonas gingivalis* en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2.

**Material y método:** Este estudio fue de tipo descriptivo transversal. El tipo de muestreo fue por conveniencia y la muestra estuvo conformada por 50 pacientes diagnosticados con Diabetes Mellitus tipo 2. Los grados de Periodontitis se clasificaron de acuerdo a los criterios de Papapanou et al., año 2018. Se obtuvo la prevalencia de *Porphyromonas gingivalis* por PCR de punto final. La muestra se tomó en dos sitios con mayor profundidad de bolsa. El control de la glucosa se evaluó midiendo el porcentaje de hemoglobina glicosilada. El análisis estadístico fue realizado mediante el Software InfoStat 2019, y se empleó la Prueba de Independencia mediante el estadístico Chi-Cuadrado con un 5% de significancia. **Resultados:** Se obtuvo una prevalencia del 30 % de *P. gingivalis*. Un 56% de la muestra presentó un grado 0 de periodontitis un, 24 % grado I, 8% presentó un grado II y un 12%, un grado III. No se encontró diferencia estadísticamente significativa entre la presencia de *P.gingivalis* y los grados de periodontitis. **Conclusión:** La prevalencia de *P.gingivalis* en la muestra de pacientes con diabetes tipo 2 es de un 30% y su distribución es independiente del grado de Enfermedad periodontal.

**PALABRAS CLAVE:** *Porphyromonas gingivalis*, Diabetes mellitus tipo 2, glucemia.

## ABSTRACT

**Objective:** To obtain the prevalence of *Porphyromonas gingivalis* in patients with type 2 Diabetes Mellitus.

**Material and method:** This study was descriptive and cross-sectional. The type of sampling was for convenience and the sample consisted of 50 patients diagnosed with Type 2 Diabetes Mellitus. The degrees of Periodontitis were classified according to the criteria of Papapanou et al., (2018). The prevalence of *Porphyromonas gingivalis* was obtained by end-point PCR. The sample was taken in two places with greater depth of pocket. Glucose control was evaluated by measuring the percentage of glycosylated hemoglobin. The statistical analysis was performed using the InfoStat 2019 Software and the Independence Test was used using the Chi-Square statistic with 5% significance. **Results:** A 30% prevalence of *P. gingivalis* was obtained. 56% of the sample had a grade 0

<sup>1</sup> Facultad de Odontología, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina.

<sup>2</sup> Biotecnología Microbiana para la Innovación Alimentaria (BiMIA), Instituto de Modelado e Innovación Tecnológica (IMIT), CONICET, Corrientes, Argentina.

<sup>a</sup> Magister en Investigación en Ciencias de la Salud; Bioquímica; Profesora Adjunta;

<sup>b</sup> Odóloga; Tesista de posgrado

<sup>c</sup> Doctor en Odontología; Odóloga; Profesora titular.

## ARTÍCULO ORIGINAL / ORIGINAL ARTICLE

of periodontitis, 24% grade I, 8% had grade II and 12% had grade III. No statistically significant difference was found between the presence of *P. gingivalis* and the degrees of periodontitis. **Conclusions:** The prevalence of *P. gingivalis* in the sample of patients with type 2 diabetes is 30% and its distribution is independent of the degree of periodontal disease.

KEYWORDS: *Porphyromonas gingivalis*, Mellitus Diabetes type 2, blood glucose

### INTRODUCCIÓN

La periodontitis es un proceso inflamatorio crónico que se desencadena como respuesta a la presencia de la biopelícula bacteriana (1,2,3). Los productos solubles generados por las bacterias así como los mediadores proinflamatorios pueden ingresar a la circulación por la permeabilidad que presenta el tejido injuriado del saco periodontal (4). La enfermedad produce inflamación gingival, desinserción de las fibras periodontales y reabsorción de la porción coronal del hueso alveolar de soporte (5). Aunque el foco inflamatorio está circunscripto en el periodonto, puede repercutir a distancia en otros tejidos y sistemas (6). Las bacterias gram negativas periodontopatogénicas, predisponen al huésped a sufrir un estado de insuloresistencia (RI) mediado por la respuesta inmuno inflamatoria. Por esta razón estos pacientes presentan un riesgo sistémico aumentado (7). Un mal control glucémico en pacientes diabéticos está íntimamente vinculado al avance de la periodontitis (8,9). Entre los factores de riesgo para el agravamiento de muchas enfermedades inflamatorias crónicas como la diabetes mellitus (DM) se considera a la enfermedad periodontal (10).

La Asociación Americana de Diabetes, clasificó a la Diabetes en cuatro tipos: DM Tipo 1, DM Tipo 2, DM Gestacional y otros tipos específicos (causadas por medicamentos, enfermedades del páncreas, de las glándulas endocrinas, a enfermedades infecciosas y a trastornos genéticos, etc.).

El porcentaje de hemoglobina glicosilada HbA1c refleja los niveles de glucosa en sangre durante los tres meses (vida media del glóbulo rojo) previos a la toma de muestra. Entre los parámetros que reflejan un control metabólico exitoso se incluye un valor de HbA1c < 7,0%, en pacientes hasta los 60 años de edad que fueron diagnosticados recientemente y sin enfermedades agravantes. Puede considerarse una HbA1c hasta 8.0% en pacientes mayores de 60 años con comorbilidades (11,12).

*P.gingivalis* (*Porphyromonas gingivalis*) es un microorganismo que tiene capacidad de colonizar e invadir tejidos, además cumple un rol fundamental en la alteración de la microbiota normal al obstaculizar la respuesta inmunológica y desarrollarse en disbiosis (13). Es un microorganismo patobionte (14) muy bien documentado y es un componente clave en la periodontitis crónica (15). *P.gingivalis* posee vesículas en la membrana externa que le permite la liberación de enzimas al exterior, estas tienen gran relevancia en la patogenicidad y en la progresión de la enfermedad periodontal. Seyama et al., (16), y Tian, et al., (17), evidenciaron que *P.gingivalis* juega un papel crítico en el estado de insulorresistencia (18). Takamura et al (19) demostraron que *P.gingivalis* puede también internalizarse y llegar a las células hepáticas HepG2 e interferir en la respuesta a la insulina.

El objetivo de este estudio fue obtener la prevalencia de *Porphyromonas gingivalis* en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio fue de tipo descriptivo transversal. Cada participante firmó el Consentimiento informado aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional del Nordeste. El tipo de muestreo fue por conveniencia y la muestra estuvo conformada por 50 pacientes diagnosticados con Diabetes Mellitus tipo 2, del Servicio de Endocrinología, Diabetes y Nutrición del Hospital J.R. Vidal de la ciudad de Corrientes (Argentina) que cumplieron con los criterios de inclusión.

*Criterios de inclusión:* Pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 pertenecientes a ambos sexos

*Criterios de exclusión:* Embarazo, lactancia, y otras condiciones sistémicas que pudieran influir en la periodontitis, alcohólicos y fumadores crónicos, pacientes edéntulos totales, pacientes que hayan recibido terapia periodontal en el último año, y utilización de antimicrobianos en forma sistémica o

## ARTÍCULO ORIGINAL / ORIGINAL ARTICLE

tópica en los seis meses previos al examen clínico y a la toma de muestras de fluido crevicular.

### Examen clínico

Se realizó el examen odontológico y odontograma para evaluar la presencia de periodontitis. Se clasificó la periodontitis en estadios según los criterios de Papapanou y col. 2018 (20) considerando los datos clínicos recogidos durante el examen periodontal. En la ficha odontológica se registraron parámetros clínicos que incluyeron el índice Índice de O'Leary, profundidad de sondaje (PD), pérdida de inserción clínica (CAL), sangrado al sondaje. Las piezas dentarias inexistentes se tacharon de la respectiva ficha. Se tomaron los valores de PD y CAL en seis sitios por diente (mesiobucal, bucal, distobucal, mesiolingual, lingual y distolingual). Para medir la profundidad de sondaje se utilizó la sonda periodontal Sonda MMPC-15 COLOR-UNC, maniobra ejecutada para medir la profundidad de bolsa empleando la sonda periodontal mencionada (figura 1).

### Toma de muestra

Se seleccionaron dos sitios de muestreo, con mayor PD, uno en cada arcada. La zona se aisló con algodón y se removió la placa supragingival con torunda de algodón estéril. Se introdujeron puntas de papel absorbente en el surco gingival del sitio elegido durante 60 segundos y se almacenaron  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento (figura 2).

Detección de *P.gingivalis*: Se realizó por PCR de punto final. Extracción de ADN de las

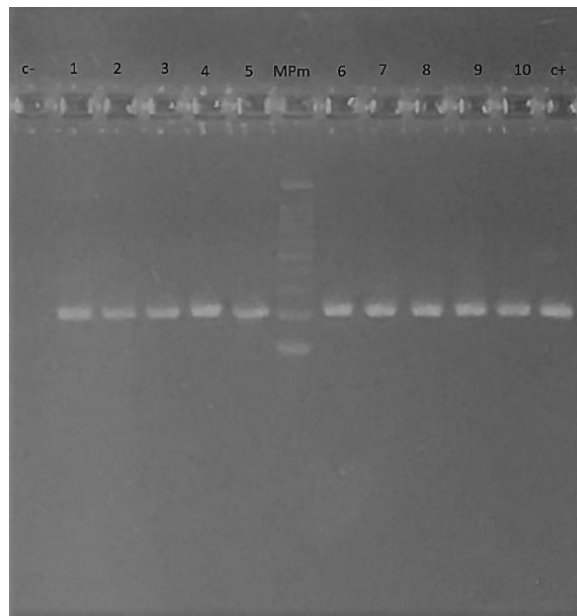


**Figura 1.** Sondaje de bolsas periodontales con sonda periodontal.



**Figura 2.** Colocación del cono de papel para la toma de muestra de fluido crevicular

muestras clínicas: Se realizó la extracción de ADN utilizando el Método de Extracción con CTAB y posterior purificación con Cloroformo-alcohol isoamílico. Se emplearon los iniciadores que fueron utilizados por Quintero et al., (21), y la banda de amplificación se observó a 197 pares de bases (pb). Las secuencias de cebadores utilizadas fueron: Pg-1 F 5'-TGTAGATGACTGAAAACC-3' Pg-2 R 5'-ACGTCATCCCCACCTTCCTC-3'



**Figura 3.** Perfil electroforético de amplicones PCR especie específica para *P.gingivalis* en gel de agarosa (1,8 %) visualizado en fotodocumentador. C- : control negativo (H<sub>2</sub>O destilada), C+ : control positivo cepa ATCC 33277, Mpm : Marcador de peso molecular. Calles 1-10: pacientes con fragmentos de amplificación de 197pb pertenecientes a *P.gingivalis*

**ARTÍCULO ORIGINAL / ORIGINAL ARTICLE**

Como control positivo de se utilizó la cepa de American Type Culture Collection (ATCC), *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277. Para comprobar la presencia de ADN bacteriano en las muestras de fluido gingival, se realizó una PCR de ARNr16S (procariotas), para ello se utilizó los cebadores BAK4 y BAK11, empleados universalmente para la detección de ARN ribosomal 16S en procariotas. Los amplificados se corrieron electroforéticamente en un gel de agarosa 1,8 % en buffer TBE1X más 3 µL de Gel Green 10,000X (Biotium, USA), diluido 3X en agua destilada-deionizada. Las bandas se visualizaron en foto documentador(MaestroGen) (figura 3).

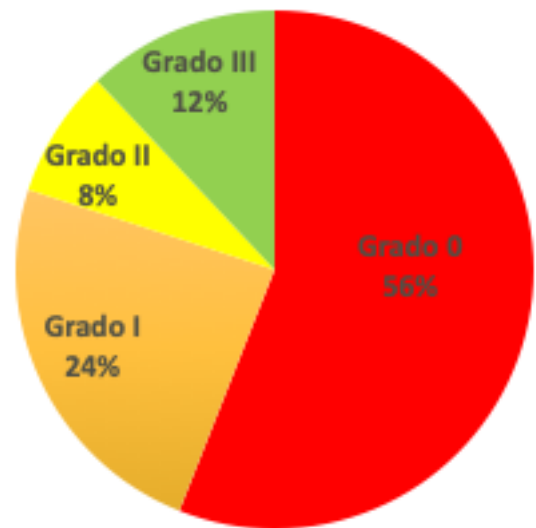
*Hemoglobina glicosilada:* Las muestras se tomaron por punción venosa, y se midieron los valores de porcentaje de hemoglobina glicosilada (HbA1c) por el método de inhibición inmunoturbidimétrica (Wiener Lab, Argentina).

En el análisis estadístico se empleó la Prueba de Independencia mediante el estadístico Chi-Cuadrado con un 5% de significancia a fin de comprobar si existe relación entre las frecuencias con que se presentan los valores de las variables cualitativas. El análisis estadístico fue realizado mediante el Software InfoStat 2019.

**RESULTADOS**

La muestra estuvo constituida por 50 pacientes que fueron seleccionados según los criterios de inclusión, 54% correspondieron al sexo femenino y un 46% al sexo masculino. Presentaron una media de edad de 52,12 años con una desviación estándar de 8,29, en un rango entre 24 y 66 años. La media de hemoglobina glicosilada fue de 7,84%, con desviación estándar de 1,64 con un mínimo de 6,00% y un máximo de 14,30%.

Se obtuvo una prevalencia del 30 % de *P. gingivalis* en fluido gingival de la población estudiada. Del análisis de los parámetros clínicos periodontales se obtuvieron los grados de periodontitis que se distribuyeron en, grado 0 56%, 24 % grado I , 8% presentó un grado II y un 12%, un grado III (gráfico 1). En el análisis estadístico no se obtuvo diferencia estadísticamente significativa entre la prevalencia de *P.gingivalis* y los grados de periodontitis (tabla 1).



**Gráfico 1.** Frecuencia relativa de los Estadios de EP en la población estudiada

**Tabla 1.** Relación entre la presencia de *P.gingivalis* y los grados de Enfermedad periodontal

PCR	Grados de Periodontitis				p-valor
	0	1	2	3	
No detectable	18	9	4	4	0,5188*
Detectable	8	3	2	2	

\*Chi cuadrado Pearson

**DISCUSIÓN**

En nuestra investigación se obtuvo una prevalencia de *P. gingivalis* de 30% en pacientes con Diabetes tipo 2, mediante identificación molecular. Resultados similares obtuvieron Correa et al., (22), y Sanchez et al., (23), que reportaron un 28,6% y un 18 % respectivamente de prevalencia de *P. gingivalis* en pacientes con Diabetes. Sin embargo autores como Jaques Fuentes et al., hallaron una alta prevalencia de *P.gingivalis* en una muestra de pacientes diabéticos (24) . Asimismo Tervonen y col (25) reportaron una elevada incidencia de *P.gingivalis*, sin embargo Quinteros et al., informaron que *P.gingivalis* era la segunda más prevalente en una población de Diabéticos tipo 2 (21). En este trabajo se encontró que un 44% de los pacientes presentaron algún grado de periodontitis y un 56% exhibieron un grado 0. Contrariamente autores como Cordovez et al., encontraron una prevalencia de periodontitis en diabéticos del 100%, con una mayor frecuencia de

periodontitis moderada 46,8% (26). En este trabajo no se halló significancia estadística en la presencia de *P. gingivalis* en relación a los grados de periodontitis. Agarwal et al., afirmaron que la diabetes no solo predispone al individuo a la enfermedad bucal, sino que también la periodontitis, una vez establecida exacerba la diabetes y empeora el control de la glucemia (26). Los resultados obtenidos en esta investigación de naturaleza descriptiva se acotan a una muestra pequeña de pacientes diabéticos, no obstante, consideramos que los resultados obtenidos en esta investigación son muy relevantes considerando que los datos científicos en referencia a la prevalencia y rol de las bacterias responsables de la enfermedad periodontal en nuestra región y en pacientes que padecen enfermedades crónicas como la Diabetes son aún escasos. Asimismo, la distribución de los patógenos periodontales difiere en relación a la ubicación geográfica y al grupo racial y étnico por lo cual consideramos que proseguir el estudio de prevalencia de *P. gingivalis* sobre una muestra mayor ampliaría la evidencia obtenida en esta investigación.

## CONCLUSIONES

La prevalencia de *P.gingivalis* en la muestra de pacientes con diabetes tipo 2 es de un 30% y su distribución es independiente del grado de Enfermedad periodontal. Consideramos pertinente continuar trabajando en esta línea y realizar nuevas investigaciones. El tamaño de la muestra estudiada podemos alegar como una limitación de este trabajo, sin embargo, creemos conveniente continuar nuestra investigación con un tamaño de muestra mayor lo cual nos permitirá realizar comparaciones y obtener más conclusiones sobre el estado periodontal y la presencia de *P. gingivalis* en pacientes que padecen DM tipo 2.

*Conflicto de intereses:* Los autores no manifiestan conflicto de interés con este trabajo.

*Aprobación de ética:* El protocolo de este estudio fue aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional del Nordeste de acuerdo a los principios de Helsinki. Cada participante fue informado sobre su participación en el proyecto y firmó el Consentimiento informado aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional del Nordeste. Resolución:245/16 C.D

*Financiamiento:* Financiamiento de la “Secretaría General de Ciencia y Técnica Universidad Nacional del Nordeste”.

*Contribuciones de los autores:* Todos los autores contribuyeron a este manuscrito.

*Agradecimientos:* A el Servicio de Endocrinología, Diabetes y Nutrición del Hospital J.R. Vidal” de la ciudad de Corrientes, Argentina y a la “Secretaria General de Ciencia y Técnica Universidad Nacional del Nordeste”.

## Correspondencia:

Maria Rosenda Britos

Dirección: San Martin 435. Código Postal: 3400

Corrientes Capital,Argentina.

Teléfono: 543794336215

Correo electrónico: mariarosendab@gmail.com

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Devine DA, Marsh PD, Meade J. Modulation of host responses by oral comensal bacteria. *J Oral Microbiol.* 2015; 7:26941. DOI:10.3402/jom.v7.26941
2. Takahashi N. Oral Microbiome Metabolism: From “Who Are They?” to “What Are They Doing?”. *J Dent Res.* 2015;94(12):1628-37.
3. Socransky SS, Haffajee AD. The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts. *Journal of periodontology.* 1992; 63: 322-331.
4. Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal microbial ecology. *Periodontology.* 2000; 38: 135-187.
5. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol.* 1999;4(1):1-6. doi: 10.1902/annals.1999.4.1.1
6. Gomis G, Serva O. Diabetes y enfermedad periodontal. *FMC.* 2017;24(2):64-9.
7. Britos MR, Sin CS, Ortega SM. Enfermedad periodontal y su implicancia en la diabetes mellitus: revisión de la literatura. *Rev Ateneo Argent Odontol.* 2019;60(1): 33-40.
8. López M, Diaz M. La diabetes mellitus y su vinculación en la etiología y patogenia de la enfermedad periodontal. *Gaceta medica espirituana.* 2017; 9(2). (Citado el 10 de junio del 2021). Disponible en: <http://revgmespirituana.sld.cu/index.php/gme/article/view/794/640>
9. Jaramillo A. Asociación entre síndrome metabólico y enfermedad periodontal en personas que asisten a 5 instituciones de salud en Cali, Medellín y Bogotá. Tesis de Grado. Colombia: Universidad del Valle; 2017. Citado el 10 de junio del 2021). Disponible en: <http://hdl.handle.net/10893/10110>

10. Arana C, Florencio L, Sevillano M, et al. Diabetes and periodontal diseases: an established two-way relationship. *Journal of Diabetes Mellitus*, 2016; 6(4):209-229 DOI:10.4236/JDM.2016.64024
11. DeMarziani G, Elbert AE. Hemoglobina glicada (HbA<sub>1c</sub>). Utilidad y limitaciones en pacientes con enfermedad renal crónica. *Revista de Nefrología, Diálisis y Trasplante*. 2018; 38(1): 65-83.
12. Asociación Latinoamericana de Diabetes. Guías ALAD sobre el diagnóstico, control y tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 con medicina basada en evidencia. *Revista de la ALAD*; 2019. (Citado el 10 de junio del 2021). Disponible en: [https://www.revistaalad.com/guias/5600AX191\\_guias\\_alad\\_2019.pdf](https://www.revistaalad.com/guias/5600AX191_guias_alad_2019.pdf)
13. Mulhall H, Huck O, Amar S. *Porphyromonas gingivalis*, a Long-Range Pathogen: Systemic Impact and Therapeutic Implications. *Microorganisms*. 2020;8(6):869. doi: 10.3390/microorganisms8060869
14. Moreno MC, Valladares-García J, Halabe-Cherem J. Microbioma humano. *Revista de la Facultad de Medicina UNAM*. 2018;61(6):7-19. (Citado el 10 de junio del 2021). Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2018/un186b.pdf>
15. Rocha VH, Nobre dos Santos L E, Montino AC, et al. *Porphyromona gingivalis* and Chronic Periodontitis. Recent advances. *Revista Bahiana de Odontología*, 2016;7(2):147-154. (Citado el 10 de junio del 2021). Disponible en: <https://www5.bahiana.edu.br/index.php/odontologia/article/view/885/633>
16. Seyama M, Yoshida K, Yoshida K, et al. Outer membrane vesicles of *Porphyromonas gingivalis* attenuate insulin sensitivity by delivering gingipains to the liver. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2020;1866(6):165731. doi: 10.1016/j.bbadis.2020.165731
17. Tian J, Liu C, Zheng X, et al. *Porphyromonas gingivalis* Induces Insulin Resistance by Increasing BCAA Levels in Mice. *J Dent Res*. 2020;99(7):839-846. doi: 10.1177/0022034520911037
18. Yang R, Dong J, Zhao H, et al. Association of branched-chain amino acids with carotid intima-media thickness and coronary artery disease risk factors. *PLoS ONE*. 2014;9:e99598.
19. Takamura H, Yoshida K, Okamura H, Fujiwara N, Ozaki K. *Porphyromonas gingivalis* attenuates the insulin-induced phosphorylation and translocation of forkhead box protein O1 in human hepatocytes. *Archives of Oral Biology*. 2016; 69: 19-24.
20. Papapanou PN, Sanz M, Buduneli N, et al. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol*. 2018;89 Suppl 1:S173-S182. doi: 10.1002/JPER.17-0721
21. Quintero AJ, Prada P, Inostroza CM, et al. Presencia de *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* en el biofilm subgingival de pacientes diabéticos tipo 2: estudio transversal. *Rev Clin Periodoncia Implantol Rehabil Oral* 2011; 4:54-58. (Citado el 10 de junio del 2021). Disponible en: [www.scielo.cl/pdf/piro/v4n2/art03.pdf](http://www.scielo.cl/pdf/piro/v4n2/art03.pdf)
22. Correa S, Torres J, Echeverry AJ, Rengifo AC. Frecuencia de los genotipos de FimA de *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* en pacientes diabéticos con enfermedad periodontal/Frequency of FimA Genotypes of *P. gingivalis*. *Universitas Odontológica*. 2015; 34(73):129-138.
23. Sánchez MB. Determinación de las características clínicas, radiográficas y microbiológicas de la enfermedad periodontal en pacientes diabéticos tipo I y tipo II de la asociación de diabéticos juveniles y del patronato para diabéticos de Guatemala (Papadigua), en el año 2008. Tesis doctoral. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala; 2010.
24. Jaques GA, Maldonado JI, Lobos O. Prevalencia y concentración de *Porphyromonas gingivalis* en fluido crevicular y saliva de pacientes diabéticos. Tesis doctoral. Talca, Chile: Universidad de Talca; 2019.
25. Tervonen T, Oliver RC, Wolff LF, Bereuter J, Anderson L, Aeppli DM. Prevalence of periodontal pathogens with varying metabolic control of diabetes mellitus. *J Clin Periodontol*. 1994;21(6):375-9.
26. Cordovez A G. Prevalencia de periodontitis y su grado de severidad en pacientes del grupo de diabéticos del Hospital Vozandes Quito. Tesis de Bachiller. Quito: Universidad de las Américas; 2018.

Recibido : 24-07-2021

Aceptado : 25-10-2021