



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

**IDENTIFICACION DE BIOMARCADORES Y CITOCINAS EN
FLUIDO CREVICULAR DE DIENTES PERMANENTES CON
ANTECEDENTES DE TRAUMA DENTOALVEOLAR QUE
PRESENTAN REABSORCION RADICULAR EXTERNA.
REVISION NARRATIVA DE LA LITERATURA.**

Carmen Patricia Fonseca Neira

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Odontología
Bogotá, Colombia
2017

**IDENTIFICACION DE BIOMARCADORES Y CITOCINAS
EN FLUIDO GINGIVAL CREVICULAR DE DIENTES
PERMANENTES CON ANTECEDENTES DE TRAUMA
DENTOALVEOLAR QUE PRESENTAN REABSORCION
RADICULAR EXTERNA. REVISION NARRATIVA DE LA
LITERATURA.**

Carmen Patricia Fonseca Neira

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:
Especialista en Endodoncia

Director:
Odontólogo, José Manuel González
Codirector (a):
Odontólogo, Patricia Martínez Agudelo
Línea de Investigación:
Atención en Salud
Grupo de Investigación:
Invendo

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Odontología
Bogotá, Colombia
2017

IV IDENTIFICACION DE BIOMARCADORES Y CITOCINAS EN FLUIDO CREVICULAR DE DIENTES PERMANENTES CON ANTECEDENTES DE TRAUMA DENTOALVEOLAR QUE PRESENTAN REABSORCION RADICULAR EXTERNA. REVISION NARRATIVA DE LA LITERATURA.

Resumen

El objetivo de este trabajo es presentar una revisión de la literatura científica que describa cual es el método más apropiado para la identificación de biomarcadores y citocinas presentes en fluido crevicular de dientes permanentes con reabsorción radicular externa secundaria a trauma dentoalveolar. A lo largo de la revisión se podrá encontrar una descripción detallada del trauma dentoalveolar y sus complicaciones, biomarcadores y citocinas analizadas en fluido crevicular de dientes con antecedentes de trauma dentoalveolar, así como un protocolo para la detección de citocinas en fluido crevicular como método de diagnóstico temprano de reabsorción radicular externa. Para realizar esta revisión se hizo una búsqueda de artículos en la literatura científica en las bases de datos de la Universidad Nacional, Medline (PubMed), Embase, Cochrane, Science Direct, Scopus, Scielo y libros de texto, teniendo en cuenta los artículos referidos en las investigaciones leídas. Finalmente se concluye que el análisis de fluido gingival crevicular es un método de diagnóstico efectivo para la detección de reabsorción radicular externa en estadios iniciales, detectando altos niveles de DSP, IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-9, IL-10, IL-17, INF- γ , TNF- α , G-CSF, MCP-1, RANTES, MIP-1 α , MIP-1 β , PDGF y VEGF por medio de la citometria de flujo con el método CBA (CYTOMETRIC BEAD ARRAY), por lo tanto es necesario que los investigadores se enfoquen en alternativas de diagnóstico que puedan ser aplicadas fácilmente en un ambiente clínico dental, diferente a la evaluación radiográfica, que conlleve a tomar decisiones concretas para un adecuado tratamiento de las lesiones ocasionadas por trauma dentoalveolar y que esté direccionado a disminuir o evitar respuestas desfavorables de los tejidos.

Palabras clave: Trauma dentoalveolar, reabsorción radicular externa, fluido crevicular biomarcadores, Citocinas

Abstract

The aim of this paper is to present a review of the scientific literature that describes which is the most appropriate method for the identification of biomarkers and cytokines present in crevicular fluid of permanent teeth with external root resorption secondary to dentoalveolar trauma. Throughout the review you will find a detailed description of dentoalveolar trauma and its complications, biomarkers and cytokines analyzed in crevicular fluid of teeth with a history of dentoalveolar trauma, as well as a protocol for the detection of cytokines in crevicular fluid as a diagnostic method early external root resorption. To carry out this review, a search of articles in the scientific literature was made in the databases of the National University, Medline (PubMed), Embase, Cochrane, Science Direct, Scopus, Scielo and textbooks, taking into account the referred articles in the researches read. Finally, it is concluded that the analysis of gingival crevicular fluid is an effective diagnostic method for the detection of external root resorption in initial stages, detecting high levels of DSP, IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL -8, IL-9, IL-10, IL-17, INF- γ , TNF- α , G-CSF, MCP-1, RANTES, MIP-1 α , MIP-1 β , PDGF and VEGF by means of the cytometry of With the CBA method (CYTOMETRIC BEAD ARRAY), therefore, it is necessary for researchers to focus on diagnostic alternatives that can be easily applied in a dental clinical setting, different from radiographic evaluation, which leads to concrete decisions for a adequate treatment of injuries caused by dentoalveolar trauma and aimed at reducing or avoiding unfavorable tissue responses.

Keywords:

Cytokines, dentoalveolar trauma, crevicular fluid, external root resorption, biomarkers.

Contenido

Resumen	V
Lista de figuras	IX
Lista de tablas	X
Lista de Abreviaturas	1
Introducción	3
1. Objetivos de la investigación	4
1.1 Objetivo general	4
1.2 Objetivos específicos	4
2. Justificación del estudio	4
3. Diseño metodológico	5
4. Trauma dentoalveolar	9
4.1. Clasificación de las lesiones dentales traumáticas	11
5. Cicatrización	13
5.1 Respuestas de los tejidos después de trauma dental	17
5.1.1. Respuestas del tejido pulpar	17
5.1.2 Respuestas de los tejidos periodontales	17
6. Reabsorción radicular externa (RRE)	18
6.1 Etiología	20
6.2. Mecanismos reguladores de las células implicadas en la reabsorción radicular	21
6.2.1. Fase de activación	21
6.2.2. Mecanismos de fijación	22
6.2.3. Sistema de control	23
6.2.4. Fase de reabsorción	24
6.3. Clasificación de la reabsorción radicular externa	26
6.3.1. Reabsorción radicular externa superficial (RRES)	27
6.3.2. Reabsorción radicular externa inflamatoria (RREI)	27
6.3.3. Reabsorción externa cervical (REC)	28
6.3.4. Reabsorción radicular externa por reemplazo (RRER)	30
6.4. Diagnóstico de reabsorción radicular externa (RRE)	31
6.4.1. Fluido gingival crevicular (FGC)	33
6.4.2. Biomarcadores asociados a reabsorción	36
6.4.3. Citocinas asociadas a reabsorción	38
7. Métodos utilizados en la detección de citocinas	48
7.1. PCR Cuantitativa o PCR en tiempo real	48
7.2. ELISA (Enzimoimmunoanálisis)	49
7.3. Citometría de flujo	50
7.3.1. Principios de fluorescencia	51
7.3.2. Innovaciones en citometría de flujo	52
7.3.3. Citometría de flujo de imagen	52
7.3.4. Citometría de masa	53
7.4. Multiplexing o multi-análisis	53
7.5. Método CBA (CYTOMETRIC BEAD ARRAY)	54

7.5.1 Kits para citometría de flujo	54
8. Discusión	57
9. Conclusiones y recomendaciones	62
9.1 Conclusiones	62
9.2 Recomendaciones	62
A. Anexo: Protocolo toma de muestras de fluido crevicular en dientes con trauma dentoalveolar	65
Bibliografía	67

Lista de figuras

	Pág.
Gráfica 1: Artículos con el porcentaje de la asociación de reabsorción radicular externa con trauma.....	8
Figura 6-1 Activación de precursores de osteoclastos por la unión de RANKL y RANK	22
Figura 6-2 Neutralización de RANKL por OPG y la prevención de la interacción RANK-L-RANK	24
Figura 6-3 Influencia crítica de los macrófagos en el proceso de reabsorción radicular	25
Figura 6-4 Esquema de clasificación basado en las descripciones de resorción de Andreasen	26
Figura 6-5 Clasificación de reabsorción externa cervical (REC) según Heithersa	29
Figura 6-6 Formación del fluido gingival crevicular (FGC)	33
Imagen 6-1 Recolección de fluido gingival crevicular con puntas de papel endodónticas	35
Imagen 6-2 Recolección de fluido gingival crevicular con tiras de papel	35
Figura 6-7 Citocinas encontradas en lesiones dentales traumáticas sin desplazamiento	45
Figura 6-8 Citocinas encontradas en lesiones dentales traumáticas con desplazamiento	46
Figura. 7-9. Enfoque hidrodinámico que produce una sola corriente de partículas	52

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 3-1: Referencias bibliográficas (Identificación de biomarcadores y citocinas en dientes permanentes con radicular externa)	6
Tabla 4-2: Clasificación de las lesiones dentales traumáticas	11
Tabla 5-3. Respuesta de los tejidos periodontales después de trauma dental	18
Tabla 6-4. Citocinas y sus funciones	41
Tabla 6-5. Biomarcadores y citocinas encontradas en reabsorción radicular fisiológica y ocasionada por ortodoncia	46
Tabla 6-6. Biomarcadores y citocinas en dientes permanentes con antecedentes de trauma dentoalveolar que presentan reabsorción radicular externa.	47
Tabla 7-7. Protocolos de evaluación de biomarcadores y citocinas en reabsorción radicular externa	56

Lista de Símbolos y abreviaturas

<i>IADT</i>	International Association of Dental Traumatology
<i>LDT</i>	Lesiones dentales traumáticas
<i>RRE</i>	Reabsorción radicular externa
<i>FGC</i>	Fluido gingival crevicular
<i>OMS</i>	Organización Mundial de la Salud
<i>PDGF</i>	Factor de crecimiento derivado de plaquetas
<i>MSC</i>	Células madre mesenquimales
<i>TGF-β</i>	Factor de crecimiento transformante beta
<i>VEGF</i>	Factor de crecimiento endotelial vascular
<i>ATP</i>	Adenosín trifosfato
<i>ROS</i>	Especies reactivas de oxígeno
<i>TNF-α</i>	Factor de necrosis tumoral alfa
<i>H₂O₂</i>	Peróxido de hidrógeno
<i>O₂</i>	Superóxido
<i>IL</i>	Interleuquina
<i>MMPs</i>	Metaloproteinasas de la matriz
<i>MEC</i>	Matriz extracelular
<i>TIMPs</i>	Inhibidores de metaloproteinasas
<i>RANK-L</i>	Ligando del receptor activador del factor nuclear kappa B
<i>OPG</i>	Osteoprotegerina
<i>PTHrP</i>	Péptido relacionado con la hormona paratiroidea
<i>AMPc</i>	Adenosín monofosfato cíclico
<i>PKA</i>	Proteín quinasa A

<i>TRAP</i>	Fosfatasa ácida tartrato resistente
<i>OPN</i>	Osteopontina
<i>GM-CFU</i>	Unidad formadora de colonias de granulocitos macrófagos
<i>GM-CSF</i>	Factor estimulante de colonias de macrófagos
<i>RANK</i>	Receptor activador del factor nuclear kappa B
<i>RGD</i>	Secuencia de aminoácidos (Arginina- Glicina- Aspartato)
<i>DSP</i>	Sialoproteína dentinal
<i>ALP</i>	Fosfatasa alcalina
<i>BSP</i>	Sialoproteína ósea
<i>INF-γ</i>	Interferón gama
<i>Th</i>	Linfocitos T ayudadores
<i>RRES</i>	Reabsorción radicular externa superficial
<i>RREI</i>	Reabsorción radicular externa inflamatoria
<i>REC</i>	Reabsorción externa cervical
<i>RERR</i>	Reabsorción radicular externa por reemplazo
<i>RREA</i>	Reabsorción radicular externa apical
<i>CBCT</i>	Tomografía computarizada de haz cónico cone beam
<i>PP</i>	Fosfoproteína dentinal
<i>DMP1</i>	Proteína de la matriz dentinaria 1
<i>PMNs</i>	Polimorfo nuclear neutrófilo
<i>PGE2</i>	Prostaglandina E2
<i>IL-1RA</i>	<i>Receptor antagonista de IL-1</i>
<i>CTLA-4</i>	Antígeno-4 asociado al Linfocito T Citotóxico
<i>PCR</i>	Reacción en cadena de la polimerasa
<i>Ac</i>	<i>Anticuerpo</i>
<i>Ag</i>	<i>Antígeno</i>
<i>ELISA</i>	Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas

Introducción

Según la International Association of Dental Traumatology (IADT), las lesiones dentales traumáticas (LDT) comprenden el 5% de todas las lesiones traumáticas y ocurren con gran frecuencia en preescolares, niños en edad escolar y adultos jóvenes. Además, el 25% de los niños escolares han experimentado trauma dental y el 33% de los adultos han experimentado trauma en dentición permanente (1).

Se han descrito diferentes complicaciones que se pueden presentar inmediatamente después o pocos años después de haber sufrido trauma dentoalveolar como : necrosis pulpar, reabsorción radicular y la obliteración de los conductos radiculares (2). De las anteriores complicaciones, la reabsorción radicular cuenta con una prevalencia bastante alta (8-50%) (3), siendo más frecuentemente asociada a la luxación intrusiva (92,8%), avulsión (98%), luxación lateral (80,2%) y luxación extrusiva (77.4%) (4). Por lo anterior es de especial importancia dar un buen manejo a la lesión y realizar un seguimiento clínico y radiográfico con el fin de llevar a cabo un diagnóstico temprano de estas complicaciones. Sin embargo se ha planteado la necesidad de buscar una alternativa para el diagnóstico temprano de la reabsorción radicular externa (RRE) secundaria a trauma, esto debido a que cuando la lesión es visible radiográficamente, esta se relaciona con estadios avanzados de la enfermedad, por lo cual su detección temprana es prácticamente imposible con los métodos que actualmente se utilizan en la práctica clínica. Teniendo en cuenta lo anterior, se ha planteado la posibilidad de identificar biomarcadores en fluido gingival crevicular (FGC) como las citocinas que intervienen en la fisiopatología de ésta condición. El objetivo de esta revisión es determinar sí hasta el momento se han identificado biomarcadores y citocinas en el fluido gingival crevicular de dientes permanentes con reabsorción radicular externa y con antecedentes de trauma dentoalveolar, que puedan ser utilizados para el diagnóstico temprano de ésta enfermedad. Este estudio surge de las dificultades que se presentan en el Hospital de la Misericordia de Bogotá, en donde se atienden niños con lesiones dentales traumáticas (LDT) que desarrollan reabsorción radicular externa secundaria a trauma dentoalveolar en dientes permanentes y que a pesar de ser tratados teniendo en cuenta las directrices de la IADT y de cumplir con los protocolos establecidos por el hospital, los casos culminan con la pérdida de los dientes afectados. Por lo tanto, es necesario encontrar una alternativa de diagnóstico que permita brindar una atención oportuna, evitando o al menos disminuyendo respuestas desfavorables de los tejidos después de la ocurrencia de la lesión. Alternativa que además deberá ser costo-efectiva teniendo en cuenta las necesidades y los recursos financieros de los pacientes.

1. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.1 Objetivo general

Realizar una revisión de carácter narrativo de la literatura científica internacional, que nos permita determinar si se han identificado biomarcadores y citocinas en el fluido gingival crevicular de dientes permanentes con reabsorción radicular externa y con antecedentes de trauma dentoalveolar.

1.2 Objetivos específicos

1. Identificar desde el punto de vista de la función proinflamatoria o reguladora de citocinas y biomarcadores, cuales están directamente relacionados con reabsorción radicular externa.
2. Determinar la metodología adecuada para la obtención de muestras de fluido gingival crevicular para identificación de citocinas y biomarcadores.
3. Proponer protocolo de obtención de muestras de fluido crevicular para posterior identificación de citocinas y biomarcadores involucrados en reabsorción radicular externa posterior a trauma dentoalveolar.

2. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

El manejo terapéutico de los dientes que han sufrido trauma dentoalveolar involucra un equipo interdisciplinario, su pronóstico depende del manejo inicial y del seguimiento que se haga a las complicaciones que se pueden presentar, como la reabsorción radicular externa, que puede aparecer años después de ocurrido el evento(5).

La IADT ha publicado directrices para permitirle al especialista y al odontólogo en general un mejor manejo del trauma dental sin embargo los métodos actualmente aceptados para el diagnóstico y tratamiento de LDT se basan en hallazgos tanto clínicos como radiográficos.

Estas técnicas imagenológicas presentan limitaciones como una baja sensibilidad en la detección de la patología, ya que sólo pueden detectar reabsorción después de que se pierde el 60-70% del tejido mineralizado, además sólo proporcionan información bidimensional y no identifica si el proceso sigue activo(6).

El conocimiento de los eventos fisiopatológicos que se dan durante el proceso de cicatrización posterior al trauma permiten realizar un manejo adecuado y evitar o minimizar los procesos radiculares resorptivos (reabsorción radicular superficial, inflamatoria, por reemplazo o anquilosis). El avance de la técnica en biología molecular, ha permitido tener una mejor comprensión del papel de los biomarcadores, citoquinas y factores de crecimiento (FC) que están involucrados en la regulación de las células involucradas en las fases de inflamación, proliferación y remodelación de los tejidos lesionados(5).

Para el área de endodoncia es importante conocer los avances científicos llevados a cabo hasta el momento en el desarrollo y aplicación de métodos para el análisis de biomarcadores y citocinas en fluido crevicular de dientes permanentes que han sufrido trauma dentoalveolar ya que la mayoría de estudios que han realizado estos análisis corresponden a estudios llevados a cabo por las áreas de periodoncia y ortodoncia donde han sido de gran ayuda para el diagnóstico de varias patologías propias de éstas especialidades.

Por lo anteriormente expuesto el diagnóstico, tratamiento y seguimiento de los casos con trauma dentoalveolar que son atendidos en la Fundación Hospital la Misericordia son parte esencial para garantizar un pronóstico favorable y aunque se realizan grandes esfuerzos por mejorar la calidad de vida de los pacientes mejorando la calidad en la atención de los mismos con tratamientos que siguen las directrices establecidas para el manejo de este tipo de lesiones, se ha determinado que los métodos disponibles para realizar un buen diagnóstico no nos permiten detectar a tiempo procesos de reabsorción radicular en casos donde las respuestas desfavorables de los tejidos se dan de forma rápida induciendo la pérdida de los dientes; esta revisión pretende aportar información a la comunidad educativa y prestadores de servicios de salud odontológicos acerca de una alternativa de diagnóstico basada en el análisis de fluido crevicular que en estos casos que podría servir para la toma de decisiones en cuanto a los procedimientos que se realizan por los residentes del posgrado de endodoncia de la facultad de odontología de la universidad nacional de Colombia en la Fundación Hospital la Misericordia. Además servirá como base para futuros estudios donde se pueda aplicar el protocolo propuesto para toma de muestras de fluido crevicular y posterior análisis de biomarcadores y citocinas donde eventualmente se puedan proponer alternativas de tratamiento e intervención oportuna, efectiva y eficiente para minimizar las complicaciones que actualmente se presentan y de esta forma mejorar la calidad en la atención odontológica que se brinda a los niños que asisten al hospital y a la facultad mencionados anteriormente.

3. DISEÑO METODOLÓGICO

A. Tipo de estudio

Revisión narrativa de la literatura.

B. Método de búsqueda de literatura

- Búsqueda electrónica en las bases de datos de la Universidad Nacional, Medline (PubMed), Embase, Cochrane, Science Direct, Scopus, Scielo y libros de texto.
- Palabras clave: Cytokines, dentoalveolar trauma, crevicular fluid, external root resorption, biomarkers.

C. Criterios de inclusión

- El periodo de tiempo seleccionado que se tuvo en cuenta para la búsqueda de literatura fue del año 1995 a la fecha.
- _ Los idiomas de redacción y publicación de la literatura que se aceptaron e incluyeron fue el inglés y el español.
- _ Se tomó la información referente a lesiones dentales traumáticas haciendo énfasis en la información concerniente a las características de una de las complicaciones que se presentan en estas lesiones como es la reabsorción radicular externa, información sobre biomarcadores y citocinas encontradas en fluido crevicular, métodos para análisis de biomarcadores y citocinas principalmente.
- Se tomó de referencia artículos tipo revisiones, estudios observacionales y experimentales que tomaron como objeto de estudio lesiones dentales traumáticas o reabsorción radicular externa, biomarcadores y citocinas en fluido crevicular gingival.

D. Criterios de exclusión

- _ No se incluyeron publicaciones que no estuvieron disponibles en texto completo.
- _ No se incluyeron artículos en idiomas diferentes al español e inglés.
-

A continuación se presenta una tabla resumen de los artículos encontrados en esta revisión los cuales analizaron biomarcadores y citocinas en dientes con reabsorción radicular externa secundaria a trauma (Tabla 3-1)

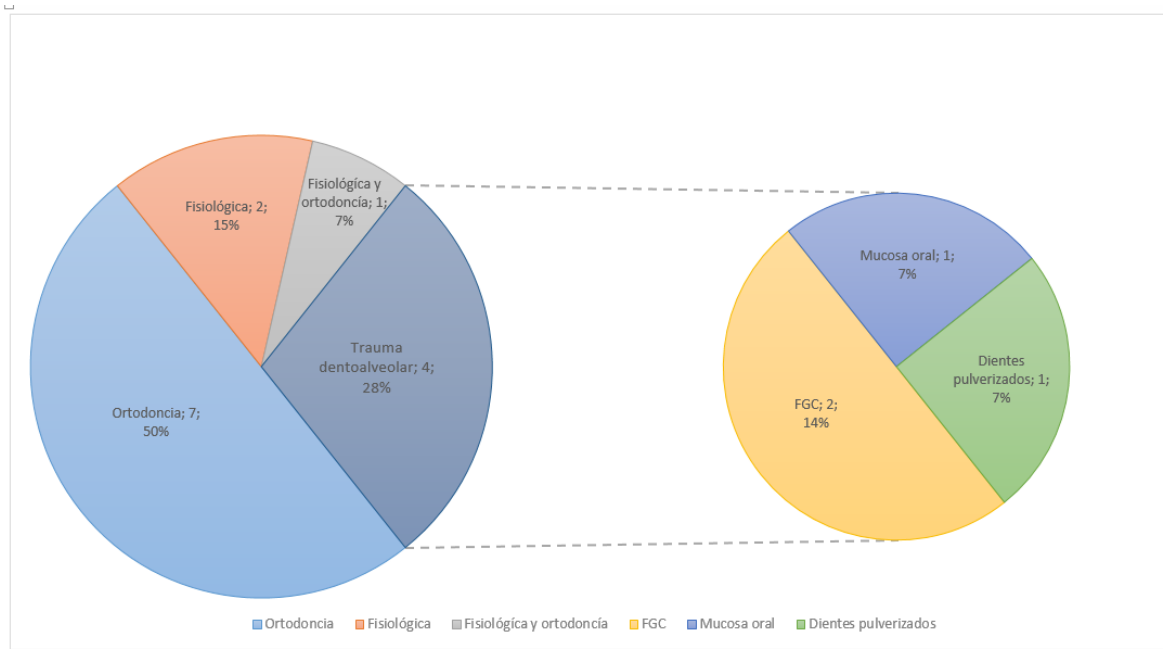
Tabla 3-1: Referencias bibliográficas (Identificación de biomarcadores y citocinas en dientes permanentes con radicular externa).

NUMERO	REFERENCIA	TITULO	TIPO DE ESTUDIO	JOURNAL
1	(7)	Dentine phosphoproteins in gingival crevicular fluid during root resorption	Experimental controlado	European Journal of Orthodontics
2	(6)	Biological markers for evaluation of root resorption	Experimental controlado	Elsevier
3	(8)	Identifi cation of dentine sialoprotein in gingival crevicular fl uid during physiological root resorption and orthodontic tooth movement	Experimental controlado	European Journal of Orthodontics
4	(9)	Detection of root resorption using dentin and bone markers	Experimental controlado	orthodontics craniofacial research

5	(10)	Relation of soluble RANKL and osteoprotegerin levels in blood and gingival crevicular fluid to the degree of root resorption after orthodontic tooth movement	Experimental controlado (en ratas)	Journal of oral science
6	(11)	Osteocalcin and N-telopeptides of type I collagen marker levels in gingival crevicular fluid during different stages of orthodontic tooth movement	Experimental controlado	American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics
7	(12)	Dentine sialoprotein expression in gingival crevicular fluid during trauma-induced root resorption	Experimental controlado	International Endodontic Journal
8	(13)	Trauma and Cytokines: Gingival Crevicular Fluid Biomarkers in Traumatized Permanent Incisors - A Pilot Investigation	Experimental controlado	THESIS (The Ohio State University)
9	(14)	Mass spectrometry analysis of gingival crevicular fluid in the presence of external root resorption	Experimental controlado	American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics
10	(15)	Immunoassay analysis of proteins in gingival crevicular fluid samples from resorbing teeth	Experimental controlado	Angle Orthodontist
11	(16)	Expression of Inflammatory Cytokines and Chemokines in Replanted Permanent Teeth with External Root Resorption	Experimental controlado	Journal of Endodontics
12	(17)	The Gingival Crevicular Fluid as a Source of Biomarkers to Enhance Efficiency of Orthodontic and Functional Treatment of Growing Patients	Revisión narrativa	BioMed Research International
13	(18)	Types of External Root Resorption of Replanted Teeth: Analysis of the Clinical Aspects and of Interleukin-4 Gene Polymorphisms Involvement	Experimental no controlado	Journal of Endodontics
14	(19)	A preliminary investigation of shortterm cytokine expression in gingival crevicular fluid secondary to high-level orthodontic forces and the associated root resorption: case series analytical study	Experimental controlado	Progress in Orthodontics

En la Gráfica 1 se observa el porcentaje de artículos encontrados en la literatura disponible y que hasta la fecha identificaron biomarcadores y citocinas en dientes permanentes con reabsorción radicular externa, ocasionada por el proceso fisiológico que se da durante la erupción dental, la reabsorción que se presenta durante el tratamiento ortodóntico y la reabsorción radicular externa posterior a trauma dentoalveolar que es el objetivo de esta revisión de la literatura.

Gráfica 1: Artículos con el porcentaje de la asociación de reabsorción radicular externa con trauma



4. TRAUMA DENTOALVEOLAR

Un traumatismo en la región oral se produce con frecuencia y representa un 5% de todas las lesiones para las que las personas buscan tratamiento en clínicas dentales y hospitales (20). En los niños las lesiones dentales traumáticas (LDT) en edad preescolar corresponden al 18% de todas las lesiones (1) y la incidencia varía del 1% al 3%(21).

El tratamiento de una LDT a menudo puede ser complicado y costoso (3), implica con frecuencia la participación de especialistas en varias disciplinas y a diferencia de muchas otras lesiones traumáticas tratadas de forma ambulatoria, una LDT en general es irreversible y por lo tanto es probable que el tratamiento continúe durante el resto de la vida del paciente (2) (3). Estas lesiones son comunes en niños pequeños debido al insuficiente desarrollo motor y cognitivo durante el proceso de aprendizaje, que implica acciones de pie, caminar y correr (22), la tendencia general indica que un tercio de todos los preescolares (dientes primarios) y una cuarta parte de los adolescentes y adultos jóvenes (dientes permanentes) experimentaron un trauma dentoalveolar por lo menos una vez durante su vida. Esto puede ser considerado significativo porque la cavidad oral comprende aproximadamente el 1% de la superficie total del cuerpo(23) y ciertos individuos tienen mayor riesgo de sufrir traumatismos dentales repetidos, lo que indica que el riesgo se correlaciona con los hábitos y el estilo de vida(24).

Los factores etiológicos están muy relacionados con la edad del paciente, algunos estudios indican que el trauma dentoalveolar está sesgado a la población más joven y probablemente más activos físicamente(25), con una distribución uniforme de los episodios de LDT en todas las edades (6-12 años) y un ligero predominio entre 10 a 11 años de edad, aunque la mayor prevalencia de niños traumatizados se encontró a la edad de 12 años.(26)(27). Otras lesiones se produjeron antes de los 34 años de edad (24)(28) y alrededor del 30% de las lesiones dentales se producen en la dentición primaria mientras que aproximadamente el 20% se producen en la dentición permanente(23)(29).

Existe una tendencia general que indica que las lesiones sufridas por niños pequeños se producen por caídas involuntarias, mientras que en adolescentes y adultos jóvenes los factores etiológicos más frecuentes de las lesiones que se experimentan son por accidentes en deportes de contacto, enfrentamientos violentos, accidentes de tráfico siendo la causa principal y más común las caídas (30) seguida por la práctica de deportes (31), montar bicicleta, colisión contra objetos o personas, accidentes de tráfico y violencia (26) que es otro factor alarmante para tener en cuenta debido su aumento (32). Sin embargo, la mayoría de las lesiones suceden en la casa o en la escuela (26) y la prevalencia de trauma dentoalveolar entre los adolescentes es moderado lo cual parece estar disminuyendo en parte de las poblaciones estudiadas de América Latina y el Caribe(24).

IDENTIFICACION DE BIOMARCADORES Y CITOCINAS EN FLUIDO CREVICULAR DE DIENTES PERMANENTES CON ANTECEDENTES DE TRAUMA DENTOALVEOLAR QUE PRESENTAN REABSORCION RADICULAR EXTERNA. REVISION NARRATIVA DE LA LITERATURA.

Estas lesiones pueden resultar del impacto directo o indirecto y el alcance de los daños está relacionado con factores tales como la energía del impacto, resistencia y forma del objeto impactante, dirección del impacto y la reacción de los tejidos circundantes de los dientes (33). Además de los tejidos dentales duros, en un trauma dentoalveolar, los tejidos circundantes también resultan afectados(34); factores determinantes previos son: la maloclusión y la ausencia de protección natural de los incisivos centrales superiores, los aparatos de ortodoncia que pueden originar lesiones de los tejidos blandos cuando se produce el traumatismo, caídas o situaciones médicas que pueden predisponer al paciente como la colocación del tubo endotraqueal (24).

La presencia de LDT previas y diferentes tipos de maloclusiones como mordida abierta anterior, mordida cruzada anterior, oclusión borde a borde; mordida cruzada posterior, aumento de overjet (distancia horizontal entre los bordes incisales superior e inferior de incisivos centrales > 3 mm) puede causar la pérdida de la función, problemas de estética y el efecto sobre el bienestar emocional y social en los niños en edad preescolar. Los niños más traumatizados son en la mayoría, casos de oclusión clase II más que clase I, con cobertura labial inadecuada (cuando los labios no cubren todo el diente, no absorben ningún impacto, y toda la fuerza se aplica al diente) en comparación con aquellos con cobertura labial adecuada. Los pacientes con sobremordida horizontal son 1,8 veces más propensos a sufrir lesiones, comparándolos con los que tienen mordida normal (35)(36)(30)(37). La mayoría de los traumatismos dentales, tanto en la dentición temporal y permanente involucra a los dientes anteriores(16), siendo más frecuentemente afectados los incisivos centrales superiores seguidos por incisivos laterales superiores(34)(33) En las escuelas públicas la prevalencia de trauma fue significativamente mayor que en las escuelas privadas (37) y es probable que los niños en edad preescolar con overjet, sean más propensos a sufrir trauma dentoalveolar en sus dientes permanentes al ser adolescentes y la severidad puede variar desde fracturas simples hasta la pérdida total del diente (38).

Se ha mencionado que el género es una variable de riesgo y que los niños experimentan LDT dos veces más que las niñas (39)(40), sin embargo, no hay diferencia de género, generalmente puede haber una reducción de esta diferencia porque hay un mayor interés y participación de las niñas en los deportes que han sido tradicionalmente descritos como masculinos. Las niñas pueden estar expuestas a los mismos factores de riesgo de LDT como los niños, lo cual es característico de la sociedad occidental moderna. Por lo tanto, es probable que las actividades de una persona y el medio ambiente sean factores más determinantes que el género.(25)(36)(41).

4.1 CLASIFICACIÓN DE LAS LESIONES DENTALES TRAUMÁTICAS

La clasificación de las lesiones dentales traumáticas comprende trauma a los tejidos dentales duros y de la pulpa, a los tejidos periodontales, a tejidos de soporte y a la mucosa oral (Tabla 4-2). Refleja la aplicación de la clasificación internacional de enfermedades de odontología y estomatología por la Organización Mundial de la Salud (OMS) (22).

Esta clasificación fue adaptada y modificada por Andreasen. En esta última se clasifican las lesiones de los tejidos periodontales en concusión, subluxación, luxación extrusiva, luxación lateral, luxación intrusiva y avulsión; mientras que en la de la OMS solo se consideran luxaciones en general. Además, Andreasen incorpora las lesiones de tejidos de soporte y las lesiones de tejidos blandos. Esta clasificación aplica tanto para dentición temporal como para dentición permanente(42)(43)

Tabla 4-2: Clasificación de las lesiones dentales traumáticas.

LESIONES A TEJIDOS DENTALES DUROS Y DE LA PULPA	Infracción del esmalte	Lesión incompleta del esmalte sin pérdida de estructura dental son fisuras que se identifican con transiluminación (crack).
	Fractura del esmalte	Afecta solo el esmalte.
	Fractura coronal no complicada	Se presenta pérdida de esmalte y dentina sin compromiso pulpar.
	Fractura coronal complicada	Se presenta pérdida de esmalte y dentina con exposición de tejido pulpar.
	Fractura coronoradicular no complicada	Involucra esmalte, dentina coronal, radicular y cemento sin exposición pulpar
	Fractura coronoradicular complicada	Involucra esmalte, dentina coronal, radicular y cemento con exposición pulpar.
	Fractura radicular	Involucra dentina radicular y cemento (complicado o no complicado dependiendo de la afectación pulpar).
	Concusión	No hay daño al ligamento periodontal (ausencia de movilidad o desplazamiento). Dolor a la percusión.
	Subluxación	Mínimo daño al ligamento periodontal (movilidad dental pero sin desplazamiento).Clínicamente se observa sangrado por surco gingival y dolor a la percusión.
	Luxación extrusiva	Desplazamiento parcial del diente en dirección axial fuera de su alvéolo.

IDENTIFICACION DE BIOMARCADORES Y CITOCINAS EN FLUIDO CREVICULAR DE DIENTES PERMANENTES CON ANTECEDENTES DE TRAUMA DENTOALVEOLAR QUE PRESENTAN REABSORCION RADICULAR EXTERNA. REVISION NARRATIVA DE LA LITERATURA.

LESIONES A TEJIDOS PERIODONTALES	Luxación lateral	Desplazamiento del diente en una dirección diferente a su eje axial. Suele estar acompañada de fractura del proceso alveolar.
	Luxación intrusiva	Desplazamiento del diente dentro del alvéolo. Suele estar acompañada de una fractura conminuta del proceso alveolar.
	Avulsión	Desplazamiento completo del diente fuera de su alvéolo.
LESIONES A LOS TEJIDOS DE SOPORTE	Conminución	Aplastamiento y compresión de la fosa alveolar.
	Fractura maxilar o mandibular de las paredes alveolares	Fractura confinada a las paredes vestibular, palatina o lingual de la fosa alveolar.
	Fractura del proceso alveolar maxilar o mandibular	Fractura del proceso alveolar que puede o no involucrar la fosa alveolar.
	Fractura maxilar o mandibular	Fractura que involucra la base de la mandíbula o el maxilar y a menudo el proceso alveolar.
LESIONES DE LA MUCOSA ORAL	Laceración de encía o mucosa oral	Herida superficial o profunda de la mucosa producida por un objeto punzante.
	Contusión de encía o mucosa oral	Producida por el impacto de un objeto contundente que produce hemorragia o hematoma.
	Abrasión de encía o mucosa oral	Herida superficial de la mucosa producida por un raspado que deja una superficie sangrante.

Tabla 1-1. Modificación de Andreasen JO, Andreasen FM (Frances M., Andersson L (Lars), Andreasen JO. Textbook and color atlas of traumatic injuries to the teeth. Blackwell Munksgaard; 2007.

En la mayoría de los casos, el trauma afecta un solo diente, pero ciertos eventos (deportivos, la violencia y los accidentes de tránsito) reportaron una mayor probabilidad de lesionar varios dientes(24), las fracturas más comunes se encontraron en dientes individuales (75%) seguido por dos dientes (21,8%). En la dentición permanente, las fracturas coronales no complicadas son el tipo más común de lesión(37), siendo la fractura de esmalte la más común en un (80,1%), seguida de fractura de esmalte y dentina (14,2%), lesión pulpar (1.1%), avulsión (0.2%) y sólo el 4,4% de las lesiones dentales fueron tratadas (27). La más común de las lesiones de tejidos periodontales es luxación lateral (4,3%) y subluxación (1,9%)(39). El mayor daño se da en intrusión apical debido a la compresión de las células del ligamento periodontal, del cemento en la superficie radicular y de las que se encuentran en la cripta ósea; las superficies convexas son más propensas a trauma siendo la luxación intrusiva, la mayor causa de respuesta desfavorable, seguido por avulsión, luxación lateral, luxación extrusiva, subluxación y concusión(44).

Una gran mayoría de pacientes llega en el transcurso de la primera semana después de sufrir trauma dentoalveolar, la principal razón del retraso en el tratamiento es la negligencia en el hogar y las medidas adecuadas de primeros auxilios que deben llevarse a cabo tan pronto como sea posible después de un traumatismo(45)(46). Como el trauma dentoalveolar es impredecible, el pronóstico de las lesiones es difícil de determinar con precisión, este se determina en muchas ocasiones en el lugar de los accidentes así que los pacientes con traumatismos dentales tienen que ser conscientes de que ciertas lesiones requieren varias citas y / o revisiones posteriores en el tiempo, por lo tanto, las tasas de éxito pueden ser muy variables de acuerdo a la naturaleza y a las circunstancias que causaron el trauma(37)

Las LDT pueden afectar los tejidos dentales blandos, duros y estructuras de soporte en diferentes formas y niveles de gravedad (47); la pérdida extensa de hueso, posible deformidad o interferencia oclusal y la complejidad de los traumatismos dentales incrementa la posibilidad de combinar diferentes lesiones que pueden conducir a diferentes complicaciones en la cicatrización, las cuales dependen de factores tales como el tipo de tejido afectado, el desarrollo radicular y la contaminación bacteriana (48).

Los dientes con formación radicular completa tienen un menor potencial para la regeneración y por lo tanto mayor probabilidad de presentar complicaciones. En general, la necrosis pulpar es la complicación histológica más común y es difícil de diagnosticar en casos de trauma. El diagnóstico tardío de necrosis pulpar después del trauma puede resultar en complicaciones adicionales, como periodontitis apical y reabsorción radicular inflamatoria; por lo tanto, las LDT requieren un monitoreo continuo ya que las complicaciones histológicas pueden ocurrir semanas, meses o incluso varios años después de la lesión y se sabe muy poco sobre su desarrollo en el tiempo(48).

En casos de avulsión la viabilidad de las células del ligamento periodontal, depende del tiempo extra-alveolar de los dientes, medio de almacenamiento y desarrollo radicular lo cual es crítico para el reimplante de los dientes(49). En el proceso de reparación que se produce dentro del hueso, existen ciertos mecanismos para proteger los dientes, estos mecanismos pueden fallar y las respuestas pueden ser desfavorables para los tejidos duros dentales. Las razones por las cuales se pierden tales barreras pueden corresponder al tipo y localización del proceso de reabsorción que sigue(44).

5. CICATRIZACIÓN

La cicatrización de heridas se define como la respuesta natural para reparar la lesión tisular, implica una cascada de acontecimientos complejos, ordenados y elaborados implicando muchos tipos celulares guiados por la liberación de mediadores y señales solubles capaces de influir en el homing celular a los tejidos

IDENTIFICACION DE BIOMARCADORES Y CITOCINAS EN FLUIDO CREVICULAR DE DIENTES PERMANENTES CON ANTECEDENTES DE TRAUMA DENTOALVEOLAR QUE PRESENTAN REABSORCION RADICULAR EXTERNA. REVISION NARRATIVA DE LA LITERATURA.

dañados(50).El objetivo del proceso de la reparación después de ocurrir LDT es restaurar la continuidad entre los márgenes de la herida y restablecer la función del tejido que puede ocurrir por la regeneración (cuando la estructura y función del tejido lacerado o perdido están completamente restaurados) o por la reparación (cuando la integridad del tejido lacerado o perdido se recupera por un nuevo tejido, que no restaure la estructura y función original)(51).

Un aspecto crítico para la supervivencia de los tejidos, es la capacidad para reparar el daño causado por las lesiones tóxicas y la inflamación así que la respuesta inflamatoria no sólo está encaminada a la eliminación de los agentes nocivos sino que también está direccionada a poner en marcha el proceso de reparación. Aunque la cicatriz fibrosa no es normal, proporciona la suficiente estabilidad estructural para que el tejido lesionado sea capaz de funcionar y en varios tipos de lesiones, tanto la reparación como la formación de la cicatriz contribuyen en diversos grados para que a largo plazo se dé la regeneración (52).

Dentro del proceso de cicatrización se han descrito cuatro etapas clásicas de la cicatrización de heridas: hemostasia, inflamación, proliferación y remodelación (53)(50), aunque en realidad, estas fases son más un continuo de pasos discretos(47); los acontecimientos de cada fase deben suceder de una manera precisa y regulada ya que las Interrupciones, aberraciones o la prolongación del proceso puede conducir a la cicatrización retardada de una herida o a la formación de una herida crónica que no cicatriza(53).La primera fase de la hemostasia comienza inmediatamente después de la herida, con constricción vascular y formación de coágulos de fibrina; el coágulo y el tejido circundante de la herida liberan citocinas pro-inflamatorias y factores de crecimiento(53) así como mediadores o citocinas que atraen leucocitos que inician la respuesta inflamatoria(22)(54). Las plaquetas son responsables de la activación y la liberación de importantes biomoléculas, incluyendo proteínas de plaquetas, factores de crecimiento específicos incluyendo el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factores de coagulación; adhesión de moléculas, citocinas / quimioquinas y factores angiogénicos capaces de estimular la proliferación y activación de las células implicadas en la cicatrización de heridas incluyendo fibroblastos, neutrófilos, macrófagos y células madre mesenquimales (MSC)(50).

Los neutrófilos y macrófagos son uno de los primeros tipos de células que se encuentran en los sitios de la herida, su papel también incluye fagocitar remanentes de microbios y tejido necrótico evitando de este modo la infección. Los macrófagos son células derivadas del linaje mieloide y se consideran una de las células clave implicados en la secreción de factores de crecimiento durante la reparación de heridas incluyendo el factor de crecimiento transformante beta (TGF- β), PDGF y factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF). Estas células, macrófagos, neutrófilos y plaquetas, son actores clave en la cicatrización de heridas y en combinación con su crecimiento secretan factores de crecimiento y citocinas

capaces de regenerar tejidos y de formar nuevos vasos sanguíneos (angiogénesis) como también pueden ser capaces de prevenir la infección(50).

Las heridas que presentan problemas de cicatrización, incluyendo las heridas agudas y heridas retardadas crónicas, generalmente no han logrado progresar a través de las etapas normales de reparación. Tales heridas con frecuencia entran en un estado de inflamación patológico debido a un proceso de reparación incompleto o falta de coordinación(53), proceso de reparación que conduce a la incorporación de la raíz en el proceso de remodelación normal del alvéolo, resultando en algunos casos en la sustitución gradual de la estructura dental por hueso. Los mecanismos de regulación de la reabsorción radicular externa por reemplazo (RERR) se conocen por completo y no hay tratamiento eficaz hasta ahora(55).

Existen múltiples factores que pueden conducir a problemas de cicatrización de la herida. En términos generales, los factores que influyen en la reparación se pueden clasificar en locales y sistémicos; los factores locales son los que influyen directamente en las características de la propia herida, mientras que los factores sistémicos son el estado general de salud o la enfermedad del individuo que afectan su capacidad para reparar (53).

El oxígeno es importante para el metabolismo celular, especialmente la producción de energía por medio de Adenosín trifosfato (ATP) que es crítico para casi todos los procesos de cicatrización. El nivel de producción de superóxido (un factor que permite destruir patógenos oxidativos) por los leucocitos polimorfonucleares es dependiente de los niveles de oxígeno y una función crítica de los neutrófilos es remover los microorganismos invasores así como restos celulares en el área de la herida, aunque estas células también producen sustancias como proteasas y especies reactivas de oxígeno (ROS) que pueden causar algunos daños adicionales (53). Debido a la interrupción vascular y al alto consumo de oxígeno por las células metabólicamente activas, el oxígeno en el micro entorno de la herida se reduce, es bastante hipóxico y la hipoxia puede inducir a citocinas y factores de crecimiento producidos por los macrófagos, queratinocitos y fibroblastos. Las citocinas que se producen en respuesta a la hipoxia incluyen PDGF, TGF- β , VEGF, factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y la endotelina-1 los cuales son promotores cruciales de la proliferación celular, migración, quimiotaxis y angiogénesis en la reparación de heridas(56).

Normalmente en la reparación de heridas, los ROS tales como peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y superóxido (O₂) actúan como mensajeros celulares para estimular los procesos clave asociados con la reparación de heridas, incluyendo la motilidad celular, la acción de citocinas (incluyendo la transducción de señales del PDGF) y la angiogénesis. Tanto la hipoxia y la hiperoxia aumentan la producción de ROS y un mayor nivel de ROS puede afectar el efecto beneficioso y causar daño tisular adicional(56).

IDENTIFICACION DE BIOMARCADORES Y CITOCINAS EN FLUIDO CREVICULAR DE DIENTES PERMANENTES CON ANTECEDENTES DE TRAUMA DENTOALVEOLAR QUE PRESENTAN REABSORCION RADICULAR EXTERNA. REVISION NARRATIVA DE LA LITERATURA.

La inflamación es una parte normal del proceso de reparación de heridas y es importante para la eliminación de microorganismos contaminantes. En ausencia de una eficaz descontaminación, la inflamación puede ser prolongada ya que la remoción de restos celulares y tejido dañado es incompleta. Las bacterias así como las endotoxinas, pueden conducir al aumento prolongado de citocinas pro-inflamatorias como interleuquina-1 (IL-1) y TNF- α alargando la fase inflamatoria; si esto continúa, la herida puede entrar en un estado crónico que conduce a fallas en la reparación. Esta inflamación prolongada también conduce a un mayor nivel de metaloproteinasas de la matriz (MMPs), una familia de proteasas que pueden degradar la matriz extracelular (MEC). En conjunto con el aumento del contenido de proteasas, una disminución del nivel de los inhibidores de proteasas de origen natural se produce(53).

Los cambios en los niveles de citocinas, MMPs e inhibidores de metaloproteinasas (TIMPs) en fluido gingival cervical (FGC) durante el proceso de cicatrización de heridas temprana o la respuesta inflamatoria proporcionan información importante en relación con el grado de remodelación y el metabolismo de colágeno alrededor de los dientes(57); las MMPs son proteínas de degradación involucradas no sólo en el proceso destructivo, también en el desarrollo embriológico, en el tejido de remodelación y en procesos de reparación de heridas siendo cruciales para la cicatrización de heridas (9). MMP-8 y MMP9 son las principales MMPs en los neutrófilos, mientras que MMP-8 principalmente degrada colágeno tipo I y III, MMP-9 es una enzima gelatinolítica que degrada varias proteínas de la matriz extracelular. Los niveles elevados de MMP-8 en FGC se han encontrado en los sitios de defecto interóseo después del tratamiento periodontal con membranas bioabsorbibles y en endodoncia en cirugía apical en 1 semana (10).

La cicatrización y la reparación de los tejidos depende de las medidas tomadas inmediatamente después del trauma y están relacionadas con el grado de contaminación bacteriana que pueda tener el diente y las estructuras involucradas como encía, piel y hueso, así como del adecuado manejo clínico. Diversos estudios han mostrado vías de invasión bacteriana luego del trauma dentoalveolar, aun en eventos menores cuando se ha perdido una pequeña cantidad de estructura, como en las fracturas del esmalte. Andreasen describe cómo después de una lesión traumática, se presentan rutas de infección y colonización por parte de las bacterias y por ello postula el uso de antibióticos, ya sea de manera sistémica o mediante aplicación tópica, para tratar de contrarrestar esta invasión bacteriana y conservar el tejido pulpar sano, libre de inflamación mejorando el pronóstico frente a una posible reabsorción radicular (34).

5.1 RESPUESTAS DE LOS TEJIDOS DESPUES DE TRAUMA DENTAL:

5.1.1 RESPUESTAS DEL TEJIDO PULPAR

El resultado más favorable de las lesiones dentales traumáticas es la completa restitución en estructura, función del tejido pulpar y tejidos circundantes. Las complicaciones en la cicatrización son más comunes en los dientes que han sufrido trauma en los tejidos de soporte, especialmente dientes con avulsión y con desarrollo radicular completo donde las complicaciones se producen con mayor frecuencia (48).

Si el proceso inflamatorio se prolonga por un estímulo continuo como infección bacteriana, se dan respuestas desfavorables llevando a cabo un proceso permanente que conducirá a la pérdida de los dientes. La pulpa dental con frecuencia está involucrada en el trauma dental y el daño depende del tipo de lesión. El daño se presenta de dos formas: La primera es una exposición de la pulpa a las bacterias orales a través de los túbulos dentinales expuestos en fracturas coronales no complicadas, o mediante la exposición directa de la herida en la superficie pulpar ocasionada por fracturas coronales o corono-radicular complicadas. En segundo lugar, la pulpa puede sufrir una exposición estéril después de la ruptura del ligamento periodontal o del cese del suministro neurovascular que ocurre a nivel del foramen apical en las luxaciones o en fractura radicular. Todas estas lesiones traumáticas tienen impacto directo sobre los tejidos dando lugar a diversas respuestas tanto favorables como desfavorables en pulpa, tejidos periodontales y tejidos blandos. Dentro de las respuestas favorables que se presentan a nivel del tejido pulpar se encuentran: restablecimiento y retorno a la normalidad: formación de dentina terciaria (reaccionaria o reparativa), revascularización pulpar, fibrosis pulpar y calcificación del sistema de conductos radiculares. También encontramos respuestas desfavorables como: inflamación crónica pulpar (pulpitis), necrobiosis pulpar, necrosis pulpar (Con o sin infección), infección del sistema de conductos radiculares, reabsorción radicular interna (superficial, inflamatoria y/o por reemplazo), combinaciones de lo anterior (simultáneamente y/o secuencialmente en el tiempo)(58).

5.2.2 RESPUESTAS DE LOS TEJIDOS PERIODONTALES

Los tejidos periodontales comprenden ligamento periodontal, cemento y hueso en los cuales se dan respuestas inmunes ante cualquier daño para promover la cicatrización y proteger los tejidos de bacterias que los puedan invadir. Sin embargo células como neutrófilos, macrófagos, linfocitos y osteoclastos pueden conducir a la reabsorción ósea y radicular en la cual el proceso de reparación depende de dos factores importantes: el potencial de regeneración y la velocidad con que las células de los tejidos reaccionan para rodear la zona dañada dándose respuestas

IDENTIFICACION DE BIOMARCADORES Y CITOCINAS EN FLUIDO CREVICULAR DE DIENTES PERMANENTES CON ANTECEDENTES DE TRAUMA DENTOALVEOLAR QUE PRESENTAN REABSORCION RADICULAR EXTERNA. REVISION NARRATIVA DE LA LITERATURA.

favorables y desfavorables (Tabla 5-3) ante el daño generado por trauma dental(58).

Tabla 5-3: Respuesta de los tejidos periodontales después de trauma dental(58)

RESPUESTAS FAVORABLES	RESPUESTAS DESFAVORABLES
<p><u>Restablecimiento y retorno a la normalidad</u></p> <p>La supervivencia de células del ligamento periodontal es vital para la reparación de los tejidos periradiculares, en lesión extrusiva el LP repara de forma adecuada. Cuando se pierde el LP conduce a la anquilosis pero si el daño es menor a 4mm la anquilosis se puede dar de forma transitoria. La reabsorción inicial que se da en la superficie del tejido óseo después de una luxación puede reparar gracias al potencial osteogénico que está fuertemente influenciado por la edad.</p> <p><u>Cicatrización fibrosa</u></p> <p>Precusores del tejido conectivo como fibroblastos productores de colágeno intervienen en la reparación del LP dañado formando tejido conectivo fibroso con menos potencial osteogénico.</p> <p><u>Ruptura apical transitoria (TAB)</u></p> <p>La reparación en estos casos se da cuando se presentan lesiones como subluxación o luxaciones leves y la revascularización inicia de 1 a 3 meses completándose a los 6 meses después de la lesión. Si el desplazamiento del diente en el alvéolo es mayor como en el caso de intrusión o avulsión, la probabilidad para que se produzca TAB es menor.</p>	<p><u>Interrupción o alteraciones del desarrollo radicular</u></p> <p>El daño ocasionado después de un trauma dental a la vaina epitelial de Hertwing en dientes con formación radicular incompleta puede resultar en el cese parcial o total del desarrollo radicular dejando raíces delgadas, débiles y susceptibles a fractura conduciendo eventualmente a la pérdida del diente.</p> <p><u>Resorción ósea (de la altura de la cresta ósea, apical y/o lateral)</u></p> <p>Los componentes del proceso alveolar como hueso alveolar, hueso cortical y hueso esponjoso pueden ser afectados de forma indirecta en lesiones como luxación lateral, luxación intrusiva o avulsión y de forma directa en fracturas alveolares. Al eliminarse la capa superficial de osteoide o la presencia de endotoxinas producen un aumento en la actividad osteoclástica que puede dar origen a procesos de reabsorción ósea.</p> <p><u>Reabsorción radicular externa (Superficial, inflamatoria, cervical, por remplazo o anquilosis)</u></p> <p>La pérdida del LP y posterior pérdida de la capa cementoide, cemento y dentina deja la raíz expuesta permitiendo que los osteoclastos y los macrófagos se adhieran libremente a la superficie de dentina mineralizada produciendo reabsorción radicular. El tipo de reabsorción está determinado por la superficie dañada, por presencia o ausencia de infección bacteriana y por la proximidad de las células clásticas.</p> <p><u>Combinaciones de lo anterior (Simultáneamente y/o secuencialmente con el tiempo)</u></p> <p>Depende de la extensión de la lesión y posterior infección de la herida.</p>

6. REABSORCION RADICULAR EXTERNA (RRE)

Se da por una interacción compleja entre células inflamatorias, células clásticas y estructuras de tejido duro donde se presentan cambios químicos en estos tejidos por la combinación de factores fisiológicos o patológicos que conducen a la pérdida de esmalte, dentina, cemento y tejido óseo dado por la acción de células clásticas responsables de los procesos de reabsorción de tejido duro. Dependiendo del tejido

reabsorbido por estas células, se les denomina osteoclastos, odontoclastos o cementoclastos (59). Los osteoclastos son células gigantes multinucleadas que se encuentran dentro de lagunas de reabsorción conocidas como lagunas de Howship o criptas en las superficies de tejido duro y aunque los odontoclastos son generalmente más pequeños en tamaño que los osteoclastos, sus características morfológicas y funcionales son similares y probablemente tienen el mismo origen(60), también se menciona que los cementoclastos tienen células precursoras y propiedades metabólicas enzimáticas similares a un osteoclasto compartiendo el mecanismo regulador común de la reabsorción celular de tejidos mineralizados tales como hueso y dentina. La reabsorción radicular es un desafío en odontología debido a la compleja biología celular y molecular ya que las diversas células implicadas en la reabsorción, interactúan por diversas citocinas, hormonas, enzimas, y tejidos duros que influyen en la progresión de la reabsorción(61)(19).

La reabsorción radicular fisiológica está asociada a dientes primarios y es favorable porque es un proceso que da lugar a la exfoliación de los dientes, permitiendo así la erupción de los dientes permanentes sucesores. Sin embargo, la reabsorción radicular en dientes permanentes es desfavorable porque es un proceso patológico que puede dar lugar a daños irreversibles y / o pérdida eventual de los dientes (62),(63); el proceso patológico se produce tanto en dentición primaria como en dentición permanente(59) y es iniciada y mantenida por muchos factores como necrosis pulpar, trauma, tratamiento periodontal, tratamiento de ortodoncia y agentes de blanqueamiento dental que son los estimulantes más comúnmente descritos mencionándose que independientemente de la causa inicial, el proceso es en gran parte de origen inflamatorio(62). En dientes permanentes la reabsorción radicular interna se produce con menos frecuencia que la reabsorción radicular externa, por lo general, afecta de forma individual a los dientes anteriores y en ocasiones se observa de forma simultánea en varios dientes; en dientes con formación radicular incompleta la capa de dentina es delgada y los túbulos dentinales son amplios permitiendo que esta estructura sea más susceptible a procesos patológicos(59). En pacientes jóvenes con amplios túbulos dentinales las bacterias y los irritantes se desplazan fácilmente desde el conducto radicular hacia la superficie externa de la raíz, manteniendo una respuesta inflamatoria persistente que resulta en el desarrollo de una reabsorción radicular externa progresiva(64).

La reabsorción radicular externa es un reto importante después del reimplante de dientes, es causada principalmente por el total o incluso por la pérdida parcial del ligamento periodontal, especialmente cuando las condiciones ideales para el éxito del reimplante no existen y parece estar influenciada también por la respuesta inmune del huésped. Los pacientes atópicos, que tienen una respuesta inmune predominante de linfocitos T-ayudadores (Th2) han expuesto menos reabsorción radicular después del reimplante. Por lo tanto, el perfil inmunológico predominante del paciente, la intensidad de la reacción inflamatoria desencadenada por el trauma dentoalveolar, la penetración y proliferación de bacterias en el microambiente determinará el resultado del tejido afectado(65), así como extensas zonas de

reabsorción en los dientes permanentes son indicaciones para la resección, amputación, hemisección radicular o incluso conducir a la extracción del diente(59).

6.1 ETIOLOGIA

El proceso de reabsorción es similar en hueso y en dentina, la etiología de la reabsorción radicular es multicausal (66) y la capacidad de reparación del ligamento periodontal puede ser hasta 1,5 mm inicialmente, si las áreas de daño son mayores, éstas pueden no sanar siendo propensas a la reabsorción radicular donde se presenta daño significativo en el cemento. El cemento es considerado como el tejido protector de reabsorción subyacente de dentina radicular y el daño o la deficiencia de esta capa de cemento por debajo de la unión epitelial exponen la superficie de la raíz a los osteoclastos, el cemento y el ligamento periodontal son barreras de protección para la reabsorción radicular externa las cuales protegen la raíz en su totalidad.(44). El daño mayor de estas barreras permite que los osteoclastos se unan a la raíz y si una respuesta inflamatoria se produce adyacente a esta superficie, puede iniciar el proceso de reabsorción afectando dentina y preentina (61). Los cementoblastos también expresan el ligando receptor activador del factor nuclear kappa B (RANK-L) y osteoprotegerina (OPG), que es modulada por el péptido relacionado con la hormona paratiroidea (PTHrP) que controla la regulación de los niveles de expresión de RANK-L / OPG en células del folículo dental, así como en células del ligamento periodontal aumentando RANK-L y regulando la expresión de OPG a través de un Adenosín monofosfato cíclico (AMPc). La proteína quinasa A (PKA) conduce a la reabsorción radicular fisiológica de los dientes deciduos y al éxito en la erupción de dientes permanentes. Los cementoblastos secretan grandes cantidades de OPG en ausencia de reabsorción y ésta podría ser la razón por la que el cemento está más protegido de la reabsorción que el hueso. La fosfatasa ácida tartrato resistente (TRAP) es una enzima activa, que desempeña un papel en la reabsorción ósea dentro y fuera de los osteoclastos. TRAP puede eliminar grupos fosfato de osteopontina (OPN) y posteriormente alterar la adhesión de los osteoclastos al hueso(67), se sugiere que la enzima regula la adhesión de los osteoclastos al tejido óseo y también permiten la migración de éstos a sitios adyacentes a la reabsorción. La capacidad de TRAP para degradar fosfoproteínas en el hueso por desfosforilación ilustra una etapa preliminar en la degradación de la matriz ósea, que es un inhibidor de la reabsorción. Intracelularmente, TRAP se ha localizado en las vesículas de osteoclastos y en algunas ocasiones, el sistema inmunológico ataca la dentición por una respuesta inmune desconocida que trata de destruir sus raíces, un proceso llamado reabsorción radicular idiopática (60).

6.2 MECANISMOS REGULADORES DE LAS CÉLULAS IMPLICADAS EN LA REABSORCIÓN RADICULAR

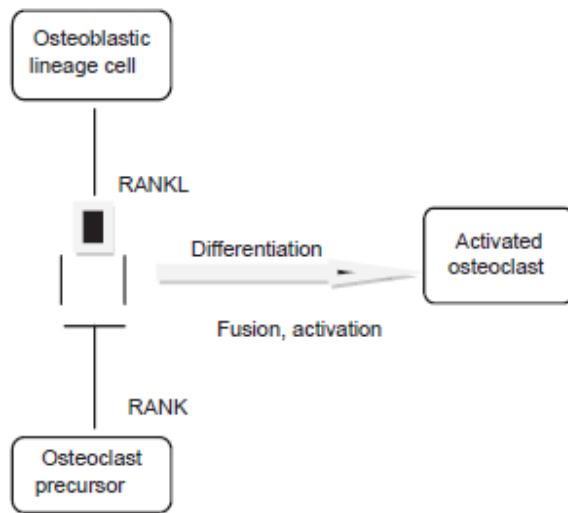
Las células encargadas de la reabsorción son los osteoclastos, células grandes (100 μm), multinucleadas, ricas en mitocondrias y vacuolas. Los osteoclastos contienen TRAP, que permite la desfosforilación de las proteínas, cuya actividad es aprovechada para su identificación, tanto in vivo como in vitro y además tienen receptores para calcitonina. Los osteoclastos proceden de células madre hematopoyéticas medulares denominadas “Unidad Formadora de Colonias de Granulocitos y Macrófagos” (GM-CFU), precursores de macrófagos y monocitos(68). Por circulación sanguínea los monocitos se reclutan al sitio de la irritación por la liberación de muchas citocinas proinflamatorias y por lo tanto se diferencian en macrófagos; la migración y el reclutamiento de macrófagos están regulados por factores quimiotácticos macrofágicos que se derivan de productos óseos y de la descomposición del tejido. Se ha sugerido que las células pulpares pueden tener algunas células productoras de citocinas, que median el linaje monocito-macrófago para formar osteoclastos /odontoclastos (57).

6.2.1 FASE DE ACTIVACION

En la osteoclastogénesis los osteoblastos son fundamentales para la formación de osteoclastos. Así, el factor estimulante de colonias de macrófagos (GM-CSF) producido por los osteoblastos es requerido en las primeras fases de la osteoclastogénesis para la formación de células gigantes multinucleadas(68).

La regulación de la osteoclastogénesis se basa en la interacción de 3 moléculas: **OPG** (proteína de 380 aminoácidos que carece de dominios transmembrana y citoplásmicos, se secreta como una proteína soluble y es un miembro de la familia de receptores del TNF y receptor de RANK-L, producida por los osteoblastos y otras células como células del estroma, células endoteliales, células de músculo liso, de aorta, fibroblastos, células dendríticas y líneas celulares linfoides) factor clave para la inhibición de la diferenciación de los osteoclastos (51), **RANK-L** (ligando situado en la superficie de osteoblastos y pre-osteoblastos, es una citocina transmembrana perteneciente a la familia de TNF y receptor activador del factor nuclear κB (**RANK**) situado en la membrana de osteoclastos y pre-osteoclastos). La interacción entre RANK-L y su receptor RANK produce una activación de la diferenciación y activación osteoclástica como se ilustra en la Figura 6-1, aumentando la reabsorción. Entonces, el contacto físico entre el osteoblasto (que presenta RANK-L) y el progenitor osteoclástico (RANK) es esencial para la interacción directa de RANK-L con RANK para dar lugar a la formación y activación de osteoclastos(68)(67).

Figura 6-1: Activación de precursores de osteoclastos por la unión de RANKL y RANK (60).



6.2.2 MECANISMOS DE FIJACION

Las proteínas de MEC como la OPN presente en la superficie de tejido óseo sirve como sitio de adhesión para los osteoclastos, pues la OPN tiene diferentes dominios, un dominio que se adhiere al hueso y otro a los receptores de las integrinas en la membrana plasmática del osteoclasto. Entre el borde en cepillo del osteoclasto y el tejido duro se crea un microambiente ácido conocido como lagunas de reabsorción y como un mecanismo autoregulatorio, los osteoclastos/odontoclastos activos progresivamente incrementan el calcio citoplasmático, mediado por 2 proteínas intracelulares que se adhieren al calcio: calmodulina y calcitonina. La calcitonina modula la fosforilación de las proteínas tirosin quinasa 2 y el proto-oncogen Src y su organización intracelular en la célula clástica, que a su vez desactiva las capacidades de reabsorción de la célula clástica bloqueando la extrusión de protones, disminuyendo la expresión de la OPN y alterando la capacidad de unión al podosoma lo que resulta en el desprendimiento de la superficie mineral. La adhesión de la célula clástica al sustrato mineral permite la activación intracelular para degradar el componente mineral y la fijación a la MEC se da a través de podosomas que contienen filamentos de actina y F-actina así como un heterodímero $\alpha\beta$ para unión a la secuencia de aminoácidos (Arginina-Glicina- Aspartato) RGD que se encuentra en diferentes proteínas del hueso y la dentina como OPN y sialoproteína dentinal (DSP) siendo mayor la concentración de estas proteínas no colágenas en dentina, lo que podría mostrar un mayor

potencial de este sustrato para la diferenciación de células clásticas y aumento de IL-1. Otra proteína de adhesión de matriz expresada en los dientes, ameloblastina, juega un papel esencial en la mediación de la reabsorción radicular ya que inicia una cascada dependiente de integrinas de las señales de la matriz extracelular que conducen a un aumento de la fosforilación de las vías de señalización ERK1/ 2 y AKT y la regulación positiva de genes que regulan la proliferación y diferenciación, que afectan el número y la maduración de las células clásticas y afectan su actividad de reabsorción mediante la regulación de la adhesión celular y la polimerización de actina(58).

La osteonectina es una glicoproteína con gran afinidad por el colágeno tipo I, por el calcio y por la hidroxiapatita, representa el 25% de las proteínas no colágenas y se cree que interviene en la regulación de la adhesión celular de la matriz a las células y al hueso, necesaria para la mineralización normal. Otra glicoproteína es la fosfatasa alcalina (ALP), una enzima que libera fosfato inorgánico a partir de ésteres fosfóricos, necesario para la mineralización. Existen varias isoenzimas y entre ellas la ósea, la cual se ha considerado un buen marcador de la actividad osteoblástica y cinco proteínas con el tripéptido de la secuencia RGD que son OPN, sialoproteína ósea (BSP), fibronectina, trombospondina y vitronectina, las cuales son glicoproteínas fundamentales en los procesos de remodelado y regeneración ósea, con una secuencia RGD que es reconocida por las integrinas de los osteoblastos y los osteoclastos ($\alpha v\beta 3$). También actúan como receptores de superficie de las células óseas permitiendo la adhesión de las células a la matriz extracelular activando señales(68).

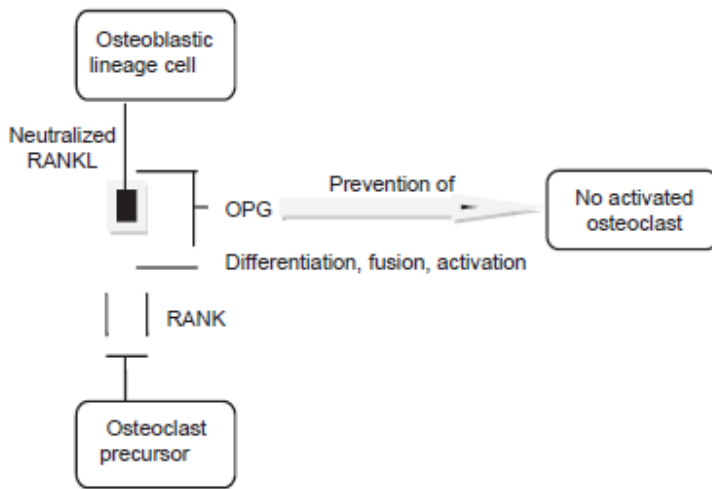
Los osteoclastos tienen en la membrana un borde en cepillo, zona que da lugar a la reabsorción y una zona clara rica en microfilamentos que contienen integrinas las cuales sirven de anclaje a la matriz extracelular; para ello, los osteoclastos se desplazan hacia la zona que va a ser reabsorbida y posteriormente se adhieren a la superficie ósea mineralizada por el borde en cepillo, sellando los bordes del área mediante las integrinas. La integrina del osteoclasto particularmente $\alpha v\beta 3$ (glicoproteína que participa en la unión de las células con la matriz extracelular), reconoce la secuencia RGD existente en el colágeno y otras proteínas de la matriz osteoide. El pH es ácido, ya que los osteoclastos secretan ácidos (H^+) generados por anhidrasa carbónica II y enzimas proteolíticas como colagenasas, metaloproteasas, catepsina K, glucuronidasa, que van a originar la reabsorción del hueso mediante la solubilización de la matriz orgánica y mineral(68).

6.2.3 SISTEMA DE CONTROL

La unión de OPG a RANK-L, inhibe la unión de RANK-L a RANK como se ilustra en la Figura 3-2, impidiendo la diferenciación osteoclástica (Figura 6-2). Por ello OPG, RANK y RANK-L son importantes reguladores de la osteoclastogénesis. La OPG actúa como un receptor señuelo que puede unirse al RANK-L e interferir con

su unión a los receptores RANK, y por lo tanto inhibir la formación de osteoclastos (61).

Figura 6-2: Neutralización de RANKL por OPG y la prevención de la interacción RANK-L-RANK (60).



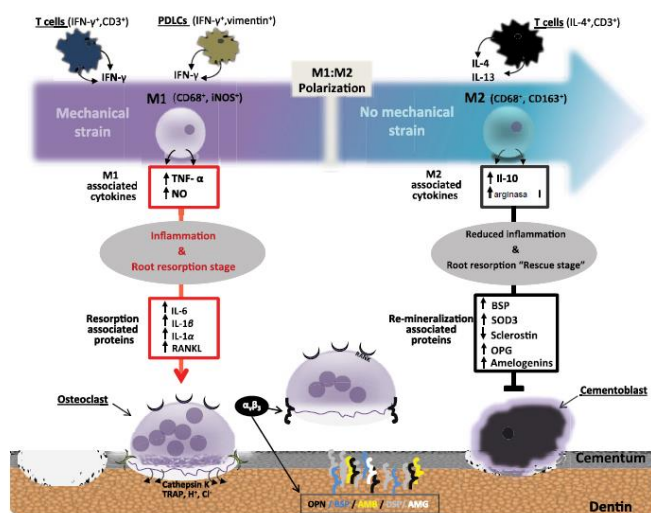
6.2.4 FASE DE REABSORCION

El proceso de reabsorción ocurre en dos etapas: degradación de la estructura mineral seguida por la desintegración de la matriz orgánica. La degradación de la estructura inorgánica ocurre gracias a enzimas como la fosfatasa ácida y la anhidrasa carbónica II presente en los osteoclastos. Estas enzimas son sintetizadas en el retículo endoplasmático rugoso, transportadas por el aparato de Golgi y llevadas al borde en cepillo del osteoclasto mediante vesículas transportadoras, siendo liberadas en la laguna de reabsorción. La enzima anhidrasa carbónica II cataliza la conversión intracelular del CO_2 a H_2CO_3 , el cual provee una fuente de iones H^+ fácilmente disponible para ser bombeado a la región subosteoclástica a través de la bomba de protones asociada con el borde en cepillo. La desintegración de la matriz orgánica es provocada por la cisteín proteinasa, colagenasa, y enzimas metaloproteinasas de matriz. Las cisteín proteinasas actúan en un pH ácido cerca al borde en cepillo, mientras la colagenasa y las metaloproteinasas de matriz actúan en la superficie de hueso reabsorbido donde el pH es cercano al neutro debido a la capacidad de amortiguación de las sales óseas disueltas. Los productos de degradación orgánica e inorgánica posteriormente son endocitados en el borde en cepillo, transportados en vesículas y liberados extracelularmente a través de la membrana celular opuesta al borde en cepillo. La influencia de los macrófagos en el proceso de reabsorción podría ser crítico, pues dependiendo de las condiciones en el

microambiente celular podrían observarse dos fenotipos: los macrófagos clásicamente activados o “killer”, y los macrófagos activados alternativamente o “reparadores”, lo que les permite mediar la inflamación y la homeóstasis tisular. En este sentido, los macrófagos tipo “killer” estarían incrementados con respecto a los tipo “reparadores”. En la reabsorción radicular los macrófagos tipo “killer” promueven la inflamación mediante la secreción de citocinas proinflamatorias (TNF- α) con la regulación positiva de la producción de óxido nítrico, mientras que los “reparadores” tienen efecto inhibitorio sobre la inflamación mediada por IL-10 y arginasa I. Igualmente, los macrófagos “killer” son activados por citocinas tipo Th1, como el interferón γ (INF- γ), mientras que los macrófagos “reparadores” están regulados mediante citocinas tipo Th2 (IL4 o IL-13)(67).

Se describen dos fenotipos distintos *in vitro*: el primero son macrófagos activados clásicamente (M1) o macrófagos “asesinos” y el segundo son macrófagos activados alternativamente (M2) o macrófagos “reparadores”, se observa la plasticidad en el cambio de polarización del estado de M1 a M2 dependiendo de las condiciones en el microambiente celular, que les permite mediar la inflamación y la homeostasis tisular. Con respecto a esto, los números del tipo de células M1 frente a M2 aumentado probablemente se encuentra asociado con la reabsorción radicular y el mecanismo que explica esto, es que los macrófagos M1 promueven la inflamación mediante la secreción de citocinas proinflamatorias como TNF- α con regulación positiva de la producción de óxido nítrico, mientras que los macrófagos M2 tienen un efecto inhibitorio sobre la inflamación mediada por la interleuquina 10(IL-10) y arginasa I por la secreción de varias citocinas proinflamatorias como se ilustra en la figura 6-3. M1 son activados por citocinas Th1, tales como INF- γ , mientras que los macrófagos M2 están regulados por citoquinas Th2 (IL-4 o IL-13). (67).

Figura 6-3: Influencia crítica de los macrófagos en el proceso de reabsorción radicular (67).

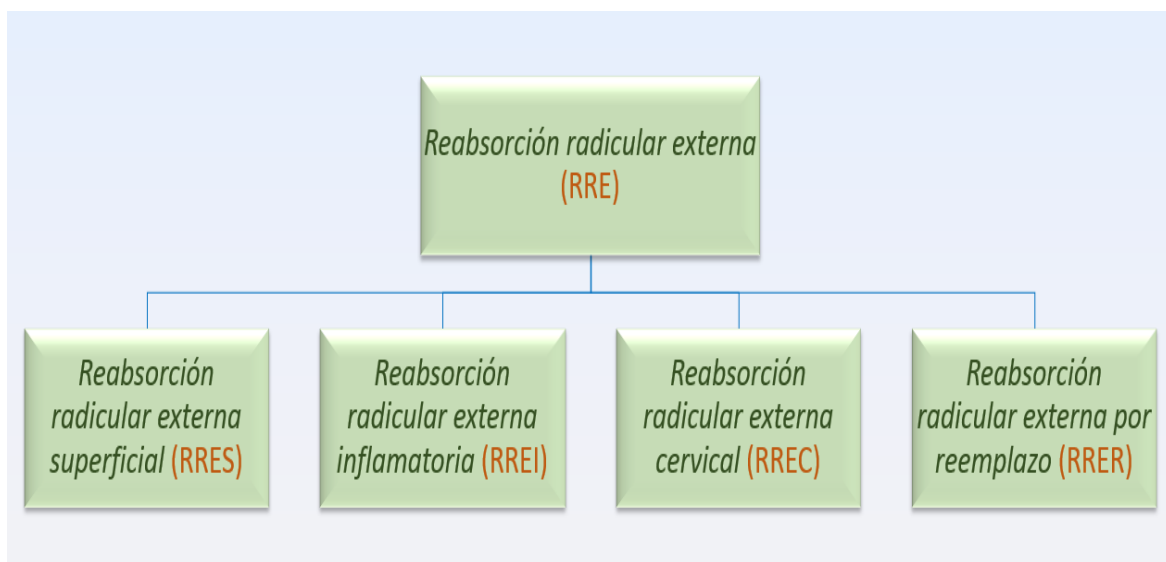


Muchas vías de señalización química autocrina y paracrina median los 3 aspectos celulares clave de fusión / activación de células, la adhesión celular clástica, y las capacidades de reparación de tejido mineralizado en una serie de eventos celulares autorregulados de activación. La reciente literatura menciona que es probable que la vía molecular que conduce a la reabsorción de la raíz no sea una y dependiente de un solo factor de regulación. En contraste con esto, es muy probable que las vías moleculares y factores mencionados interactúan en las células y la influencia de células efectoras de la resorción en el nivel de la fusión, la activación y la adhesión celular. Del mismo modo, las diferencias en la remineralización y la formación de tejido de la raíz incluso puede dar cuenta de las diferencias en las capacidades de reparación o la susceptibilidad de la raíz dental a la reabsorción patológica por células clásticas (58).

6.3. CLASIFICACIÓN DE REABSORCION RADICULAR EXTERNA

El sistema de clasificación propuesto por Andreasen es ampliamente conocido, las lesiones de reabsorción radicular simplemente se clasifican como externa o interna. La primera lesión se produce en la parte externa de la raíz, la última lesión se produce en la dentina del conducto radicular y / o cámara pulpar. (44) Como se ilustra en la Figura 6-4 se ha añadido una categoría adicional en la categoría de reabsorción externa la cual es reabsorción cervical externa(69).

Figura 6-4: Esquema de clasificación basado en las descripciones de reabsorción de Andreasen(44)



6.3.1. REABSORCIÓN RADICULAR EXTERNA SUPERFICIAL (RRES)

Es la consecuencia de una lesión localizada y limitada a la superficie de la raíz o periodonto circundante (70)(71). Se ha definido como pequeñas cavidades de reabsorción superficial en las capas de cemento y dentina más exteriores.(44)

Es un proceso que afecta más al cemento, está asociada a procesos de reparación en ausencia de bacterias o estímulo inflamatorio persistente; no es progresiva, es auto limitante y la reparación se da de forma espontánea. Radiográficamente no se observa ningún hallazgo y en casos donde se puede detectar se ven lagunas de reabsorción que se localizan en zonas laterales de la raíz y hacia apical con integridad de la cortical(22)(21) (44)

6.3.2. REABSORCIÓN RADICULAR EXTERNA INFLAMATORIA (RREI)

Es el tipo más común de reabsorción externa(59) y es una de las complicaciones más graves en los dientes permanentes reimplantados siendo un proceso progresivo que puede dañar irreversiblemente la estructura de las raíces que conducen a la pérdida de dientes, es estimulada por la necrosis pulpar e infección del conducto radicular después de una lesión traumática que afecta el ligamento periodontal y la superficie radicular(72).

Se asocia a procesos infecciosos con estimulación prolongada a la superficie radicular dañada o denudada, afecta tejidos dentales como cemento y dentina y también a tejido óseo adyacente. Cuando está asociada a necrosis del tejido pulpar se encuentra localizada más hacia apical pero en casos de trauma la localización depende del sitio donde ha sido afectado el ligamento periodontal y el cemento, siendo este tipo de reabsorción muy agresiva con rápido desarrollo (22)(21)(44).

La prevalencia de RREI que se presenta después de todos los tipos de luxación es aproximadamente 4,9%, sin embargo, la frecuencia de RREI después de lesiones como luxación intrusiva es del 38% y en el 30% en dientes reimplantados después de avulsión (73).

La RREI progresiva es frecuente en dientes reimplantados que han sido manipulados inadecuadamente o que han permanecido más de sesenta minutos fuera del alvéolo y en un medio de transporte inadecuado e incluso en dientes cuyo tratamiento endodóntico no se ha iniciado. Clínicamente, el diente reimplantado puede estar móvil, extruido y sensible a la percusión con un sonido sordo a la percusión. Luego de tratar el conducto radicular y retirar la infección que estimula la respuesta inflamatoria, pueden quedar zonas desprovistas de sellado; entonces

las células cercanas compiten por llenar el espacio de raíz denudada y esto puede ocasionar la aparición de una reabsorción por remplazo(74)(75).

Radiográficamente se observan lesiones radiolúcidas cóncavas a lo largo de la superficie radicular, con radiolucidez en el hueso alveolar adyacente. Este tipo de reabsorción es dependiente de la presencia de tejido necrótico infectado dentro del espacio del conducto radicular del diente afectado para su desarrollo y progresión. El proceso comienza como reabsorción superficial, en algunos casos, este evento es transitorio exponiendo los túbulos dentinales subyacentes y permitiendo que las toxinas bacterianas que se encuentran dentro del conducto radicular penetren a través de los tejidos periodontales. Las toxinas estimulan e intensifican la progresión del proceso de reabsorción y éste se dirige hacia el espacio del conducto radicular(71)(73)(76). La RREI puede avanzar rápidamente, es muy agresiva de manera que toda la raíz puede ser reabsorbida dentro de unos pocos meses(47) y puede controlarse o prevenirse mediante el tratamiento eficiente de conductos radiculares(33).

La progresión del proceso de reabsorción depende de factores adicionales que estimulan continuamente el reclutamiento, la diferenciación y activación de las células de reabsorción. RREI está soportada por la respuesta inmune contra las bacterias y sus subproductos presentes en el interior del conducto radicular que llegan al ligamento periodontal dañado a través de los túbulos dentinales (4) y los estudios clínicos muestran que el tratamiento endodóntico adecuado previene o elimina RREI(55).

6.3.3 REABSORCIÓN RADICULAR EXTERNA CERVICAL (RREC)

Es una reabsorción localizada inicialmente en el tercio cervical subepitelial, su origen es infeccioso. Cuando el estímulo es prolongado puede expandirse hacia dentina y esa expansión se puede extender hacia coronal como hacia apical, la etiología está dada por procesos inflamatorios e infecciosos (22)(21) (44)

La causa exacta es poco conocida, el perfil anatómico de la unión amelocementaria también puede predisponer a esta región a RREC. El análisis microscópico de la región cervical de los dientes ha demostrado que hay espacios frecuentes de cemento en esta zona, dejando la dentina mineralizada subyacente expuesta y vulnerable a la reabsorción; el tejido pulpar no juega ningún papel en la etiología de esta lesión .(63), es una complicación reconocida en luxaciones y avulsión(71)

Se han sugerido varios factores etiológicos que podrían dañar la región cervical de la superficie radicular e iniciar RREC (63). Los factores más comunes que causan

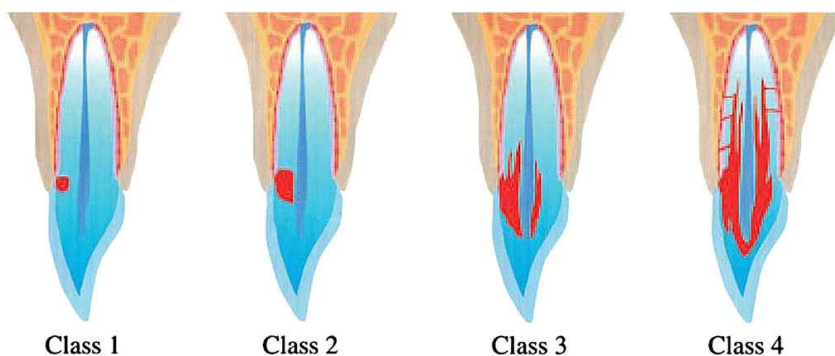
este tipo de la reabsorción son: blanqueamiento, daño de la superficie del cemento debido a un traumatismo dental, procedimientos periodontales realizados de forma incorrecta o tratamiento de ortodoncia. Durante el examen clínico se observa una destrucción significativa de la dentina alrededor del cuello del diente y mancha rosada en la corona del diente. El éxito del tratamiento de la reabsorción inflamatoria cervical está condicionada principalmente por el diagnóstico en una etapa temprana(59).

El proceso de reabsorción por lo general se expande en una dirección circunferencial y ápico coronal alrededor del conducto radicular. La perforación del conducto se evita mediante una capa protectora delgada de dentina interna y predentina, se ha sugerido que la superficie exterior del esmalte también puede ser resistente a la reabsorción y los defectos tempranos de RREC no contienen células inflamatorias de la fase aguda, lo que implica una etiología no bacteriana. Sin embargo, en una etapa posterior, una colonización bacteriana secundaria de los túbulos dentinales podría inducir una respuesta inflamatoria periodontal asociada a tejido pulpar. El tratamiento depende de la gravedad, la ubicación, de si el defecto ha perforado el sistema de conductos radiculares y de la restaurabilidad del diente (63).

Heithersay clasificó RREC de acuerdo con la extensión de la lesión dentro del diente como se ilustra en la Figura 6-5.:

- Clase 1: lesión pequeña de reabsorción invasiva cerca de la zona cervical con una penetración poco profunda en la dentina.
- Clase 2: lesión bien definida de resorción invasiva que ha penetrado cerca de la cámara pulpar coronal pero muestra poca o ninguna extensión en la dentina radicular.
- Clase 3: invasión más profunda de la dentina por reabsorción de tejido, no sólo implica la dentina coronal sino también se extiende al menos al tercio coronal de la raíz.
- Clase 4: gran proceso de reabsorción invasiva que se ha extendido más allá del tercio coronal del conducto radicular(63).

Figura 6-5: Clasificación de reabsorción externa cervical (RREC) según Heithersay (63)



Como era de esperar, las lesiones más pequeñas ofrecen el resultado más favorable a largo plazo. Estos defectos caerían en la clase 1 y 2 de las categorías de RREC de Heithersay, como se mencionó anteriormente, la pulpa por lo general no participa. Sin embargo, si el defecto de reabsorción se encuentra en las proximidades de la pulpa y existe un alto riesgo de exposición pulpar, el tratamiento endodóntico debe llevarse a cabo antes de la reparación del defecto externo de RREC (71).

La detección temprana es esencial para el éxito de los resultados del tratamiento de RREC. Los pacientes con antecedentes de 1 o más factores predisponentes deben ser controlados para detectar signos iniciales de RREC(63).

6.3.4 REABSORCIÓN RADICULAR EXTERNA POR REEMPLAZO (RRER)

Es progresiva y el hallazgo característico en este tipo de reabsorción es anquilosis la cual se identifica clínicamente con la prueba de percusión donde se identifica un ruido metálico y agudo. Radiográficamente se observa pérdida del espacio del ligamento periodontal(22).

Consiste en el remplazo de tejido dental por hueso alveolar, la etiología de la reabsorción por remplazo parece estar dada por la ausencia de células del ligamento periodontal que cubren la superficie radicular. Suele presentarse cuando hay pérdida del LP mayor a 4mm, las trabéculas óseas se desarrollan dentro del espacio del ligamento periodontal y se fusionan a la superficie radicular(22)(21) (44).

La RRER puede ser categorizada como transitoria o progresiva, la primera es autolimitante; resulta de una combinación sólo en las zonas de menor daño al ligamento periodontal y la capacidad de reparación del periodonto adyacente. Este último es un proceso continuo que resulta en la reabsorción completa de la raíz debido a la pérdida extensa o completa del ligamento periodontal, la reimplantación después de un período extraoral de 15 minutos a temperatura ambiente puede dar como resultado la reparación favorable pero una hora en las mismas condiciones puede resultar en extensa RRER (44).La anquilosis o reabsorción por remplazo es más común en jóvenes entre 8-16 años de edad (59). RERR y RREI , son las principales causas de pérdida de dientes reimplantados(47).

6.4 DIAGNOSTICO DE REABSORCION RADICULAR EXTERNA (RRE)

La reabsorción radicular externa suele ser un hallazgo accidental, autolimitado y supervisado, después de una LDT se debe realizar un examen clínico extraoral seguido por un examen intraoral donde es importante observar el color del diente, realizar prueba de percusión comparando el/los dientes lesionados con dientes adyacentes para identificar si se presenta un sonido metálico o ausencia de movilidad fisiológica que pueda sugerir un diagnóstico de anquilosis o identificar un aumento en la movilidad que pueda indicar pérdida de inserción o fractura patológica ocasionada por la extensa reabsorción radicular externa (77).

Si se presenta reabsorción cervical, ésta se detecta por el hallazgo clínico cuando la lesión está en estrecha proximidad a la corona; los síntomas asociados a RRE no se presentan con frecuencia, pero puede haber signos clínicos cuando se afecta 10-20% de la superficie radicular. En el caso de RRER se presentan manifestaciones clínicas significativas como cambio en el sonido a la percusión dando un sonido agudo o metálico. La falta de movilidad en las primeras etapas de la reabsorción puede ser mínima o no mostrar ninguna evidencia radiográfica sin embargo en lesiones más avanzadas se produce una pérdida completa o parcial de la lámina dura y dependiendo de la extensión del proceso, la dentina radicular aparecerá ya sea parcialmente irregular o completamente irregular porque el hueso sustituye progresivamente la dentina observándose radiográficamente ausencia de radiolucidez (77).

Las dificultad para detectar de forma temprana la reabsorción radicular externa depende de la ubicación y las dimensiones de las lesiones; pequeñas áreas de reabsorción (0,3 mm de diámetro y 0,15 mm de profundidad) son más difíciles de diagnosticar (73)(77). Las lesiones más pequeñas, así como las situadas en las superficies vestibular o lingual más que las situadas en zonas proximales son más difíciles de ver ya que no es probable detectarlas mediante la radiografía convencional (9). El pronóstico de la reabsorción radicular es más favorable cuando se produce la detección en las primeras etapas de su desarrollo. En algunos casos el tratamiento consiste únicamente en la eliminación del estímulo y la terapia endodóntica (9).

Los exámenes 3D ofrecen una información más detallada y precisa, pero requieren una mayor exposición a la radiación que las radiografías convencionales y los costos aumentan. En la odontología clínica, las radiografías panorámicas son una herramienta de diagnóstico de bajo costo debido a la menor dosis de radiación y facilidad de uso (9), sin embargo el uso de radiografías panorámicas para medir la reabsorción radicular podría evaluar la cantidad de pérdida radicular en un 20% o más por lo tanto no son tan precisas o fiables como las radiografías intraorales(78) y aunque es un método de diagnóstico sencillo, rápido y de bajo costo, la radiografía intraoral es generalmente la primera elección en la mayoría de

IDENTIFICACION DE BIOMARCADORES Y CITOCINAS EN FLUIDO CREVICULAR DE DIENTES PERMANENTES CON ANTECEDENTES DE TRAUMA DENTOALVEOLAR QUE PRESENTAN REABSORCION RADICULAR EXTERNA. REVISION NARRATIVA DE LA LITERATURA.

situaciones clínicas donde se sospecha de reabsorción aun cuando las limitaciones de la radiografía periapical son ampliamente conocidas (79) como: imagen en dos dimensiones de un objeto tridimensional, superposición de estructuras anatómicas, magnificación y distorsión inadvertida de imágenes; además se ha demostrado que las radiografías pueden no ser suficientemente sensibles para permitir el diagnóstico de las lesiones de reabsorción externa (80).

Cuando se utilizan las radiografías intraorales, cambiando el ángulo horizontal del haz de rayos X (método de Clark) aumenta la posibilidad de realizar el diagnóstico de las reabsorciones radiculares, actualmente los clínicos prefieren las radiografías digitales debido a la mayor sensibilidad en la detección de las lesiones usando dosis inferior de radiación. El uso de la tomografía computarizada en odontología surgió de la búsqueda de mejores alternativas a la radiografía intraoral en términos de la capacidad de diagnóstico. La tomografía computarizada convencional requiere dosis más altas de radiación que las radiografías intraorales y las imágenes contienen una gran cantidad de artefactos de metal que afectan negativamente la exactitud diagnóstica. Con la introducción de la tomografía computarizada de haz cónico cone beam (CBCT), fueron superadas estas limitaciones: Este método requiere niveles de radiación inferiores y representa una mejor herramienta de diagnóstico con la cual es posible determinar con precisión la ubicación y las dimensiones de la reabsorción, lo que permite el establecimiento de medidas terapéuticas adecuadas y por lo tanto un pronóstico más favorable (9).

Si la RRES se diagnostica, no es necesario realizar tratamiento, en cambio la RREI es a menudo subclínica a menos que haya un proceso inflamatorio agudo y el diente se vuelva sensible a la presión con presencia de inflamación asociada a la reducción del tejido de soporte que conduzca a la movilidad. La presentación variará dependiendo de si el proceso es infeccioso o estéril. Las lesiones de RREC son a menudo asintomáticas, aunque puede haber una sensación de malestar leve o irritación de los tejidos gingivales circundantes, inicialmente no se afecta la pulpa, pero si la lesión avanza de manera significativa puede haber síntomas como pulpitis y presentarse comunicación con el tejido pulpar (77). Después de un trauma dentoalveolar, el diagnóstico preciso de necrosis pulpar es importante porque debido a los daños del cemento que acompaña a la LDT, la infección en estos dientes es potencialmente más nociva (81)(82).

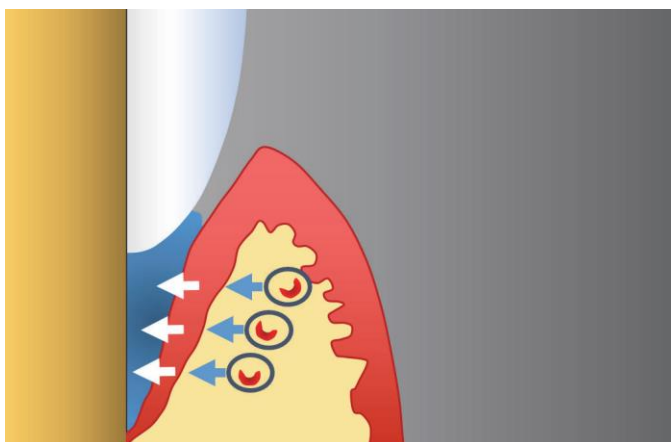
Un buen diagnóstico determina el éxito del tratamiento, en casos de RREI la primera elección debe ser tratamiento endodóntico aunque puede requerir intervención quirúrgica y restauración directa de la lesión pero si se sospecha de RRER (anquilosis) se recomienda decoronación o controles periódicos (44).

6.4.1 FLUIDO GINGIVAL CREVICULAR (FGC)

Es un exudado biológico y la cuantificación de sus componentes es un método actual para identificar biomarcadores específicos con sensibilidad razonable en sitios con ausencia de inflamación y placa subgingival. La producción de FGC está mediada por difusión pasiva del fluido extracelular por un gradiente osmótico, es considerado como un trasudado cuando una respuesta inflamatoria es provocada por los compuestos de origen microbiano y la permeabilidad de la barrera epitelial, el aumento de la permeabilidad de los vasos sanguíneos subyacentes y la concentración de proteína está modulada por la amplitud de la extravasación de proteínas del plasma, por lo tanto el FGC es considerado un exudado inflamatorio (17).

El FGC surge desde el plexo gingival de los vasos sanguíneos en el corium gingival, subyacente al epitelio que recubre el espacio dentogingival, contiene una diversa población de células incluyendo bacterias de la placa adyacente, leucocitos y células epiteliales descamadas, que son llevadas de forma pasiva a la cavidad oral(83) y se puede recoger desde el surco gingival que rodea los dientes(84) como se ilustra en la Figura 6-6. El análisis de FGC es un instrumento de diagnóstico muy útil en periodoncia y ortodoncia, además la ventaja de poner a prueba FGC en lugar de saliva es que la información individual del sitio periodontal está directamente relacionada con el diagnóstico para cada diente (17).

Figura 6-6: Formación del fluido gingival crevicular (FGC)(17).



Más de 65 constituyentes en FGC han sido evaluados como biomarcadores potenciales de diagnóstico de progresión de la enfermedad periodontal. Estos biomarcadores se pueden dividir en tres grupos:

- Enzimas derivadas del huésped y sus inhibidores(85).
- Constituyentes del huésped que incluyen moléculas de la sangre y de los tejidos(84).
- Mediadores inflamatorios y modificadores de la respuesta del huésped, y subproductos de la descomposición del tejido(85).

IDENTIFICACION DE BIOMARCADORES Y CITOCINAS EN FLUIDO CREVICULAR DE DIENTES PERMANENTES CON ANTECEDENTES DE TRAUMA DENTOALVEOLAR QUE PRESENTAN REABSORCION RADICULAR EXTERNA. REVISION NARRATIVA DE LA LITERATURA.

El FGC contiene sustancias del huésped, bacterias supra y subgingivales, así como líquido inflamatorio y células inmunes que penetran los tejidos periodontales junto con los marcadores de la inflamación incluyendo enzimas, citocinas e interleucinas (IL) y productos de la descomposición del tejido (84).

El epitelio de unión está infiltrado por los neutrófilos, células mononucleares y linfocitos; las concentraciones aumentan durante la inflamación gingival y los neutrófilos, la primera línea de defensa contra las bacterias representan el 90% de los leucocitos en FGC, su número aumenta cuando se instaura la patología periodontal. Los gránulos azurófilos de los neutrófilos contienen enzimas hidrolíticas neutras, tales como elastasa, catepsina G, uroquinasa, mieloperoxidasa, lisozima, manosidasa e hidrolasas (es decir, la catepsina B y D) que son activas a pH ácido. Por otra parte, el 40% del contenido está representado por α -defensinas. Los gránulos secundarios contienen lactoferrina, matriz de MMP-8 y la lisozima, mientras que los gránulos de gelatinasa contienen la matriz de MMP-9 y MMP-8 que son las principales enzimas que degradan colágeno en FGC y saliva (83). Los cambios en los niveles de citocinas, MMPs e TIMPs en FGC durante el proceso de cicatrización temprana de heridas o la respuesta inflamatoria proporcionan información importante en relación con el grado de remodelación y el metabolismo del colágeno alrededor de los dientes. En el pasado, se utilizaron ensayos individuales para analizar constituyentes individuales en FGC, hoy en día, los métodos automatizados pueden analizar un grupo de marcadores inflamatorios en una muestra de FGC (85).

El FGC ha sido analizado durante el movimiento dental encontrando mediadores bioquímicos que se liberan secuencialmente (86), ofrece un gran potencial como fuente de factores asociados a los cambios y la destrucción en el periodonto subyacente debido a la aplicación de la fuerza de ortodoncia(87) se ha reportado que el FGC sirve como una herramienta para cuantificar fosfoproteína dentinal (PP) y DSP de pacientes que experimentaron ortodoncia induciendo reabsorción radicular La detección temprana de la resorción radicular durante el tratamiento de ortodoncia es esencial para identificar los dientes con riesgo de reabsorción (6).

Balducci y col. Identificaron proteínas de dentina en fluido crevicular durante el proceso de reabsorción radicular. La presencia de proteínas de la matriz de dentina en el FGC fue un hallazgo sorprendente. La proteína de la matriz dentinaria 1 (DMP1), una proteína no colágena identificada en la matriz mineral del hueso y la dentina, se encuentra en grandes cantidades en el fluido crevicular. Los resultados de este estudio para PP y DSP sugieren que estas dos proteínas podrían ser marcadores potenciales para la reabsorción radicular antes de su aparición en las radiografías (6).

El FGC es una fuente bien conocida de biomarcadores con aplicaciones potenciales en tanto periodoncia y ortodoncia. En el movimiento dental ortodóntico se ha utilizado FGC debido a su naturaleza no invasiva y la facilidad de muestreo repetitivo del mismo sitio con la ayuda de los bucles de platino, tiras de papel de filtro, puntas de papel como se ilustra en la Imagen 6-1 y 6-2, así como lavados gingivales y micro pipetas. El fluido se utiliza para analizar diversos marcadores bioquímicos(88)Una vez recogido el FGC puede ser crio preservado o enviado directamente para el análisis químico(86).

Imagen 6-1: *Recolección de fluido gingival crevicular con puntas de papel endodónticas(17).*



Imagen 6-2: *Recolección de fluido gingival crevicular con tiras de papel(17)*



La tira debe permanecer en el surco tiempo suficiente para obtener una muestra adecuada de fluido .A diferencia del análisis de suero, donde la muestra de fluido es una pequeña parte del volumen total de fluido, el muestreo de FGC a menudo recoge todo el volumen de fluido en el sitio de la muestra y este volumen varía en el diente de un sitio a otro(85).

La cuantificación de estas citocinas en el FGC por diferentes métodos de análisis se han utilizado proporcionando resultados muy heterogéneos(89) y diferentes

factores han sido atribuidos para justificar esta heterogeneidad entre ellos. El método de muestreo, la contaminación de la muestra con los fluidos orales, la solución buffer utilizada para dilución de la muestra, el estado de mantenimiento, la degradación de proteasas en FGC y los diferentes métodos de identificación de citocinas (89)(90). Aunque la mayoría de los estudios han utilizado las tiras de papel de filtro para recoger FGC, esta técnica requiere la selección de los sitios apropiados, la colocación cuidadosa de las tiras de papel y evitar cualquier contaminación del fluido(84).

6.4.2 BIOMARCADORES ASOCIADOS A REABSORCIÓN

Un biomarcador es una sustancia que se mide y se evalúa objetivamente como un indicador de procesos biológicos normales, procesos patológicos o respuestas farmacológicas a una intervención terapéutica(88).

El análisis de biomarcadores inmunológicos en FGC se ha utilizado principalmente para fines de investigación, aunque también se ha considerado adecuado para un diagnóstico de la enfermedad periodontal y la evaluación de la respuesta del paciente a la terapia(91).

El movimiento ortodóntico de los dientes es posible gracias a la aplicación de una fuerza mecánica controlada y da lugar a reacciones biológicas que alteran los tejidos dentales y periodontales que los rodean. Estas alteraciones incluyen una cascada de eventos en tejido mineralizado (hueso alveolar) y no mineralizados (periodonto) que permiten el movimiento de los dientes. Los marcadores bioquímicos que representan estas modificaciones biológicas se expresan durante fenómenos específicos, es decir, proceso inflamatorio, reabsorción, formación ósea, cambios del ligamento periodontal y cambios vasculares así como respuestas neuronales. El seguimiento de los niveles de los marcadores bioquímicos durante el movimiento de ortodoncia podría ser un procedimiento útil para analizar el grado de remodelación ósea. El fluido gingival crevicular refleja las reacciones inmunes, las interacciones huésped parásito y las reacciones al estrés bioquímico(17).

En el tratamiento ortodóntico, se han publicado resultados que demuestran la presencia de proteína de la matriz dentinal (DMP1) y fosfoproteína dentinal (PP) (88). La PP y la sialoproteína dentinal (DSP) son proteínas no colágenas de la matriz de dentina, presentes durante el proceso de mineralización de pre dentina a dentina, mientras que DMP1 está presente tanto en la dentina como en el hueso. La dentina sufre deposición continua durante toda la vida como dentina secundaria sólo en la superficie pulpar. Por lo tanto, estas proteínas no se encuentran normalmente en el espacio circundante ya que la dentina no experimenta el proceso de remodelación como sucede en el hueso. Sólo en presencia de una

reabsorción externa activa de la raíz, estas proteínas podría liberarse en el espacio del ligamento periodontal. La fosfatasa alcalina (ALP) se ha utilizado como biomarcador de la remodelación de tejidos para determinar la existencia y el tiempo de formación de hueso alveolar activo. La actividad de la ALP fue mayor en los sitios de tensión, en comparación con los sitios de compresión sugiriendo que la actividad de la ALP en el FGC refleja la actividad biológica en el periodonto durante el movimiento ortodóntico (76). La ALP es una glicoproteína de membrana que está involucrada en el mantenimiento del hueso alveolar y la renovación del ligamento periodontal. Producida por muchas células, se cree que ALP en FGC se origina principalmente a partir de leucocitos polimorfonuclear neutrófilo (PMNs)(6).

La prostaglandina E2 (PGE2) es producida por las células del ligamento periodontal y es un mediador proinflamatorio. PGE2 actúa como mediador bioquímico de la resorción ósea inducida por el movimiento de ortodoncia y la estimulación de la actividad osteoclástica. Este biomarcador es conocido por ser un potente estimulador de la resorción ósea y su producción está controlada en parte por IL-1.

PGE2 es un subproducto del metabolismo del ácido araquidónico y es un importante mediador proinflamatorio. Se libera de diversas membranas de las células por acción de la enzima ciclooxigenasa. Algunos de sus efectos incluyen la quimiotaxis de células inflamatorias, la inducción de la liberación de colagenasa, vasodilatación, y activación de osteoclastos; todos los cuales directa o indirectamente pueden contribuir a la pérdida de los tejidos de soporte de los dientes(85).

Se ha demostrado que los niveles de PGE2 son mayores en sujetos jóvenes que en pacientes mayores. La hipótesis es que en los pacientes jóvenes, las respuestas inflamatorias pueden reaccionar más rápidamente a los cambios locales. El TNF α es una citocina proinflamatoria que se puede derivar tanto de monocitos y macrófagos. TNF α estimula la síntesis de enzimas proteolíticas y la actividad osteoclástica, por lo que está implicado en la reabsorción ósea. También es un factor apoptótico para osteocitos y podría ser la señal para el reclutamiento de osteoclastos destinados a reabsorber hueso en el lado del ligamento periodontal que es sometido a presión, mientras que los osteoblastos son inhibidos (17), por otra parte la producción de neuropéptidos como la sustancia P pueden estar implicados en el inicio del proceso de reabsorción(85).

Los micro ARN representan un grupo de ARN no codificantes cortos que regulan la expresión de proteínas mediante la unión a 3' UTRs del objetivo de miARNs. La regulación de genes de miARNs es vital en una variedad de procesos biológicos o patológicos, La evidencia acumulada sugiere que cada tipo de fluido corporal contiene miARNs que reflejen el estado de la enfermedad y actúan como biomarcadores de diagnóstico. Sin embargo, el papel de los miARNs en las enfermedades periodontales se ha descrito de forma fragmentaria y aún se desconoce si el FGC contiene miARNs, y si este es el caso, específicamente los miARNs son de diagnóstico para la periodontitis. El FGC podría contener miARNs

y su perfil alterado podría ser indicativo de periodontitis. La detección de los genes de miARN en FGC puede servir como una herramienta de diagnóstico novedoso que elude el procedimiento invasivo para obtener muestras de biopsia de tejidos gingivales. En un estudio se observó que HSA-miR-223-3p era el miARN más altamente expresado en las muestras de FGC y se reguló en la periodontitis. HSA-miR223-3p podría representar un prometedor biomarcador de FGC que refleja el estado inflamatorio de los tejidos gingivales (92).

6.4.3 CITOCINAS ASOCIADAS A REABSORCIÓN

Las citocinas o también llamadas citoquinas, son un grupo de glicoproteínas solubles de bajo peso molecular (6 – 70 KDa) responsables de la comunicación intercelular y que a través de la activación de receptores específicos de membrana activan mensajeros intracelulares regulando la transcripción génica para inducir el crecimiento celular, inflamación, inmunidad, diferenciación y reparación, entre otros eventos biológicos. Son liberadas en el entorno autocrino (en las propias células productoras) o paracrino (en células vecinas) como respuesta a las señales locales de aplicación de estrés.; están implicadas en el recambio y remodelación óseo fisiológico normal (86). Son producidas por las células inmunes y otras células del cuerpo, su acción pleiotrópica (cuando una misma citocina actúa en diferentes tipos celulares o la misma citocina es segregada por varios tipos de células) incluye numerosos efectos sobre las células del sistema inmune y sobre la modulación de respuestas inflamatorias; tienen efectos muy potentes para amplificar varios procesos y sólo unas pocas moléculas de citocinas pueden ser suficientes para inducir una respuesta celular(93)(94).

Estas proteínas están implicadas en todos los aspectos de la inmunidad y la inflamación ya que se activan en todas las etapas de la cicatrización de heridas; existen citocinas que actúan generando una compleja e interconectada red. Incluso una sola citocina puede tener diferentes efectos en diferentes células, establecer sinergismos, actuar como antagonista o estimular la producción de otras citocinas (93) para provocar la síntesis y secreción de numerosas sustancias que forman la base molecular para la comunicación célula a célula, incluyendo prostaglandinas y factores de crecimiento e interactuando directamente o indirectamente con las células óseas(11).

Las citocinas o citoquinas se han clasificado en linfoquinas (citocinas expresadas por linfocitos), monoquinas (citocinas expresadas por monocitos), quimioquinas (citocinas con actividades quimiotácticas), e interleuquinas (citocinas expresadas por leucocitos las cuales actúan sobre otros leucocitos (91).

Las quimioquinas en enfermedades inflamatorias orales desempeñan un papel en la disolución de la matriz de dentina, sin embargo, existe poca información sobre el papel específico de estos factores solubles durante RRE después de trauma(55).

Las quimioquinas controlan la migración de neutrófilos, linfocitos y las células presentadoras de antígeno, incluyendo células dendríticas y células del linaje de monocitos / macrófagos. Como respuesta a la inflamación, las quimioquinas coordinan el reclutamiento y la activación de los leucocitos durante las diferentes fases tanto de la respuesta inflamatoria innata como adaptativa. Durante la inflamación, las células centinelas inflamatorias liberan quimioquinas y generan un gradiente quimiotáctico en los vasos sanguíneos circundantes. Las células migratorias tienden a moverse hacia una alta concentración local de quimioquinas. La presentación de quimioquinas en las células endoteliales induce la rotación y migración transendotelial de leucocitos y la alteración de la expresión o función de la quimioquina podría conllevar a la persistencia de una reacción inflamatoria y crear un evento patológico, clave para el establecimiento de la inflamación crónica. (95). Se pueden dividir en subgrupos de familias CC, CXC, C. Como regla general, los miembros de la familia CC están orientados a monocitos y células T, mientras que las quimioquinas CXC afectan principalmente neutrófilos. Cinco miembros de la familia de monocitos de proteínas quimioatrayentes han sido identificados hasta ahora. MCP-1 (CCL2), MCP-2 (CCL8), MCP-3 (CCL7), MCP-4 (CCL13) y MCP-5 (CCL12) constituyen una subfamilia dentro de la CC quimioquinas. MCP-1 (CCL2). Su expresión puede ser inducida por una Variedad de mediadores incluyendo factor de crecimiento derivado de plaquetas, interleucinas IL-1 e IL-4, factor de necrosis tisular α , Factor de crecimiento endotelial vascular, lipopolisacárido bacteriano e INF- γ . La principal fuente de MCP-1 es monocitos y macrófagos y su actividad está controlada por IFN- γ , IL-4, IL-10 e IL-13. IL-4, IL-10 e IL-13 que se secretan a partir de Th2. Una variedad de evidencias apoyan el papel de MCP-1 en la remodelación ósea e incluyen:

- 1) MCP-1 es el principal quimioatrayente de monocito producido por Células osteoblásticas in vitro.
- 2) MCP-1 no se expresa en hueso normal, pero se induce durante Inflamación ósea.
- 3) La inducción de MCP-1 en el hueso inflamado es temporal y espacialmente correlacionado con el reclutamiento de monocitos.
- 4) La producción de MCP-1 está asociada con el reclutamiento de monocitos tanto en la formación ósea como en la reabsorción durante el desarrollo y remodelación ósea regulada(95).

Las citocinas se dividen en dos grupos: "pro-inflamatorias" y "anti-inflamatorias". Las citocinas proinflamatorias son producidas principalmente por macrófagos activados(96). Por ejemplo, IL-1 β , IL-6, y el factor de necrosis tumoral (TNF- α)(95).

IDENTIFICACION DE BIOMARCADORES Y CITOCINAS EN FLUIDO CREVICULAR DE DIENTES PERMANENTES CON ANTECEDENTES DE TRAUMA DENTOALVEOLAR QUE PRESENTAN REABSORCION RADICULAR EXTERNA. REVISION NARRATIVA DE LA LITERATURA.

La IL-6 actúa sinérgicamente con IL-1 y TNF- α sobre la osteoclastogénesis, la IL-7 funciona indirectamente a través de la inducción de TNF- α , desempeña un papel importante en el incremento de los niveles de RANKL mediada por osteoclastogénesis, al igual que IL-8 que también aumenta la expresión de RANKL para aumentar la generación de osteoclastos y activarlos, por otro lado el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos(GM-CSF) es otra citocina anti-resorción que inhibe la reabsorción ósea junto con IL-4, IL-10, IL-13, IL-18 e IFN- γ (19).

Aunque las citoquinas son sintetizadas por varios tipos de células, dentro del sistema inmune humoral, la mayoría son producidas por macrófagos y en el sistema inmune específico las citocinas inflamatorias son principalmente producidas por linfocitos CD4 o T helper o ayudadoras (Th). Los linfocitos Th1 y Th2 se caracterizan por secretar citocinas diferentes con una variedad de funciones. Las células Th1 producen IL-2, interferón gamma (IFN- γ) y factor de necrosis tumoral beta (TNF- β) las cuales ejercen funciones de inmunidad celular, activando linfocitos T citotóxicos y provocando hipersensibilidad de tipo retardado (respuesta a virus, protozoos y algunas bacterias). Las células Th2 son productoras de IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13. Estas interleuquinas colaboran en la activación de las células B, y su respuesta va dirigida hacia la presencia de bacterias extracelulares y a helmintos. También están implicadas en reacciones de tipo alérgico pues la IL-4 activa la producción de inmunoglobulina E (IgE) y la IL-5 activa a los eosinófilos. La regulación de la expresión de citoquinas derivadas de los linfocitos T, se realiza a partir de la transducción de señales que se desencadena cuando su receptor de superficie (TCR), reconoce el antígeno con la participación de las moléculas del HLA presentes en la célula presentadora del antígeno. Una vez, se ha realizado la unión específica al receptor, las señales son transmitidas al interior de la célula, principalmente a través de la vía de las proteinquinas Jak, las cuales se fosforilan y activan otras proteínas, las STAT (transductores de señal y activadores de transcripción), que al fosforilarse forman dímeros y emigran al núcleo induciendo la transcripción de ciertos genes que generan importantes cambios en la función y ciclo vital de la célula. Todo este proceso finalmente desencadena una retroalimentación negativa que inactiva a los receptores de membrana La regulación cruzada entre Th1 y Th2 es otro de los mecanismos que controlan la producción de citoquinas. Por ejemplo, el IFN- γ , secretado por las Th1, inhibe a proliferación de las Th2 y por otro lado, la IL-10, secretada por las Th2 inhibe la secreción de IL-2 e IFN- γ (97)(98).

El TNF α es una citocina proinflamatoria que se puede derivar de monocitos y macrófagos, estimula la síntesis de enzimas proteolíticas y la actividad osteoclástica, por lo que está implicada en la reabsorción ósea. Algunas investigaciones reportan que induce señales apoptóticas para osteocitos, lo que implica el inicio de la actividad resortiva mediante el reclutamiento de osteoclastos.

(17). Se consideran mediadores proinflamatorios la IL-1 antagonista de los receptores de IL-4, IL-10, IL-11, y IL-13 que pueden suprimir la producción de citoquinas inflamatorias(99)(100).

IL-4 es un potente regulador negativo de la función de los macrófagos y su ausencia se ha asociado con actividad y progresión de la enfermedad periodontal(101). IL-4 es una citocina anti-inflamatoria que juega un papel importante en las enfermedades alérgicas, debido a su capacidad para iniciar, mantener y aumentar las respuestas Th2. Actúa como un mediador de protección de la reabsorción de tejido duro debido a su capacidad para aumentar los niveles de OPG e inhibir RANKL. Se suprime la respuesta proinflamatoria de linfocitos T-ayudadores (Th1), disminuyendo de este modo la acción de los macrófagos y de las células T reguladoras así como de citocinas Th2; este estudio no encontró ninguna asociación entre los polimorfismos del gen de IL-4 y la reabsorción radicular(102).

IL-4 inhibe a IL-1 que estimula la resorción ósea por la disminución de la producción de prostaglandinas y la actividad de la ciclooxygenasa-2. IL-4 también en osteoblastos aumenta la OPG e inhibe RANKL y ejerce el mismo efecto regulador sobre RRER, por el contrario, niveles altos de IL-4 están asociados a la edad ya que existe una menor tasa de RRER en pacientes mayores (55).

Existe un equilibrio en la expresión de citocinas que determina en última instancia el resultado de la reparación y la enfermedad (100). Estas citocinas son producidas por diferentes tipos celulares y tienen varias funciones dentro de los procesos fisiológicos así como efectos de delección cuando se presenta algún tipo de anomalía los cuales conllevan a procesos patológicos (Tabla 6-4). Durante la inflamación inicial, las citocinas proinflamatorias son cruciales para el proceso de reparación y con el tiempo, estas citoquinas deben reducirse y ser reguladas por citocinas antiinflamatorias. Sin embargo, los cambios en la expresión o la función de las citocinas pueden conducir a la inflamación continua y prolongada lo que crea inflamación crónica y patología (95).

Tabla 6-4: Citocinas y sus funciones (98)

Familia	Citocina	Células productoras	Acciones	Efectos de delección
Factores estimulantes de colonias	G-CSF	Fibroblastos y Monocitos	Estimula el desarrollo y la diferenciación de neutrófilos.	Producción y movilización defectuosas de neutrófilos
	GM-CSF (factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos)	Macrófagos, células T	Estimula el crecimiento y la diferenciación de células de la línea mielomonocítica, en particular células dendríticas	GM-CSF, GM-CSFR: proteinosis alveolar pulmonar

IDENTIFICACION DE BIOMARCADORES Y CITOCINAS EN FLUIDO CREVICULAR DE DIENTES PERMANENTES CON ANTECEDENTES DE TRAUMA DENTOALVEOLAR QUE PRESENTAN REABSORCION RADICULAR EXTERNA. REVISION NARRATIVA DE LA LITERATURA.

	M-CSF (CSF-1)	Células T, células del estroma de la médula ósea, osteoblastos	Estimula el crecimiento de células de la línea monocítica	Osteopetrosis
Interferones	IFN- γ	Células T, células asesinas naturales	Activación de macrófago, incremento de la expresión de moléculas del MHC y componentes de procesamiento de antígeno, cambio de clase de Ig, suprime TH2	IFN- γ , CD119: decremento de la resistencia a infección bacteriana y tumores
Familia	Citocina	Células productoras	Acciones	Efectos de delección
Interleucinas	IL-1 α	Macrófagos, células Epiteliales	Fiebre, activación de células T, activación de macrófago	IL-1RI: decremento de la producción de IL-6
	IL-1 β	Macrófagos, células Epiteliales	Fiebre, activación de células T, activación de macrófago	IL-1 β : respuesta de fase aguda alterada
	IL-1 RA	Monocitos, macrófagos, neutrófilos, hepatocitos	Se une al receptor de IL-1 pero no lo desencadena, actúa como un antagonista natural de la función de IL-1	IL-1RA: masa corporal producida, incremento de la sensibilidad a endotoxinas (choque séptico)
	IL-2 (factor de crecimiento de células T)	Células T	Proliferación de células T	IL-2: proliferación desregulada de células T, colitis IL-2R α : desarrollo de células T incompleto, autoinmunidad IL-2R β : inmunidad aumentada de células T IL-2R γ c: inmunodeficiencia combinada grave
	IL-3 (CSF de múltiples colonias)	Células T, células epiteliales del timo	Acción sinérgica en la hematopoyesis temprana	IL-3: desarrollo alterado de eosinófilo. Médula ósea sin capacidad de respuesta a IL-5, GM-CSF
	IL-4 (BCGF-1, BSF-1)	Células T, células Cebadas	Activación de célula pre-B, cambio de IgE, induce diferenciación hacia células TH2	IL-4: decremento de la síntesis de IgE
	IL-6 (IFN- β 2, BSF-2, BCDF)	Células T, macrófagos, células endoteliales	Crecimiento y diferenciación de células T y B, producción de	IL-6: decremento de la reacción de fase aguda, producción reducida de IgA

	IL-7	Células no T	proteína de fase aguda, fiebre	IL-7: alteración grave de la expansión temprana del timo y de linfocitos
	IL-10 (factor inhibidor de la síntesis de citocina)	Monocitos	Crecimiento de células pre-B y pre-T Potente supresor de funciones de macrófago	IL-10 e IL20Rβc: crecimiento reducido, anemia, enterocolitis crónica
	IL-13 (p600)	Células T		IL-13: regulación defectuosa de respuestas específicas para isotipo
	IL-17A (mCTLA-8)	Th17, células T CD8, células NK, células T y/o, neutrófilos	Crecimiento y diferenciación de células B, inhibe la producción de citocina inflamatoria por macrófagos, y células TH1, induce alergia/asma	IL-17R: migración de neutrófilos reducida hacia sitios infec
	IL-19	Células TH1 células T, macrófagos	Induce producción de citocina por epitelios, endotelios y fibroblastos, proinflamatoria Induce la expresión de IL-6 y TNF-α por monocitos	LIFR: muere al nacer o poco después; la disminución de células madre hematopoyéticas OSMR: regeneración defectuosa del hígado
)			
Familia	Citocina	Células productoras	Acciones	Efectos de delección
Familia del TNF	TNFα (caquectina)	Macrófagos, células NK, células T	Promueve la inflamación, activación endotelial	p55: resistencia a choque séptico, susceptibilidad a <i>Listeria</i> , STNFαR: ataques febriles periódicos
	LT-α (linfotóxina-α)	Células T, células B	Muerte, activación endotelial	TNF-β: falta de ganglios linfáticos, decremento de anticuerpo, y aumento de IgM
	LT-β	Células T, células B	Desarrollo de ganglio linfático	Desarrollo defectuoso de ganglios linfáticos periféricos, placas de Peyer y bazo CD40L: respuesta

IDENTIFICACION DE BIOMARCADORES Y CITOCINAS EN FLUIDO CREVICULAR DE DIENTES PERMANENTES CON ANTECEDENTES DE TRAUMA DENTOALVEOLAR QUE PRESENTAN REABSORCION RADICULAR EXTERNA. REVISION NARRATIVA DE LA LITERATURA.

	OPG-L (RANK-L)	Células T	Coestimula células T y B Estimula osteoclastos y resorción ósea	Fenotipo propenso a tumor OPG-L: osteopetrosis, tamaño pequeño, sin dientes OPG: osteoporosis
--	----------------	-----------	--	---

Tabla 3. Fuente tomada y modificada de Murphy K, Travers P, Walport M. Inmunobiología de Janeway. Séptima ed. Mc Graw Hill; 2008.

El grupo de genes de interleucina-1 (IL-1) se encuentra en el cromosoma humano 2 y contiene genes que codifican para citoquinas proinflamatorias que incluyen IL-1 α y IL-1 β y antiinflamatoria como el receptor antagonista de la IL-1 (IL-1RA). Aunque la IL-1 α y la IL-1 β son productos de genes distintos, que reconocen los mismos receptores de la superficie celular y comparten un amplio espectro de actividades biológicas que regulan las funciones de la respuesta inmune innata y adaptativa. IL-1 β es un potente estimulador de la reabsorción ósea que actúa directamente en la diferenciación de osteoclastos y también indirectamente debido a su capacidad para estimular la actividad osteoclastogénica de RANK-L y para aumentar la síntesis de prostaglandinas en el hueso, se ha demostrado que IL-1 β es un mediador crítico implicado en la inducción de la actividad osteoclastogénica en lesiones periapicales y periodontitis, en la remodelación ósea durante el movimiento ortodóntico de los dientes y la erupción. Además, está bien establecido que la IL-1 β tiene un papel importante durante la reabsorción radicular fisiológica en dientes primarios y durante la reabsorción radicular externa apical (RREA) después del tratamiento de ortodoncia (72).

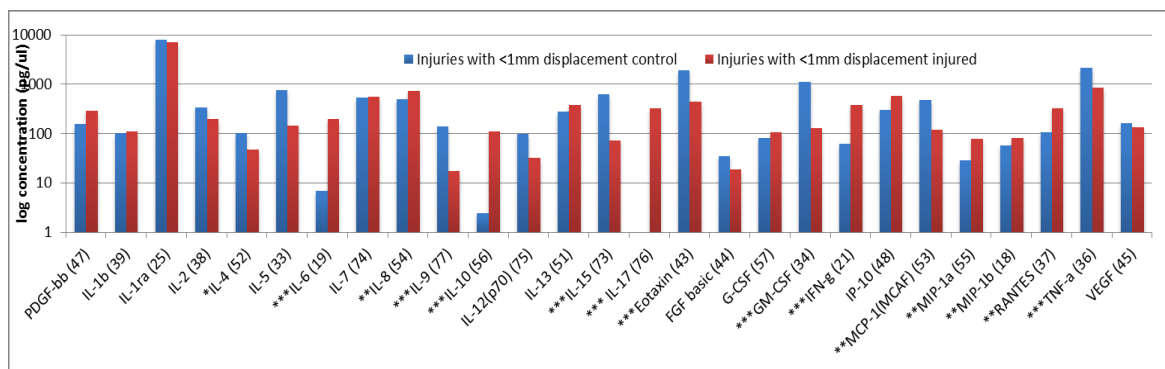
El polimorfismo del gen de la IL-1 se asocia con la reabsorción radicular(78). Los pacientes atópicos, que producen de forma predominante citoquinas antiinflamatorias tienen un resultado más favorable después del reimplante posterior a trauma (avulsión dental). El 82,98% de los pacientes atópicos no exhibió reabsorción radicular, las citoquinas inflamatorias activan la expresión de RANK y RANKL, que promueve la activación de las células progenitoras y residentes responsables de la reabsorción de tejido duro. Además, en los individuos atópicos, el predominio de Antígeno-4 asociado al Linfocito T Citotóxico (CTLA-4:es un receptor proteico situado en la membrana celular de los linfocitos T que al ser estimulado inhibe su actividad) y citoquinas tales como IL-4, IL-5, IL-6, y IL-10 disminuye la expresión de RANK, aumentando así la expresión de la osteoprotegerina y disminuyendo la relación RANKL / osteoprotegerina, que es responsable de la protección contra la reabsorción de tejido duro en el microambiente del ligamento periodontal del diente reimplantado (102).

Los polimorfismos funcionales en genes de citocinas se han asociado con la resistencia o susceptibilidad a una variedad de patologías inmunes y condiciones inflamatorias. Los polimorfismos de la IL 1 han sido ampliamente estudiados por su posible influencia en el desarrollo de patologías orales con resultados diversos. Un mayor riesgo de reabsorción radicular externa apical (RREA) después del tratamiento de ortodoncia se ha asociado con variantes genéticas en el grupo de genes de IL 1(72).

Los datos clínicos recientes han demostrado que el proceso de reparación después del reimplante es fuertemente influenciado por el perfil inmunológico del paciente(102).

En un estudio donde midieron citocinas PDGF,IL-1 β ,IL-1ra,IL-2,IL-4,IL-5,IL-6,IL-7,IL-8,IL-9,IL-10,IL-12,IL-13,IL-15,IL-17,Eotaxin,FGF básico, G-CSF,GM-CSF,IFN- γ ,IP-10,MCP-1,IP-1 α ,MIP-1 β ,RANTES,TNF- α ,VEGF en fluido crevicular de 48 dientes lesionados y 34 controles de dientes con trauma dentoalveolar (concusión, subluxación, luxación, avulsión, fractura coronal no complicada y fractura coronal complicada) en dientes anteriores permanentes teniendo en cuenta si las lesiones sufrieron desplazamiento mayor o menor a 1mm, encontraron en los dientes con desplazamiento >1mm cantidades de PDGF, IL-1 β , IL-6, IFN- γ , MIP-1 β ,RANTES, IL-2, IL-4, IL-8, G-CSF, y VEGF en comparación con el control de los dientes. Los dientes desplazados también tenían niveles más bajos de IL-7, IL-9, MCP-1 y TNF- α en comparación con los controles y con los dientes sin desplazamiento. En dientes lesionados no encontraron TNF- α y los niveles de IL-2, IL-4, eotaxina y MIP-1 α no se encontraron en los dientes de control. IL-13, IL-15, IL-17 y GM-CSF no se detectaron en ningún diente en este grupo como se ilustra en la Figura 6-7.

Figura 6-7: Citocinas encontradas en lesiones dentales traumáticas con desplazamiento mayor a 1mm (13).

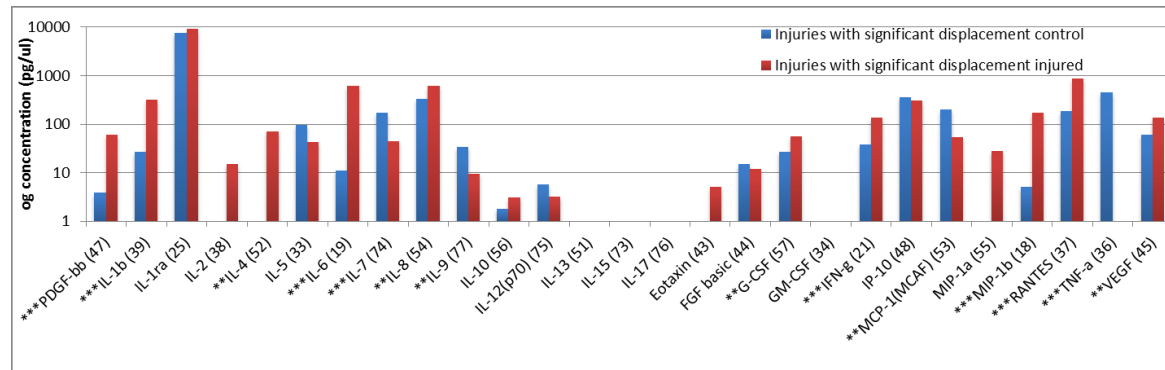


En lesiones sin desplazamiento, los dientes lesionados tenían más altos niveles de IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, IFN- γ , MIP-1 α , MIP-1 β , y RANTES en comparación con los controles. Los dientes lesionados tenían niveles más bajos de IL-4, IL-9, IL-15,

IDENTIFICACION DE BIOMARCADORES Y CITOCINAS EN FLUIDO CREVICULAR DE DIENTES PERMANENTES CON ANTECEDENTES DE TRAUMA DENTOALVEOLAR QUE PRESENTAN REABSORCION RADICULAR EXTERNA. REVISION NARRATIVA DE LA LITERATURA.

Eotaxina, GM-CSF, MCP-1 y TNF- α . IL-17 no se detectó en ningún diente de control como se ilustra en la Figura 3-10.

Figura 6-8: Citocinas encontradas en lesiones dentales traumáticas sin desplazamiento(13)



IL-4 fue significativamente menor en los dientes no desplazados, pero fue significativamente mayor en dientes desplazados comparados con los controles(13).

La detección y medición de citocinas es importante ya que concentraciones elevadas de éstas pueden indicar la activación de las vías de señalización de citocinas asociadas con inflamación o progresión de la enfermedad. En consecuencia, estas proteínas son ampliamente utilizados como biomarcadores para caracterizar la función inmune, entender y predecir la enfermedad y vigilar los efectos del tratamiento(94).

A continuación se presentan dos tablas resumen de los biomarcadores y citocinas encontrados en diferentes estudios en dientes permanentes que presentan reabsorción radicular externa secundaria a trauma (Tabla 6-5 y Tabla 6-6).

Tabla 6-5: Biomarcadores y citocinas encontradas en reabsorción radicular fisiológica y ocasionada por ortodoncia.

AUTOR /AÑO	TIPO DE ESTUDIO	TIPO DE TRAUMA	BIOMARCADOR O CITOCINA ENCONTRADA
Mah J (2004)	Experimental controlado	Reabsorción radicular (ortodoncia)	DPP
Balducci (2007)	L Experimental controlado	Reabsorción radicular externa (ortodoncia-)	PP DSP DMP-1
Kereshanan (2008)	S Experimental controlado	Reabsorción radicular (Fisiológica y ortodoncia)	DSP
George (2010)	A (Experimental controlado	Reabsorción radicular (ortodoncia)	OPN OPG

Tyrovola J (2010)	Experimental controlado (en ratas)	Reabsorción radicular (ortodoncia)	RANK-L OPG RANK-L.
Alfaqeeh S.(2011)	Experimental controlado	Ortodoncia	N-telopéptidos marcador de colágeno tipo I (NTx) osteocalcina (OC)
Rody Jr, W (2014)	Experimental controlado	Reabsorción radicular fisiológica	Albúmina 25% Glutamato-cisteína (GCL) CDC42 Transgelin-2 (TAGLN2)
Rody Jr W (2016)	Experimental controlado	Reabsorción fisiológica	DSP IL-1 β OPG MMP-9
De Aguiar MCS (2017)	Revisión	Ortodoncia	Osteonectina Fosfoproteína ósea OC Telopectido carboxiterminal reticulado de colágeno tipo I RANK-L PGE2 IL-1 β TNF α
Ahuja R (2017)	Experimental controlado	Reabsorción radicular(ortodoncia)	TNF- α IL-1 β IL-7

Tabla 6-6: Biomarcadores y citocinas en dientes permanentes con antecedentes de trauma dentoalveolar que presentan reabsorción radicular externa.

Número .	AUTOR /AÑO	TIPO DE ESTUDIO	TIPO DE TRAUMA	BIOMARCADORES O CITOCINAS ENCONTRADOS EN FGC	BIOMARCADORES O CITOCINAS ENCONTRADOS EN OTRAS MUESTRAS
1	Kumar V (2013)	Experimental controlado	Reabsorción radicular por trauma dentoalveolar (Luxación)	DSP	
4	Rosenvall C (2013)	Experimental controlado	Reabsorción radicular (trauma dentoalveolar)	1) Dientes lesionados con desplazamiento < 1 mm: concusión, subluxación, fracturas coronales clase I, II y III (con exposición pulpar) o dientes lesionados sin desplazamiento: IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, INF-Y, MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES. 2) Dientes lesionados con desplazamiento >1 mm: luxación lateral, luxación extrusiva, luxación intrusiva y avulsión: PDGF, IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, G-CSF, INF-Y, MIP-1 β , RANTES, VEGF Niveles significativos de citoquinas en ambas lesiones	

IDENTIFICACION DE BIOMARCADORES Y CITOCINAS EN FLUIDO CREVICULAR DE DIENTES PERMANENTES CON ANTECEDENTES DE TRAUMA DENTOALVEOLAR QUE PRESENTAN REABSORCION RADICULAR EXTERNA. REVISION NARRATIVA DE LA LITERATURA.

Número	AUTOR /AÑO	TIPO DE ESTUDIO	TIPO DE TRAUMA	BIOMARCADORES O CITOCINAS ENCONTRADOS EN FGC	BIOMARCADORES O CITOCINAS ENCONTRADOS EN OTRAS MUESTRAS
	Roskamp L (2017)	Experimental controlado	Reabsorción radicular (Avulsión)	desplazadas y no desplazadas: IL-6,IL-8,INF- γ ,RANTES, MCP-1, TNF- α , IL-9	No hay asociación del polimorfismo de IL-4 con reabsorción radicular
	Bastos JV (2016)	Experimental controlado	RREI y RRER (avulsión)		TNF: mayor nivel en RREI que en RRER IL-RA: Más altos niveles en casos graves de RRER que en RREI IL-4: Mayor expresión con el aumento de edad en RRER IL-6 e INF γ sin diferencia significativa entre RREI y RRER aunque IL-6 estaba disminuida en RREI y aumentada en etapas avanzadas de RRER IL-17 similar en los dos grupos TH2 similar en los dos grupos IL-4 varió entre RREI y RRER de acuerdo a la edad

7. MÉTODOS UTILIZADOS EN LA DETECCIÓN DE CITOCINAS

Existen diferentes métodos que se pueden utilizar a la hora de analizar las citoquinas presentes en los diferentes fluidos del organismo, estos son:

7.1 PCR CUANTITATIVA O PCR EN TIEMPO REAL

Implica la medición de la cantidad de mRNA transcrito de citoquinas. El método es sencillo y permite la detección de diferentes citoquinas a partir de cantidades de muestra relativamente pequeñas, proporcionando una alta sensibilidad y especificidad para medir la expresión de bajos niveles de ARNm en muestras

pequeñas(103). Con éste tipo de PCR los procesos de amplificación y detección ocurren de manera simultánea y la cantidad de ADN sintetizado en cada momento se puede medir mediante un lector de fluorescencia que va incorporado en los termocicladores, esto debido a que la fluorescencia emitida por la reacción es proporcional a la cantidad de ADN formado (104). La fluorescencia emitida se debe a la acción de agentes intercalantes o marcadores de unión de ADN y sondas específicas marcadas con fluorocromos. Los marcadores de unión de ADN son compuestos que se insertan en las bases de una molécula de ADN y pueden ser colorantes de acridina, bromuro de metilo y SYBR Green (105). Estos agentes intercalantes han sido ampliamente usados, pero tienen la desventaja de que al unirse a todo tipo de ADN de doble cadena, incluyendo dímeros (si lo hay) o productos inespecíficos (si los hay), pueden generar resultados falsos positivos al momento de realizar la identificación de un gen o segmento específico de ADN. Los métodos que monitorean la fluorescencia de los productos de la PRC emplean sondas fluorogénicas basadas en el sistema de transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (103). Esta tecnología permite por tanto una cuantificación más rápida y precisa de la expresión génica que la PCR convencional.

Una de las principales desventajas es que la presencia de RNA no siempre refleja exactamente los niveles de proteína. Otra desventaja es que la identificación de fuentes celulares de citoquinas requiere el aislamiento de diferentes tipos celulares. Además, aunque la PCR es altamente sensible, si solo una pequeña porción de células produce la citoquina de interés, el umbral para su detección puede no ser alcanzado (106).

7.2 ELISA (ENZIMOINMUNOANÁLISIS)

Ésta técnica inmunológica es un ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas y ha sido la más utilizada en la práctica clínica, su protocolo es sencillo y cuantitativo, y consiste en la identificación de complejos antígeno (Ag)-anticuerpo (Ac) por medio del empleo de enzimas que se unen al Ag o Ac, de ésta forma, al agregar un sustrato específico, éste actúa con la enzima produciendo un color observable a simple vista, que también se puede cuantificar con un espectrofotómetro o un colorímetro. Los resultados finales de la lectura colorimétrica se reflejan numéricamente mediante valores de absorbancia o densidad óptica que se obtendrán a la longitud de onda más adecuada para la coloración final alcanzada, siendo la densidad óptica proporcional a la cantidad de producto medido (107).

La enzima debe tener un sustrato cromogénico o fluorogénico, las más utilizadas son la ALP, peroxidasa de rábano y β -galactosidasa y la actividad enzimática se puede ver afectada por el tiempo de reacción, la temperatura y la exposición a la luz. Cuando se necesita llevar a cabo un ensayo con alta sensibilidad, es

importante que el sustrato produzca un color intenso con una tasa de reacción muy rápida (107).

Existen diferentes tipos de ELISA: directo, indirecto, sándwich, competitivo. Los métodos básicos son el ELISA directo que detecta antígenos y el ELISA indirecto que detecta anticuerpos (108). General, los pasos para llevar a cabo una ELISA son los siguientes:

- ✓ Tapizar el pocillo con el antígeno o anticuerpo.
- ✓ Adicionar la muestra con la mezcla de antígenos o anticuerpos
- ✓ Unión del antígeno o anticuerpo específico al anticuerpo o antígeno tapizado en el pocillo.
- ✓ Lavar del pocillo para eliminar el exceso de antígeno o anticuerpo no unido
- ✓ Adicionar el anticuerpo secundario marcado con la enzima
- ✓ Unión del anticuerpo secundario al antígeno o anticuerpo
- ✓ Lavar del pocillo para eliminar el exceso de enzima no unida
- ✓ Adicionar el sustrato
- ✓ Unión del sustrato con la enzima
- ✓ Cambio de color

Esta técnica tiene la ventaja de que la lectura de los resultados es sencilla, además de que los procedimientos están muy automatizados. La desventaja de ésta técnica es que requiere una cantidad relativamente grande de la muestra y gracias al consumo celular de citoquinas, los niveles reales de citoquinas pueden estar subestimados. Además, la mayoría de las pruebas ELISA dependen de la amplificación de la señal mediada por enzimas para conseguir una sensibilidad razonable. Esta amplificación no siempre es lineal y por lo tanto puede sesgar los resultados (109).

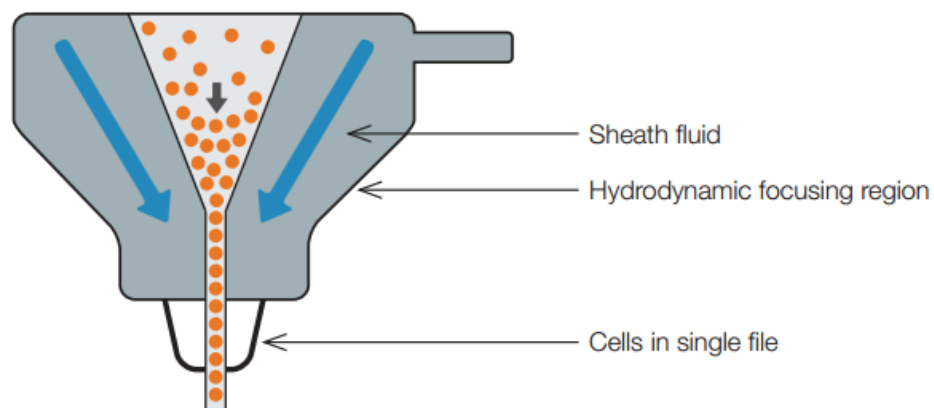
La prueba de ELISA tipo sándwich es de 3 a 5 veces más sensible que la ELISA directa e indirecta en la detección de antígeno (110).

7.3 CITOMETRÍA DE FLUJO

Es una técnica cuantitativa de alta sensibilidad y velocidad de análisis, cuyo principio se basa en hacer pasar complejos Ag-Ac (marcados previamente con fluorocromos) o complejos ligando-molécula específica (como por ejemplo yoduro de propidio-ADN) en suspensión, a través de un orificio muy pequeño de tal manera que al salir, los complejos salen alineados uno por uno como se ilustra en la Figura 7-9. Sobre ellos incide un haz de luz láser, generando una dispersión de la luz que es captada por detectores de gran sensibilidad. La luz se dispersa en la dirección frontal, lateral, Las mediciones de fluorescencia tomadas a diferentes longitudes de

onda pueden proporcionar datos cuantitativos y cualitativos sobre receptores de superficie celular marcados con fluoróforo o moléculas intracelulares tales como ADN y citoquinas. La luz emitida se divide según su longitud de onda, siendo canalizada por un conjunto de filtros y espejos dentro del citómetro de flujo, esto con el fin de que cada sensor detecte fluorescencia solamente a una longitud de onda específica (el número de detectores variará según el instrumento y su fabricante, y la especificidad de la detección es controlada por filtros ópticos, los cuales bloquean ciertas longitudes de onda mientras transmiten otras)(111). Los fotones detectados por el sensor son convertidos en un impulso de voltaje, conocido como evento. La altura total del pulso y el área se miden mediante el citómetro de flujo. El área de pulso de voltaje medido se correlacionará directamente con la intensidad de fluorescencia para ese evento. En resumen, las señales luminosas detectadas se transforman en impulsos eléctricos que se amplifican y se convierten en señales digitales que son procesadas por una computadora. La citometría de flujo se puede utilizar para analizar el contenido del ADN y la distribución del ciclo celular, a viabilidad celular, apoptosis, flujo de calcio, el potencial de membrana y el pH intracelular, la expresión de la superficie celular y/o antígenos intracelulares y marcadores, proteínas, y cromosomas(111).

Fig. 7-9: Enfoque hidrodinámico que produce una sola corriente de partículas(111)



7.3.1 PRINCIPIOS DE FLUORESCENCIA

Los fluoróforos son marcadores fluorescentes que absorben la energía luminosa y emiten una longitud de onda más larga. Cuando un fluoróforo absorbe la luz, sus electrones se excitan y se mueven de un estado de reposo a un nivel de energía máxima llamado el estado electrónico excitado; los marcadores fluorescentes son útiles en una amplia gama de aplicaciones, incluyendo la identificación y cuantificación de distintas poblaciones de células, receptores de superficie celular

o dianas intracelulares; clasificación de células; inmunofenotipado; experimentos con flujo de calcio; determinar el contenido de ácido nucleico; medir la actividad enzimática; y estudios de apoptosis. Varios fluoróforos pueden ser excitados por un solo láser. Mediante el uso de filtros es posible analizar varios parámetros de la muestra en cualquier momento. Esto constituye la base de los estudios de fluorescencia multicolor(111).

Los datos de citometría de flujo se pueden analizar de diferentes maneras entre las que están puertas y regiones (alrededor de poblaciones de células con características comunes, usualmente dispersión hacia adelante, dispersión lateral y expresión de marcador, para investigar y cuantificar estas poblaciones de interés), histogramas de un solo parámetro o univariados (muestran un solo parámetro de medición (fluorescencia relativa o intensidad de dispersión de luz) en el eje XY el número de eventos (recuento de células) en el eje Y), histogramas de dos parámetros o bivariados (Estos datos también pueden ser visualizados donde el gráfico de densidad se divide en cuatro cuadrantes, lo que le permite determinar las células individuales positivas para cada marcador y ambos doble negativo y doble positivo. Cuando los niveles de expresión no muestran poblaciones distintas o no son mutuamente excluyentes, los controles apropiados ayudarán a determinar las poblaciones positivas y negativas)(111).

7.3.2 INNOVACIONES EN CITOMETRÍA DE FLUJO

La citometría de flujo se ha vuelto más accesible a los investigadores a través de una reducción en la complejidad de la configuración del instrumento, la automatización verdadera, una mayor sensibilidad y un software más fácil de usar. El creciente número de fluoróforos y anticuerpos disponibles y protocolos mejorados también han hecho esta técnica accesible a un número creciente de investigadores. Aunque la citometría de flujo multicolor utilizando marcadores fluorescentes sigue siendo una de las herramientas más poderosas en la investigación, hay algunas innovaciones nuevas.

7.3.3 CITOMETRÍA DE FLUJO DE IMAGEN

La citometría de flujo por imágenes permite capturar imágenes de las partículas a medida que pasan a través del láser usando una cámara digital CCD (Dispositivo de Carga Acoplada). Se pueden capturar imágenes múltiples (espectralmente diferentes) simultáneamente permitiendo que se hagan compuestos y se determine el análisis de la localización del antígeno.

7.3.4 CITOMETRÍA DE MASA

Otra innovación es la citometría de masas. La introducción de citómetros de flujo con múltiples láser capaces de detectar 28 parámetros además de dispersión directa y lateral, por ejemplo el ZE5 de Bio-Rad, ha aumentado enormemente la complejidad de los experimentos de citometría de flujo fluorescente. Sin embargo, la citometría de masa tiene la capacidad de detectar en 135 canales, permitiendo la construcción de paneles multiplex y actualmente se pueden medir más de 40 marcadores por célula.

La citometría de masa se basa en etiquetar las muestras con anticuerpos unidos a isótopos metálicos que pueden entonces medirse analizando el tiempo que cada isótopo toma para pasar a través de un campo eléctrico hacia el detector. Cuanto mayor sea el isótopo, más tiempo tarda. La adquisición de la muestra es más lenta con la citometría de masa y como las células se vaporizan sólo el análisis se puede realizar, sin embargo, hay menos problemas con el derrame y la compensación. Sin embargo, el análisis de la muestra puede llevar mucho tiempo y ser problemático, ya que requiere software especializado debido al número de parámetros que se pueden recopilar en una célula(111).

7.4 MULTIPLEXING O MULTI-ANÁLISIS

Se refiere a la tecnología xMAP (Multi Analyte Profiling) de Luminex, que se basa en la capacidad de detectar y cuantificar múltiples analitos en la misma muestra (muestra pequeña de 50µl), lo cual conduce a un ahorro de recursos, trabajo y tiempo, además de tener una alta sensibilidad (<10pg/ml). Ésta tecnología permite realizar una variedad de bioensayos en la superficie de múltiples microesferas de poliestireno (en lugar del fondo de un pozo), pues cada microesfera sirve como una prueba individual. Las microesferas serán leídas en un analizador por flujo tipo Luminex, el cual detectará la identidad de cada microesfera y su fluorescencia(111)(111)(111)(111)(110)(110)(109)(109)(109)(109)(107)(107)(107)(107)(107)(107)(107)(112).

Para entender cómo funciona ésta tecnología se debe saber que las microesferas cuentan hasta con 500 códigos de color diferentes. Estas microesferas se tapizan con anticuerpos de captura, de tal forma que al añadir la muestra el analito es capturado. Posteriormente se añade el anticuerpo de detección fluorescente y se analiza(111).

La aplicación de un sistema de matriz de citocina multiplex puede llegar a ser una herramienta poderosa para describir ampliamente el perfil de citocinas y para evaluar el papel de estas moléculas en la patogénesis de las enfermedades orales(88).

7.5 MÉTODO CBA (CYTOMETRIC BEAD ARRAY)

Ésta tecnología tiene el mismo principio de la anterior con la diferencia que se basa en la capacidad de emitir diferentes intensidades de fluorescencia por un solo fluoróforo para lograr la multiplexación (113). Como resultado, el número de ensayos que se pueden realizar es más limitado, permitiendo la detección simultánea de hasta 30 proteínas a la vez, utilizando un volumen de muestra relativamente pequeño de 25 a 50 μ l, sin perder sensibilidad, precisión o reproducibilidad. Además, los tiempos de procesado en el laboratorio son menores, comparado con ELISA y Western Blot. La mayor desventaja es su alto costo, baja sensibilidad. La sensibilidad de ésta prueba es de 0.274 pg/ml (114).

7.5.1 KITS PARA CITOMETRIA DE FLUJO

Dentro los kits que se encuentran disponibles en Colombia para realizar la citometría de flujo se encontró:

A. Bio-Plex Pro: permite detectar y cuantificar 37 biomarcadores clave de la inflamación de las proteínas de la superfamilia del TNF, las proteínas de la familia IFN, las citocinas Treg y las MMP en un solo ensayo.

La inflamación es el sello de la alergia, las enfermedades infecciosas y la cicatrización de heridas. Es una de las principales causas de mortalidad en todo el mundo y está indicada en ocho grandes enfermedades incluyendo enfermedades autoinmunes, cáncer, enfermedades cardiovasculares, complicaciones diabéticas, enfermedades infecciosas, complicaciones del trastorno metabólico, enfermedades neurológicas y enfermedades pulmonares.

Disponible en paneles de cribado más grandes de 24 plex y 37 plex y un panel Treg 12-plex enfocado en la vía, junto con ensayos singleplex y configurados a medida, los Ensayos de Inflamación Humana Bio-Plex Pro incluyen los siguientes analitos:

1. ABRIL / TNFSF13
2. BAFF / TNFSF13B
3. sCD30 / TNFRSF8
4. sCD163
5. Chitinase-3-como 1
6. gp130 / sil - 6R \ beta
7. IFN- α 2
8. IFN - \ beta
9. IFN- γ
10. IL-2
11. sIL - 6R \ alpha
12. IL-8

13. IL-10
14. IL-11
15. IL - 12 (p40)
16. IL - 12 (p70)
17. IL-19
18. IL-20
19. IL-22
20. IL-26
21. IL - 27 (p28)
22. IL - 28A / IFN - λ 2
23. IL - 29 / IFN - λ 1
24. IL-32
25. IL-34
26. IL-35
27. LIGHT / TNFSF14
28. MMP-1
29. MMP-2
30. MMP-3
31. Osteocalcina
32. Osteopontina
33. Pentraxin-3
34. sTNF - R1
35. sTNF - R2
36. TSLP
37. TWEAK / TNFSF12

Beneficios de Bio-Plex Pro Ensayos de Inflamación Humana:

Única y relevante mezcla de objetivos el único kit de ensayo Luminex basado en cuentas disponibles que combina las proteínas de la superfamilia TNF, proteínas de la familia IFN, citoquinas Treg y MMPs en un ensayo.

Opciones de pedido flexibles: dos grandes paneles de detección de inflamación multiplex en kits premezclados listos para usar (37 plex o 24 plex), un kit Treg 12 plex, ensayos de singleplex y cualquier combinación de ensayos disponibles como kits personalizados en "mezclar" o "mezclar" las opciones

Resultados rápidos: multiplexar los datos en sólo 3,5 horas mediante el uso de perlas magnéticas y los protocolos de ensayo más rápidos

Factor de dilución único para todos los objetivos - y un control de un solo nivel

B. Bio-Plex Pro Cytokine 17-Plex Immunoassay : es un kit de 1 x 96 pocillos que incluye perlas magnéticas acopladas, anticuerpos de detección, estándares, tampón de ensayo, tampón de lavado, diluyente de muestra, diluyente estándar, diluyente de anticuerpo de detección, estreptavidina-PE, una placa inferior plana y una cinta de sellado. Este ensayo multiplex detecta:

1. G-CSF
2. GM-CSF
3. IFN- γ

IDENTIFICACION DE BIOMARCADORES Y CITOCINAS EN FLUIDO CREVICULAR DE DIENTES PERMANENTES CON ANTECEDENTES DE TRAUMA DENTOALVEOLAR QUE PRESENTAN REABSORCION RADICULAR EXTERNA. REVISION NARRATIVA DE LA LITERATURA.

4. IL - 1 \ beta
5. IL-2
6. IL-4
7. IL-5
8. IL-6
9. IL-7
10. IL-8
11. IL-10
12. IL - 12 (p70)
13. IL-13
14. IL-17
15. MCP - 1 (MCAF)
16. MIP - 1 \ beta
17. TNF- α

Basado en perlas magnéticas de 6,5 μm , es compatible con estaciones de lavado tanto magnéticas como de vacío. El lavado magnético simplifica el procesamiento de la placa, proporciona un mayor rendimiento y da como resultado una variabilidad disminuida y una mayor reproducibilidad.

A continuación se presentan datos relevantes (Tabla 4-6) tomados de los diferentes protocolos que se realizaron en los estudios revisados sobre toma de muestras en FGC de dientes con reabsorción radicular externa asociada a trauma.

Tabla 7-7: *Protocolos de evaluación de biomarcadores y citocinas en reabsorción radicular externa*

Autor /Año	Tiempo toma de muestra después del trauma	Material utilizado para la muestra	Tiempo toma de muestra en surco gingival	Temperatura de almacenamiento	Método de identificación
Mah J (2004)	Durante el tratamiento de ortodoncia. 4 a 16 días después del movimiento	Tira de de papel (Periopaper, Harco, Tustin, CA, E.UU.). Muestra tomada en FGC.	30 Segundos Después de 1 minuto: segunda muestra.	70°C	ELISA
Balducci L (2007)	1 año	Tiras de papel (periopaper). Muestra tomada en FGC.	30 segundos		Electroforesis (SDS-PAGE) ELISA
Kereshanan S (2008)	1) Dientes que erupcionaron antes de iniciar el tratamiento de ortodoncia. 2) 1 año después de iniciar ortodoncia.	Micropipeta por acción capilar. Muestra tomada en FGC.	10 minutos	80 °	Electroforesis (SDS-PAGE) Western Blot
George A (2010)	1 año	Tiras de papel (Periopaper, Oraflow, Plainview NY).	30 segundos.	80°C	Electroforesis (SDS-PAGE)

		Muestra tomada en FGC.	Después de 1 minuto: segunda muestra.		Western Blot y ELISA
Tyrovola J (2010)	1 día	Tiras de papel (Periopaper, Harco, Tustin, CA, EE.UU.). Muestra tomada en FGC.	1-2 min	20 °C	
Alfaqeeh S.(2011)	1 hora, 1, 7, 14, y 21 días	Tiras de papel (Periopaper, PROFLOW, Amityville, NY). Muestra tomada en FGC.	60 segundos	70°C	ELISA
Kumar V (2013)	2 y 6 semanas 3 y 6 meses	Pipeta microcapilar volumétrica. Muestra tomada en FGC.			ELISA
Rosenvall C (2013)	Dentro de las 24 horas después de ocurrida la lesión.	Tiras de papel Periopaper (Oraflow NY). Muestra tomada en FGC.	20 segundos	50°F	Ensayo multiplex (Citometría - Bio-Plex)
Rody Jr, W (2014)		Tiras de papel (Periopaper; Ora Florida ay, Plainview, Nueva York)	40 segundos	80°C	Cromatografía líquida (LC) y Espectrometría de masas (MS)
Rody Jr W (2016)		Tiras de papel (Periopaper, Oraflow Inc, Plainview, NY). Muestra tomada en FGC.	40 segundos		Microarrays de proteínas ELISA
Bastos JV (2016)	RREI y RRER (avulsión)	Raíces triturados			ELISA CITOMETRIA DE FLUJO Modelo lineal de regresión multivariado
De Aguiar MCS (2017)		Tubos capilares Puntas de papel Tiras de papel. Muestra tomada en FGC.	5 a 60 segundos		PCR
Roskamp L (2017)	1 año	células de la mucosa oral			
Ahuja R (2017)	0 h (antes de la aplicación de la fuerza) y 3 h, 1 día, 3 días, 7 días y 28 días después de la aplicación de la fuerza	Tiras de papel (Periotron 8000, Oraflow Inc., Nueva York, EE.UU.) Muestra tomada en FGC.			ELISA

8. DISCUSIÓN

Aunque la incidencia de trauma dentoalveolar en niños es baja (1-3%) en la población, es un evento que requiere gran atención ya que puede afectar diferentes tejidos dentales, de soporte y óseo según Andreasen JO et al; así que debemos tener presente que cuando se lacera un tejido debido a un trauma, se inicia un proceso de reparación que puede variar debido a la complejidad y a los diferentes tejidos involucrados (11), conduciendo a la pérdida de los dientes y posterior efecto

IDENTIFICACION DE BIOMARCADORES Y CITOCINAS EN FLUIDO CREVICULAR DE DIENTES PERMANENTES CON ANTECEDENTES DE TRAUMA DENTOALVEOLAR QUE PRESENTAN REABSORCION RADICULAR EXTERNA. REVISION NARRATIVA DE LA LITERATURA.

negativo en la calidad de vida de los individuos que lo presentan; por lo tanto se considera un problema de salud pública como lo menciona Ramos-Jorge J et al.

Después de ocurrido el trauma, una de las respuestas desfavorables de los tejidos periodontales es la reabsorción radicular externa la cual es un proceso que afecta los tejidos dentales de forma similar a la reabsorción ósea mediada por factores solubles como biomarcadores y citocinas donde el tipo de reabsorción que se presente (superficial, inflamatoria o por reemplazo) dependerá del daño ocasionado al ligamento periodontal y del compromiso del tejido pulpar acorde a Durack C.

En los últimos años se ha desarrollado un área de investigación que ha profundizado en el análisis de citocinas y biomarcadores ya que desempeñan un papel central en la regulación de la inflamación y la reabsorción radicular; para su identificación se han utilizado células de la mucosa oral, fibroblastos, monocitos, dientes extraídos y actualmente el análisis de FGC que puede obtenerse de forma simple, no invasiva y en pocos minutos como se realizó en el estudio de Rosenvall C, en áreas como periodoncia y ortodoncia se ha utilizado para determinar el diagnóstico e iniciar un tratamiento adecuado y oportuno. En periodontitis el análisis de FGC ha sido útil para diferenciar gingivitis crónica de periodontitis y podemos mencionar que en uno de los estudios realizados en esta área se reporta que los niveles de enzimas de MMP8, elastasa y sialidasa fueron determinantes para el diagnóstico pero en un porcentaje $\geq 80\%$. cada biomarcador por sí solo no fue capaz de predecir el resultado del tratamiento según Rosenvall CG y col y Guentsch A y col. quienes reportaron que los micro RNA utilizados como biomarcadores de diagnóstico permitieron identificar periodontitis por la expresión de HSA-miRNA en fluido crevicular. Por otro lado, en ortodoncia los estudios se han realizado para diagnosticar reabsorción radicular externa en pacientes donde los movimientos ortodónticos la desencadenan acorde a Balducci L y col., quien reporta que proteínas de la matriz no colágena de la dentina como fosfoproteína dentinal (PP) y sialoproteína dentinal (DSP) han sido utilizadas como biomarcadores en fluido crevicular para diagnosticar reabsorción radicular externa.

Las citocinas inducen la liberación de sustancias para que se dé la interacción entre célula y célula por mediación de PGE-2 y factores de crecimiento según Liu G et al pero todas estas citocinas no solo participan en procesos fisiológicos, también pueden participar en el inicio de la reabsorción radicular ya que este es desencadenado por citocinas proinflamatorias las cuales inicialmente se expresan para facilitar el proceso de reparación de los tejidos, no obstante Yadav A et al señala que los cambios o alteraciones en la expresión o función de estas citocinas puede conducir a un proceso de inflamación continuo y prolongado generando

lesiones patológicas. Dentro de las principales citocinas que actúan en la respuesta inespecífica o en la inflamación se encuentran: IL-1 (IL-1 α e IL-1, β), IL-2, TNF- α , IL-6, IL-8, IL-12, INF- γ que son reguladas por otras citocinas antiinflamatorias como GM-CSF, IL-4, IL-10, IL-13, IL-18, IL1-RA e INF- γ , IL-11.

Para DiAngelis AJ las citocinas asociadas al proceso de reabsorción radicular externa son las mismas que desencadenan la reabsorción ósea como IL-1 β (potente estimulador de la reabsorción ósea) e INF- α , las cuales actúan en la diferenciación de osteoclastos para aumentar los niveles de PGE-2, aun cuando su efecto antagonista sea el de intervenir en la osteoclastogénesis estimulando así la actividad de RANK-L para inducir la remodelación ósea en procesos fisiológicos. Abbas y Murphy K et al. Indican que IL-6 actúa con IL-1 y TNF para activar linfocitos. Por otro lado IL-7 induce la expresión de TNF- α aumentando RANK-L ; además, la IL-8 permite la diferenciación y activación de osteoclastos a través de RANK-L. La IL-4, con un efecto contrario, activa IG-E aumentando los niveles de OPG e inhibiendo RANK-L e IL-1. Respecto al polimorfismo de IL-4, Roskamp L et al. mencionan que esta citocina no presenta asociación con reabsorción radicular y que INF- γ inhibe la proliferación de Th2 mientras que IL-10 inhibe IL-2 e INF- γ . Por lo tanto CTLA-4 (receptor de linfocitos T) con IL-4; IL-5, IL-6 e IL-10 disminuyen la expresión de RANK y aumentan la OPG.

Además de las citocinas anteriormente mencionadas existen otros biomarcadores como DMP-1 (proteína de la matriz dentinal en dentina y hueso), PP y. DSP en matriz de dentina; ALP que determina la extensión de la remodelación ósea y renovación del ligamento periodontal, así como PGE-2 que es un mediador proinflamatorio y potente estimulador del proceso de reabsorción ósea. Estas proteínas normalmente se encuentran en mayor cantidad cerca a la superficie pulpar y en tejido óseo en proceso de remodelación. También se pueden encontrar en lesiones producidas por reabsorción radicular externa siendo liberadas al espacio del ligamento periodontal.

En el estudio de Miron RJ et al, al comparar RREI con RRER se encontraron diferencias en el perfil inmunológico de estos dos tipos de reabsorción lo que puede ser relevante para comprender los mecanismos biológicos que subyacen a la RRE. Se encontró que los niveles de TNF α son más altos en RREI que en RRER mientras que los niveles de IL-1 β fueron más reducidos en RREI que en RRER; cuando se presenta moderada RRER los niveles de IL-1RA fueron más bajos que en RREI pero en estados avanzados de RRER los niveles de IL-1RA fue mayor que en RREI y aunque no se encontró diferencia en la expresión de citocinas Th2, IL-2, IL-10 y TGF- β , si se encontró diferencia en la expresión de IL-4 entre las dos clases de reabsorción. Por otro lado, la concentración de quimioquinas como CCL2 CCL3, CCL5, IL-8 / CXCL8 no se vio afectada por la clase o por el índice de reabsorción radicular.

IDENTIFICACION DE BIOMARCADORES Y CITOCINAS EN FLUIDO CREVICULAR DE DIENTES PERMANENTES CON ANTECEDENTES DE TRAUMA DENTOALVEOLAR QUE PRESENTAN REABSORCION RADICULAR EXTERNA. REVISION NARRATIVA DE LA LITERATURA.

Proteínas de la matriz dentinal como DMP1 no es específico de dentina, su presencia en el fluido crevicular puede no ser enteramente resultado de la actividad de resorción en curso, sino que puede ser debido al aumento de la remodelación ósea durante el movimiento dental ortodóncico. DMP1 no es un buen marcador de resorción radicular ya que no es posible distinguir entre la actividad normal y patológica. PP y DSP podrían ser marcadores potenciales para la reabsorción radicular, ya que su concentración en los grupos de estudio fue significativamente mayor que el grupo control.

Sin embargo, teniendo en cuenta el objetivo de esta revisión, en el área de endodoncia los estudios que se han realizado para diagnosticar reabsorción radicular externa posterior a trauma dentoalveolar son limitados. En esta revisión se encontró que de los 14 estudios experimentales analizados (100%), 7 estudios (50%) como son los de Mah J, Balducci L, George A, Tyrovola J, Alfaqeeh S, De Aguiar MCS y Ahuja R identificaron DPP, PP, DSP, DMP-1, osteopontina (OPN), OPG, RANK-L, N-telopéptidos marcador de colágeno tipo I (NTx), Osteonectina, Fosfoproteína ósea, osteocalcina, PGE2, IL-1 β , TNF α , IL-7 en dientes con reabsorción radicular externa desencadenada por movimientos ortodóncicos, solo 4 estudios (28%) identificaron biomarcadores y citocinas en reabsorción radicular causada por trauma dentoalveolar donde solamente 2 estudios (14%) cumplieron con el objetivo de esta revisión la cual era identificar biomarcadores y citocinas en fluido crevicular de dientes permanentes con antecedentes de trauma dentoalveolar que presentan reabsorción radicular externa. En uno de estos dos estudios Kumar V. identificó DSP y en el otro Rosenvall C identificó en lesiones desplazadas (Luxación lateral, luxación extrusiva, luxación intrusiva y avulsión) así como en no desplazadas (concusión, subluxación, fractura coronal clase I; II y III) niveles de citoquinas significativos de IL-6, IL-8, INF- γ , RANTES, MCP-1, TNF- α e IL-9. Este último estudio tuvo la limitación de presentar una muestra pequeña de casos de trauma dentoalveolar, lo cual hizo difícil examinar y comparar distintos tipos de trauma en este estudio.

Clínicamente los dientes con reabsorción radicular externa son dientes asintomáticos y el diagnóstico se da por el hallazgo radiográfico según Darcey J. et al. cuando la pérdida de tejido mineral se presenta entre el 60 % y 70% sin posibilidad de determinar el progreso de la lesión(6). El examen radiográfico ofrece una amplia accesibilidad, facilidad de uso y costo-efectividad, pero se presentan dificultades con la técnica y con la exposición a la radiación ya que las radiografías no permiten la identificación de la reabsorción radicular en las primeras etapas y a menudo no revelan la reabsorción superficial en las superficies linguales y vestibulares de las raíces. Se ha demostrado que la tomografía computarizada de haz cónico aumenta la sensibilidad en la detección de la reabsorción radicular, sin embargo, una mayor exposición a la radiación

comparada con radiografía digital que actualmente se utiliza, hacen que no sea posible su uso de forma habitual en odontología. Teniendo en cuenta estas limitaciones actuales de métodos radiográficos, hay una necesidad de establecer un método alternativo más seguro y confiable para diagnosticar clínicamente la reabsorción radicular acorde a Bernardes RA et al.

Para el análisis de biomarcadores y citocinas se han desarrollado métodos múltiple para medir simultáneamente numerosas citocinas en especímenes individuales de pequeño volumen y el método más común para su cuantificación ha sido la técnica específica de inmunoensayo tradicional ELISA con la que se identifican complejos antígeno (Ag)-anticuerpo (Ac) por medio del empleo de enzimas que se unen al Ag o Ac, que aunque es fiable, no es rápida, requiere un largo tiempo de preparación de la muestra, un volumen de muestra relativamente grande (100 µl) y alto nivel de complejidad en el etiquetado de la muestra según Guozhen Liu. Y col. Otra técnica es PCR cuantitativa o PCR en tiempo real que es un método sencillo el cual mide la cantidad de mRNA transcrito de citocinas, requiere una muestra pequeña para su identificación, sin embargo, requiere aislamiento celular y cuando hay una cantidad pequeña de células no es posible alcanzar el umbral necesario para detectar las citocinas expresadas de acuerdo a Amsen D et al. Actualmente se utiliza la citometría de flujo que es una técnica cuantitativa de alta sensibilidad y velocidad de análisis. El análisis se da por dispersión de luz emitida por un haz de luz láser que permite medir la fluorescencia de ADN, citocinas, distribución del ciclo celular, viabilidad celular, apoptosis, flujo de calcio, potencial de membrana y el pH intracelular, la expresión de la superficie celular y/o antígenos intracelulares, biomarcadores, proteínas, y cromosomas marcados con fluoróforos para ser finalmente analizados por un software de computador (111) Esta es una técnica que permite identificar más de 20 citocinas mientras que las otras técnicas sólo identifican unas pocas, por lo tanto está siendo más utilizada como medio de diagnóstico.

9. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

9.1 CONCLUSIONES

- El análisis de fluido gingival crevicular en dientes que han sufrido trauma dentoalveolar, es un método de diagnóstico no invasivo, rápido, simple, seguro y confiable el cual aporta indicadores como biomarcadores y citocinas para predecir y facilitar de forma efectiva la detección de reabsorción radicular externa en estadios iniciales, permitiendo instaurar el tratamiento adecuado en fases tempranas de la enfermedad.
- Altos niveles de DSP, IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-9, IL-10, IL-17, INF- γ , TNF- α , G-CSF, MCP-1, RANTES, MIP-1 α , MIP-1 β , PDGF y VEGF han sido identificadas en fluido gingival crevicular de dientes permanentes, para diagnosticar reabsorción radicular externa posterior a trauma dentoalveolar.
- El método que permite identificar mayor cantidad de biomarcadores y citocinas en un solo análisis es la citometría de flujo, método CBA (CYTOMETRIC BEAD ARRAY) el cual supera muchas de las limitaciones que se presentan con los otros métodos, permitiendo analizar hasta 30 proteínas a la vez utilizando un volumen de muestra relativamente pequeño.

9.2 RECOMENDACIONES

Este trabajo es la base para encaminar futuras investigaciones en el área de trauma dentoalveolar en el servicio de endodoncia de La Fundación Hospital La Misericordia, donde los residentes del posgrado de endodoncia de la Universidad Nacional de Colombia atienden a niños que han sufrido trauma dentoalveolar, ya que con un nuevo método de diagnóstico que identifique el inicio del proceso de reabsorción radicular podrían tener mejores resultados en los tratamientos.

A. Anexo: PROTOCOLO TOMA DE MUESTRAS DE FLUIDO CREVICULAR EN DIENTES CON TRAUMA DENTOALVEOLAR

ASPECTOS ÉTICOS

Tener en cuenta la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial (AMM)

- Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos como requisito indispensable antes de aplicar el protocolo que a continuación se propone.

CUIDADOS Y RECOMENDACIONES

- No usar clorhexidina antes de tomar la muestra, realizar la limpieza lavando suavemente con agua y posteriormente lavar con suero fisiológico el lugar donde se va a recoger el fluido crevicular.

- Seleccionar dos sitios (mesial y distal) en superficie vestibular y palatina, para un total de 4 puntas de papel por cada diente afectado (control positivo). Además se deberá tomar muestra a un diente sano (control negativo) en los mismos sitios seleccionados para el diente afectado.

- En pacientes con historia de enfermedad sistémica o con ingesta de medicamentos no se debe tomar la muestra ya que esto afecta los resultados.

- En casos donde el paciente requiere antibióticos, estos no se deben tomar 24 a 48 horas antes de tomar la muestra.

- No usar anestésicos.

- Se recomienda tomar la muestra a los 8 días después de ocurrido el trauma dentoalveolar.

MATERIALES

- Separador de carrillos
- Guantes estériles
- Algodones
- Puntas de papel estéril
- Tubo de ensayo estéril

TÉCNICA DE RECOLECCIÓN

1. Limpiar cuidadosamente el margen gingival y la superficie dental supragingival, para remover la saliva, los detritos y la placa bacteriana.
2. Colocar separador de carrillos y realizar aislamiento relativo con rollos de algodón.
3. Secar suavemente con aire con el objetivo de eliminar excesos de saliva y agua (10).
4. Con pinzas algodoneras introducir suavemente las puntas de papel número 25 de 2mm a 3mm en el surco gingival en las superficies seleccionadas (mesial y distal) en vestibular y palatino de los dientes con trauma dentoalveolar, así como también en el diente sano que servirá como control.
5. Liberar suavemente la punta de papel en el surco.
6. Mantener la punta de papel en el surco durante 1 minuto controlado por cronómetro (8).
7. Retirar la punta de papel con las pinzas algodoneras sujetándola firmemente del extremo.
8. En caso de contaminación visible con sangre, descartar las puntas.
9. Posterior a la toma de la muestra colocar las cuatro puntas de papel en tubos de ensayo estéril con solución salina tamponada con fosfato (PBS) para su transporte al laboratorio. Colocar las puntas de papel del control positivo y control negativo de forma separada en diferentes tubos de ensayo.

TRANSPORTE

Se recomienda transportar la muestra durante los primeros 15 minutos o máximo una hora después de la recolección de la muestra, la cual deberá estar a temperatura ambiente (< 20° C) y protegida de la luz directa.

METODO DE DETECCIÓN SUGERIDO

Citometria de flujo - MÉTODO CBA (CYTOMETRIC BEAD ARRAY)

Bibliografía

1. DiAngelis AJ, Andreasen JO, Ebeleseder KA, Kenny DJ, Trope M, Sigurdsson A, et al. International Association of Dental Traumatology guidelines for the management of traumatic dental injuries: 1. Fractures and luxations of permanent teeth. *Dent Traumatol.* 2012 Feb;28(1):2–12.
2. Lin S, Pilosof N, Karawani M, Wigler R, Kaufman AY, Teich ST. Occurrence and timing of complications following traumatic dental injuries: A retrospective study in a dental trauma department. *J Clin Exp Dent.* 2016 Oct;8(4):e429–36.
3. Santos BO de A, Mendonça DS de, Sousa DL de, Neto JJSM, Araújo RBR de. *Revista sul-brasileira de odontologia : RSBO = South Brazilian dentistry journal.* Vol. 8, RSBO Revista Sul-Brasileira de Odontologia. Univille Univ; 2011. 439-445 p.
4. Soares AJ, Souza GA, Pereira AC, Vargas-neto J, Zaia AA, Silva EJNL. Frequency of root resorption following trauma to permanent teeth. *J Oral Sci.* 2015;57(2):73–8.
5. Ministerio de Salud y Protección Social, MINSALUD. IV Estudio Nacional De Salud Bucal - ENSAB IV. Bogotá, Colomb. 2014;3:381.
6. Balducci L, Ramachandran A, Hao J, Narayanan K, Evans C, George A. Biological markers for evaluation of root resorption. *Arch Oral Biol.* 2007;52(3):203–8.
7. Mah J, Prasad N. Dentine phosphoproteins in gingival crevicular fluid during root resorption. *Eur J Orthod.* 2004;26(1):25–30.
8. Kereshanan S, Stephenson P, Waddington R. Identification of dentine sialoprotein in gingival crevicular fluid during physiological root resorption and orthodontic tooth movement. *Eur J Orthod.* 2008;30(3):307–14.
9. Bernardes RA, de Paulo RS, Pereira LO, Duarte MAH, Ordinola-Zapata R, de Azevedo JR. Comparative study of cone beam computed tomography and intraoral periapical radiographs in diagnosis of lingual-simulated external root resorptions. *Dent Traumatol.* 2012;28(4):268–72.
10. Tyrovola JB, Perrea D, Halazonetis DJ, Dontas I, Valchos IS, Makou M. Relation of soluble RANKL and osteoprotegerin levels in blood and gingival crevicular fluid to the degree of root resorption after orthodontic tooth movement. *J Oral Sci.* 2010;52(2):299–311.
11. Alfaqeeh SA, Anil S. Osteocalcin and N-telopeptides of type I collagen marker levels in gingival crevicular fluid during different stages of orthodontic tooth movement. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 2011;139(6):e553–9.
12. Kumar V, Logani A, Shah N. Dentine sialoprotein expression in gingival

- crevicular fluid during trauma-induced root resorption. *Int Endod J*. 2013;46(4):371–8.
13. Rosenvall CG. Trauma and Cytokines: Gingival Crevicular Fluid Biomarkers in Traumatized Permanent Incisors - A Pilot Investigation. 2013;1–72.
 14. Rody Jr WJ, Holliday LS, McHugh KP, Wallet SM, Spicer V, Krokhin O. Mass spectrometry analysis of gingival crevicular fluid in the presence of external root resorption. *Am J Orthod Dentofac Orthop*. 2014;145(6):787–98.
 15. Rody WJ, Wijegunasinghe M, Shannon Holliday L, McHugh KP, Wallet SM. Immunoassay analysis of proteins in gingival crevicular fluid samples from resorbing teeth. *Angle Orthod*. 2016;86(2):187–92.
 16. Bastos JV, Silva TA, Colosimo EA, C??rtes MIS, Ferreira DAB, Goulart EMA, et al. Expression of Inflammatory Cytokines and Chemokines in Replanted Permanent Teeth with External Root Resorption. *J Endod*. 2017;43(2):203–9.
 17. De Aguiar MCS, Perinetti G, Capelli J. The Gingival Crevicular Fluid as a Source of Biomarkers to Enhance Efficiency of Orthodontic and Functional Treatment of Growing Patients. *Biomed Res Int*. 2017;2017.
 18. Roskamp L, Trevilatto PC, Souza M, Xavier U, Neto S, Carneiro E, et al. Types of External Root Resorption of Replanted Teeth: Analysis of the Clinical Aspects and of Interleukin-4 Gene Polymorphisms Involvement. *J Endod*. 2017;1–5.
 19. Ahuja R, Almuzian M, Khan A, Pascovici D, Dalci O, Darendeliler MA. A preliminary investigation of short-term cytokine expression in gingival crevicular fluid secondary to high-level orthodontic forces and the associated root resorption: case series analytical study. *Prog Orthod*. 2017;18(1):23.
 20. Glendor U. Epidemiology of traumatic dental injuries - A 12 year review of the literature. *Dent Traumatol*. 2008;24(6):603–11.
 21. GLENDOR, U.; MARCENES, W.; ANDREASEN JO. Classification, epidemiology and etiology. Textbook and color atlas of traumatic injuries to the teeth. Blackwell Munksgaard; 2007. p. 217-54.
 22. Andreasen JO, Andreasen FM, Andersson L, Andreasen JO. Textbook and color atlas of traumatic injuries to the teeth. 2007;897.
 23. Andersson L. Epidemiology of traumatic dental injuries. *J Endod*. 2013;39(3):S2–5.
 24. Glendor U. Aetiology and risk factors related to traumatic dental injuries - A review of the literature. *Dent Traumatol*. 2009;25(1):19–31.
 25. Zaleckiene V, Peciuliene V, Brukiene V, Drukteinis S. Traumatic dental injuries: etiology, prevalence and possible outcomes. *Stomatol ,Baltic Dent Maxillofac J*. 2014;16(1):7–14.
 26. Damé-Teixeira N, Alves LS, Susin C, Maltz M. Traumatic dental injury among 12-year-old South Brazilian schoolchildren: Prevalence, severity, and risk indicators. *Dent Traumatol*. 2013;29(1):52–8.
 27. Chen Z, Si Y, Gong Y, Wang JG, Liu JX, He Y, et al. Traumatic dental injuries among 8- to 12-year-old schoolchildren in Pinggu District, Beijing, China, during 2012. *Dent Traumatol*. 2014;30(5):385–90.

28. Lam R, Abbott P, Lloyd C, Lloyd C, Kruger E, Tennant M. Dental trauma in an Australian rural centre. *Dent Traumatol.* 2008;24(6):663–70.
29. Oldin A, Lundgren J, Norén JG, Robertson A. Temperamental and socioeconomic factors associated with traumatic dental injuries among children aged 0-17 years in the Swedish BITA study. *Dent Traumatol.* 2015;31(5):361–7.
30. Taiwo OO, Jalo HP. Dental Injuries in 12-year Old Nigerian students. *Dent Traumatol.* 2011;27(3):230–4.
31. Oldin A, Lundgren J, Nilsson M, Norén JG, Robertson A. Traumatic dental injuries among children aged 0-17 years in the BITA study - A longitudinal Swedish multicenter study. *Dent Traumatol.* 2015;31(1):9–17.
32. Kontio R, Suuronen R, Ponkkonen H, Lindqvist C, Laine P. Have the causes of maxillofacial fractures changed over the last 16 years in Finland? An epidemiological study of 725 fractures. *Dent Traumatol.* 2005;21(1):14–9.
33. Pohl Y, Filippi A, Results KH. Results after replantation of avulsed permanent teeth . I . Endodontic considerations. 2005;(1):80–92.
34. Petrovic B, Marković D, Peric T, Blagojevic D. Factors related to treatment and outcomes of avulsed teeth. *Dent Traumatol.* 2010;26(1):52–9.
35. Abanto J, Tello G, Bonini GC, Oliveira LB, Murakami C, Bönecker M. Impact of traumatic dental injuries and malocclusions on quality of life of preschool children: A population-based study. *Int J Paediatr Dent.* 2015;25(1):18–28.
36. El-Kenany MH, Awad SM, Hegazy SA. Prevalence and risk factors of traumatic dental injuries to permanent anterior teeth among 8-12 years old school children in Egypt. *Pediatr Dent J.* 2016;26(2):67–73.
37. Lam R. Epidemiology and outcomes of traumatic dental injuries: A review of the literature. *Aust Dent J.* 2016;61:4–20.
38. Noori AJ, Al-Obaidi WA. Traumatic dental injuries among primary school children in Sulaimani city, Iraq. *Dent Traumatol.* 2009;25(4):442–6.
39. Jokic NI, Bakarcic D, Fugosic V, Majstorovic M, Skrinjaric I. Dental trauma in children and young adults visiting a University Dental Clinic. *Dent Traumatol.* 2009;25(1):84–7.
40. Navabazam A, Farahani SS. Prevalence of traumatic injuries to maxillary permanent teeth in 9- to 14-year-old school children in Yazd, Iran. *Dent Traumatol.* 2010;26(2):154–7.
41. Traebert J, Bittencourt DD, Peres KG, Peres MA, De Lacerda JT, Marcenes W. Aetiology and rates of treatment of traumatic dental injuries among 12-year-old school children in a town in southern Brazil. *Dent Traumatol.* 2006;22(4):173–8.
42. Bakland LK, Andreasen JO. Dental traumatology: essential diagnosis and treatment planning. *Endod Top.* 2004;7(1):14–34.
43. Andreasen JO AF. Textbook and colour atlas of traumatic injuries to the teeth, 3rd edition. *J Dent.* 1995 Jun;23(3):191.
44. Darcey J, Qualtrough A. Resorption: part 1. Pathology, classification and aetiology. *Bdj.* 2013;214(9):439–51.

45. Andreasen. Traumatic dental injuries. 2011;3. ed(October 1998):1–2.
46. Andersson L, Andreasen JO, Day P, Heithersay G, Trope M, DiAngelis AJ, et al. International Association of Dental Traumatology guidelines for the management of traumatic dental injuries: 2. Avulsion of permanent teeth. *Dent Traumatol.* 2012;28(2):88–96.
47. Andreasen JO, Andreasen FM AL. Textbook and color atlas of traumatic injuries to the teeth (4th edition). Vol. 203, Bdj. Elsevier; 2007. 615-615 p.
48. Soares TRC, Luiz RR, Risso PA, Maia LC. Healing complications of traumatized permanent teeth in pediatric patients: A longitudinal study. *Int J Paediatr Dent.* 2014;24(5):380–6.
49. Tuna EB, Arai K, Tekkesin MS, Seymen F, Gencay K, Kuboyama N, et al. Effect of fibroblast growth factor and enamel matrix derivative treatment on root resorption after delayed replantation. *Dent Traumatol.* 2015;31(1):49–56.
50. Miron RJ, Fujioka-Kobayashi M, Bishara M, Zhang Y, Hernandez M, Choukroun J. Platelet-Rich Fibrin and Soft Tissue Wound Healing: A Systematic Review. *Tissue Eng Part B Rev.* 2017;23(1):83–99.
51. Panzarini SR, Okamoto R, Poi WR, Sonoda CK, Pedrini D, da Silva PE, et al. Histological and immunohistochemical analyses of the chronology of healing process after immediate tooth replantation in incisor rat teeth. *Dent Traumatol.* 2013;29(1):15–22.
52. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Mitchell RN. *Robbins Patología Humana.* 2013;
53. S. Guo and L.A. DiPietro. *Journal of Dental Research.* *J Dent Res.* 2010;89(3):219–29.
54. Gillitzer R, Goebeler M. Chemokines in cutaneous wound healing. *J Leukoc Biol.* 2001 Apr;69(4):513–21.
55. Bastos JV, Silva TA, Colosimo EA, Cortes MIS, Ferreira DAB, Goulart EMA, et al. Expression of Inflammatory Cytokines and Chemokines in Replanted Permanent Teeth with External Root Resorption. *J Endod.* 2017;43(2):203–9.
56. Rodriguez PG, Felix FN, Woodley DT, Shim EK. The role of oxygen in wound healing: A review of the literature. *Dermatologic Surg.* 2008;34(9):1159–69.
57. Eren G, Tervahartiala T, Sorsa T, Atila G. Cytokine (interleukin-1beta) and MMP levels in gingival crevicular fluid after use of platelet-rich fibrin or connective tissue graft in the treatment of localized gingival recessions. *J Periodontal Res.* 2016;51(4):481–8.
58. Yu CY, Abbott P V. Responses of the pulp, periradicular and soft tissues following trauma to the permanent teeth. *Aust Dent J.* 2016;61:39–58.
59. Sak M, Radecka M, Karpiński TM, Wędrychowicz-welman A, Szkaradkiewicz AK. Tooth root resorption: etiopathogenesis and classification. *MicroMedicine.* 2016;4(1):21–31.
60. Kamat M, Puranik R, Vanaki S, KAmat S. An insight into the regulatory mechanisms of cells involved in resorption of dental hard tissues. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2013;17(2):228–33.
61. Iglesias-Linares A, Morford LA, Hartsfield JK. Bone Density and Dental

- External Apical Root Resorption. *Curr Osteoporos Rep.* 2016;14(6):292–309.
62. ANDREASEN JO. External root resorption: its implication in dental traumatology, paedodontics, periodontics, orthodontics and endodontics. *Int Endod J.* 1985;18(2):109–18.
 63. Patel S, Kanagasingam S, Pitt Ford T. External Cervical Resorption: A Review. *J Endod.* 2009;35(5):616–25.
 64. Bastos JV, Ilma De Souza Cortes M, Andrade Goulart EM, Colosimo EA, Gomez RS, Dutra WO. Age and timing of pulp extirpation as major factors associated with inflammatory root resorption in replanted permanent teeth. *J Endod.* 2014;40(3):366–71.
 65. Palareti G, Legnani C, Cosmi B, Antonucci E, Erba N, Poli D, et al. Comparison between different D-Dimer cutoff values to assess the individual risk of recurrent venous thromboembolism: Analysis of results obtained in the DULCIS study. *Int J Lab Hematol.* 2016;38(1):42–9.
 66. Sharab LY, Morford LA, Dempsey J, Falcão-Alencar G, Mason A, Jacobson E, et al. Genetic and treatment-related risk factors associated with external apical root resorption (EARR) concurrent with orthodontia. *Orthod Craniofacial Res.* 2015;18(S1):71–82.
 67. Iglesias-Linares A, Hartsfield JK. Cellular and Molecular Pathways Leading to External Root Resorption. *J Dent Res.* 2017;96(2):145–52.
 68. Fernández-Tresguerres-Hernández-Gil I, Alobera-Gracia MA, Del-Canto-Pingarrón M, Blanco-Jerez L. Physiological bases of bone regeneration I. Histology and physiology of bone tissue. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2006;11(1):47–51.
 69. Mavridou AM, Pyka G, Kerckhofs G, Wevers M, Bergmans L, Gunst V, et al. A novel multimodular methodology to investigate external cervical tooth resorption. *Int Endod J.* 2016;49(3):287–300.
 70. Andreasen JO. Relationship Between Cell Damage in the Periodontal Ligament After Replantation and Subsequent Development of Root Resorption. *Acta Odontol Scand.* 1981;39(1):15–25.
 71. Trope M. Root Resorption due to Dental Trauma. *Endod Top.* 2002;1(1):79–100.
 72. Bastos JV, Côrtes MIS, Silva JFC, Goulart EMA, Colosimo EA, Gomez RS, et al. A study of the interleukin-1 gene cluster polymorphisms and inflammatory external root resorption in replanted permanent teeth. *Int Endod J.* 2015;48(9):878–87.
 73. Durack C, Patel S, Davies J, Wilson R, Mannocci F. Diagnostic accuracy of small volume cone beam computed tomography and intraoral periapical radiography for the detection of simulated external inflammatory root resorption. *Int Endod J.* 2011;44(2):136–47.
 74. Asgary S, Nosrat A, Seifi A. Management of inflammatory external root resorption by using calcium-enriched mixture cement: A case report. *J Endod.* 2011;37(3):411–3.
 75. Kim J, Kim Y, Shin S, Park J. Tooth Discoloration of Immature Permanent

- Incisor Associated with Triple Antibiotic Therapy : A Case Report. *J Endod.* 2010;36(6):1086–91.
76. E. AJO& H-H. Replantation of teeth II. Histological study of 22 replanted anterior teeth in humans. *Dent Dep Univ Hosp Copenhagen, Dep Oral Pathol R Dent Coll Copenhagen.* 1966;287–306.
 77. Darcey J, Qualtrough A. Resorption: part 2. Diagnosis and management. *Bdj.* 2013;214(10):493–509.
 78. Bastos Lages EM, Drummond AF, Pretti H, Costa FO, Lages EJP, Gontijo AI, et al. Association of functional gene polymorphism IL-1 in patients with external apical root resorption. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 2009;136(4):542–6.
 79. Patel S, Dawood A, Wilson R, Horner K, Mannocci F. The detection and management of root resorption lesions using intraoral radiography and cone beam computed tomography - an in vivo investigation. *Int Endod J.* 2009;42(9):831–8.
 80. Laux M, Abbott P V., Pajarola G, Nair PNR. Apical inflammatory root resorption: a correlative radiographic and histological assessment. *Int Endod J.* 2000;33(6):483–93.
 81. Trope M, Yesilsoy C, Koren L, Moshonov J, Friedman S. Effect of different endodontic treatment protocols on periodontal repair and root resorption of replanted dog teeth. *J Endod.* 1992;18(10):492–6.
 82. DiAngelis AJ, Andreasen JO, Ebeleseder KA, Kenny DJ, Trope M, Sigurdsson A, et al. International Association of Dental Traumatology guidelines for the management of traumatic dental injuries: 1. Fractures and luxations of permanent teeth. *Dent Traumatol.* 2012;28(1):2–12.
 83. Pisano E, Cabras T, Montaldo C, Piras V, Inzitari R, Olmi C, et al. Peptides of human gingival crevicular fluid determined by HPLC-ESI-MS. *Eur J Oral Sci.* 2005;113(6):462–8.
 84. Guentsch A, Kramesberger M, Sroka A, Pfister W, Potempa J, Eick S. Comparison of Gingival Crevicular Fluid Severe Chronic Periodontitis. 2011;(July):1051–60.
 85. Lamster IB, Ahlo JK. Analysis of gingival crevicular fluid as applied to the diagnosis of oral and systemic diseases. *Ann N Y Acad Sci.* 2007;1098:216–29.
 86. Kapoor P, Kharbanda OP, Monga N, Miglani R, Kapila S. Effect of orthodontic forces on cytokine and receptor levels in gingival crevicular fluid: a systematic review. *Prog Orthod.* 2014;15:65.
 87. Kumar Aa, Saravanan K, Kumar Ss, Kohila K. Biomarkers in orthodontic tooth movement. *J Pharm Bioallied Sci.* 2015 Aug;7(6):325.
 88. Taba M, Kinney J, Kim AS, Giannobile W V. Diagnostic biomarkers for oral and periodontal diseases. *Dent Clin North Am.* 2005;49:551–71.
 89. Wöstmann B, Rehmann P, Balkenhol M. Influence of different retraction techniques on crevicular fluid flow. *Int J Prosthodont.* 21(3):215–6.
 90. Turk B, Salvesen GS. Regulating Cysteine Protease Activity : Essential Role of Protease Inhibi- tors as Guardians and Regulators. 2005;283–97.

91. Dutzan N, Vernal R, Hernandez M, Dezerega A, Rivera O, Silva N, et al. Levels of interferon-gamma and transcription factor T-bet in progressive periodontal lesions in patients with chronic periodontitis. *J Periodontol*. 2009;80(2):290–6.
92. Saito A, Horie M, Ejiri K, Aoki A, Katagiri S, Maekawa S, et al. MicroRNA profiling in gingival crevicular fluid of periodontitis—a pilot study. 2017;7:981–94.
93. Kamma J, Mombelli A, Tsinidou K, Vasdekis V, Giannopoulou C. Cytokines in gingival crevicular fluid of adolescents and young adults. *Oral Microbiol Immunol*. 2009;24(1):7–10.
94. Liu G, Qi M, Hutchinson MR, Yang G, Goldys EM. Recent advances in cytokine detection by immunosensing. *Biosens Bioelectron*. 2016;79:810–21.
95. Yadav A, Saini V, Arora S. MCP-1: Chemoattractant with a role beyond immunity: A review. *Clin Chim Acta*. 2010;411(21–22):1570–9.
96. Jun-Ming Zhang, MSc, MD1 and Jianxiong An, MSc M. NIH Public Access. 2007;45(2):27–37.
97. Abbas AKAHLP. *Inmunología Celular y Molecular*. Séptima ed. Elsevier; 2012. 1-82 p.
98. Murphy K, Travers P, Walport M. *Inmunobiología de Janeway*. Séptima ed. Mc Graw Hill; 2008. 799-801 p.
99. Zhang D, Goetz W, Braumann B, Bourauel C, Effect JA, Zhang D, et al. Effect of soluble receptors to interleukin-1 and tumor necrosis factor alpha on experimentally induced root resorption in rats. 2003;1:324–32.
100. A DC. impact of basic research on tomorrow ' s Proinflammatory Cytokines *. *Chest*. 2000;118(2):503–8.
101. Kabashima H, Y NKHIT, Iijima T, Maki K, Maeda K. Interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-4 in gingival crevicular fluid of patients with inflammatory periodontal disease. 1996;(30):449–56.
102. Roskamp L, Westphalen VPD, Carneiro E, Fariniuk LF, Silva Neto UX. The positive influence of atopy on the prognosis of avulsed and replanted teeth despite differences in post-trauma management. *J Endod*. 2011;37(4):463–5.
103. Yin JL, Shackel NA, Zekry A, McGuinness PH, Richards C, Van Der Putten K, et al. Real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) for measurement of cytokine and growth factor mRNA expression with fluorogenic probes or SYBR Green I. *Immunol Cell Biol*. 2001;79(3):213–21.
104. Costa J. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a tiempo real. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2004 Jan;22(5):299–305.
105. Pierce Benjamin. *Genética: Un enfoque conceptual* - Benjamin A. Pierce - Google Libros. 3rd ed. 2009. 517 p.
106. Amsen D, Visser KE, Town T. Approaches to Determine Expression of Inflammatory Cytokines. In: *Methods in molecular biology* (Clifton, NJ). 2009. p. 107–42.
107. *ELISA Protocolo Técnicas Cultek S. Fundamentos y Tipos de ELISAs*. 2006;

108. Gerard J. Tortora, Berdell R. Funke CL. Introducción a la microbiología. 9th ed. Madrid; 2007. 543-544 p.
109. Baker HN, Murphy R, Lopez E, Garcia C. Conversion of a Capture ELISA to a Luminex xMAP Assay using a Multiplex Antibody Screening Method. *J Vis Exp.* 2012 Jul;(65).
110. Alma Yolanda Arce Mendoza, Adrián Geovanni Rosas Taraco LERT. Prácticas de inmunología general aplicada y veterinaria. 2007. 161-163 p.
111. Bio-Rad Laboratories Inc. Flow Cytometry Basics Guide. 2015;48.
112. Kohlgraf KG, Ackermann AR, Burnell KK, Srikantha RN, Joly SA, Bartlett JA, et al. Quantitation of SPLUNC1 in saliva with an xMAP particle-based antibody capture and detection immunoassay. *Arch Oral Biol.* 2012;57(2):197–204.
113. Elshal MF, McCoy JP, Jr. Multiplex bead array assays: performance evaluation and comparison of sensitivity to ELISA. *Methods.* 2006 Apr;38(4):317–23.
114. Castillo L, MacCallum DM. Cytokine Measurement Using Cytometric Bead Arrays. In: *Methods in molecular biology* (Clifton, NJ). 2012. p. 425–34.