

Volumen 11 N° 22
Julio/Diciembre 2021

DOI: <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.14200553>

Acta Bioclínica



“La universalidad de la investigación reunida en Acta Bioclínica”
E. Solorzano.

Deposito Legal: PPI201102ME3815
ISSN: 2244-8136



TABLA DE CONTENIDOS

Artículo	Paginas
ARMONIZACIÓN FACIAL CAMBIOS IMPREVISTOS EN TIEMPOS DE PANDEMIA Eduvigis Solórzano	1-6
PROPIEDADES QUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS DE MEMBRANAS DE QUITOSANO/PROPÓLEO CON UTILIDAD PARA REGENERACIÓN TISULAR EN CAVIDAD BUCAL. Leo Marisen, Martínez Leonardo, Rincón Fernando y Ortiz, Reynaldo.	7-29
ESTUDIO ECOLÓGICO SOBRE CONTAGIOS, MORTALIDAD Y LETALIDAD POR COVID-19 EN EL MUNDO: CORRELACIÓN CON DIVERSOS INDICADORES ECONÓMICOS Y DE SALUD Carlo Eduardo Medina-Solís, Cesar Tadeo Hernández-Martínez, Sandra Isabel Jiménez-Gayosso, Salvador Eduardo Lucas-Rincón, Mario I. Ortiz, Miriam Alejandra Veras-Hernández, María de Lourdes Márquez-Corona, América Patricia Pontigo-Loyola, Martha Mendoza-Rodríguez, Leticia Ávila-Burgos.	30-68



ÍNDICE DE HÍGADO GRASO EN MUJERES ADULTAS DEL ESTADO CARABOBO, VENEZUELA. ASOCIACIÓN CON SÍNDROME METABÓLICO Y RIESGO CARDIOMETABÓLICO. Nelina Ruiz-Fernández, Doris Nobrega	69-93
NECROPSIA ORAL SU IMPORTANCIA E INSERCIÓN EN EL PROTOCOLO MÉDICO FORENSE DEL CADÁVER DENTRO DEL CAMPO DE LA ODONTOLOGÍA FORENSE Juan Carlos Araujo-Cuauro	94-113
RITIDOREVERSIÓN. PARÁMETROS DIAGNÓSTICOS COMO ESTIMADORES DEL TRATAMIENTO CUTÁNEO. Miller-Kobisher Blanca, Suárez-Vega Dubraska, Velazco de Maldonado Gladys Víctor Garcia-Guevara	114-138



<p>PERCEPCIÓN DE LA CAPACITACIÓN EN INVESTIGACIÓN DE LOS ESTUDIANTES DE LA FACULTAD DE ODONTOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA</p> <p>Yurilu González , Yuli González , Carlos Oberto , Yuli Moret .</p>	<p>139-161</p>
<p>CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LECHE PASTEURIZADA COMERCIALIZADA EN SUPERMERCADOS DE MÉRIDA- VENEZUELA</p> <p>Gutiérrez María Gabriela; Salah Tarek; Andueza Félix, Lugo Ángela</p>	<p>162-182</p>
<p>EFFECTOS DE LA MELATONINA SOBRE LOS NIVELES CREVICULARES DE ÓXIDO NÍTRICO EN PACIENTES CON PERIODONTITIS</p> <p>Yokasta Ramos, Ana Campos, Lisbeth Sosa, Karla Padrón Nuvia Sánchez, Anajulia González, Elix Izarra</p>	<p>183-204</p>
<p>CONCENTRACIONES INTRAERITROCITARIAS DE GLUTATIÓN REDUCIDO Y OXIDADO EN UNA MUESTRA DE SUJETOS SANOS DE LA HABANA.</p> <p>Gretel Riverón Forment, Jiovana Contreras Roura, Jacqueline Pérez R. Lilia C. Marín Padrón, Alina Concepción Álvarez, Yaíma Zúñiga Rosales</p>	<p>205-221</p>
<p>VPA TECHNIQUE: UNA PROPUESTA BIOFÍSICA DE TERAPIA INTRADÉRMICA.</p> <p>Víctor García-Guevara, Gladys Velazco</p>	<p>222-240</p>
<p>¿LA SENESCENCIA CELULAR PROMUEVE EL ENVEJECIMIENTO BIOLÓGICO? SCOPING REVIEW</p> <p>Irviana Molina , Eduvigis Solórzano</p>	<p>241-272</p>



TELEMEDICINA ORAL: EXPERIENCIA EN MEDICINA ESTOMATOLÓGICA DURANTE LA PANDEMIA POR COVID-19 Flores Mercede Guzmán Jorge, Sánchez Carlos, Surmay Valentina, Sifontes Andreina, Romero Yulis, Avilés Dayma, Villarroel-Dorrego Mariana.	273-295
NANOANTICUERPOS: PEQUEÑAS MOLÉCULAS, GRANDES POSIBILIDADES Adriana Pedrañez ¹ , Jesús Mosquera ² , Nelson Muñoz ³ , Diego Tene ⁴ .	296-319
MANEJO ESTOMATOLÓGICO DE PACIENTE CON SÍNDROME DE MOEBIUS CON CARIES TEMPRANA DE LA INFANCIA: REPORTE DE UN CASO Irais Duarte-González, Norma Leticia Robles-Bermeo, María Guadalupe Pedraza-Contreras, Claudia Centeno-Pedraza, Edith Lara-Carrillo, Luis Javier Guadarrama-Quiroz, Carlo Eduardo Medina-Solís.	320-335
EFICIENCIA DE LAS REHABILITACIONES PARCIALES FIJAS ADHESIVAS UTILIZANDO BIOGRAFT-G® PARA EL REMODELADO DEL REBORDE ALVEOLAR Yeleinys Fuentes Morejón, Ivonne de María Rivero Garcés, Mayra de la C Pérez Álvarez, Maydel Perez Fuentes, José Ángel Delgado García-Menocal, Jorge Alberto Rodríguez Hernández ¹ .	336-356



ACTA BIOCLINICA

Tabla de Contenidos

Volumen 11, N° 22, Julio/diciembre 2021

Depósito Legal: PPI201102ME3815

ISSN: 2244-8136

DOI: <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.14200553>



**ARMONIZACIÓN FACIAL
CAMBIOS IMPREVISTOS EN TIEMPOS DE PANDEMIA
Eduvigis Solórzano¹.**

- 1. Profesora Titular Facultad de Odontología, Universidad de Los Andes. PhD en Biología. Cátedra Libre de Estética Facial y Medicina Regenerativa, Facultad de Odontología, Universidad de Los Andes, Mérida-Venezuela.**

CORRESPONDENCIA: Calle 23 entre Avenidas 2 y 3, Edificio El Rectorado. Universidad de Los Andes Mérida-Venezuela.

Email: duvysolorzano@gmail.com

REGISTRO ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0147-0456>

La declaración de COVID-19 como Emergencia de Salud Global, ha obligado a la población mundial a permanecer en casa por más tiempo de lo que se hubiese deseado; a trasladar la mayor parte del trabajo, de los estudios y de la vida social a la unidad doméstica; y, sobre todo, concientizar un protocolo estricto de bioseguridad en la rutina diaria.

Sin embargo, lejos de lo esperado y luego del confinamiento estricto que vivieron

muchos países, -con su consecuente debacle económica-, la “nueva normalidad” ha condicionado una mayor demanda de procedimientos estéticos no quirúrgico (1). Esto probablemente debido a la novedosa tendencia en el área académica y laboral, como lo es, el Teletrabajo, adoptado como medida de seguridad y que ha incentivado el uso de aplicaciones como Skype, FaceTime, Google meet o Zoom para la realización de videoconferencias y diversos tipos de



reuniones, en las cuales el rostro es la única carta de presentación. Es por ello que fijar aún más la atención en el aspecto facial y evaluar, con mayor detenimiento sus imperfecciones y los estigmas del envejecimiento, se han convertido en una demanda importante en gran parte de la sociedad.

Según los expertos, el público tiene una actitud positiva hacia el rejuvenecimiento facial durante la pandemia. En particular, los procedimientos mínimamente invasivos destacan como una corriente principal en la encuesta twitter propuesta por Pang y col; donde la frecuencia dominante en la nube de palabras fue: "Botox", "Ácido hialurónico" y "PRP"(2).

El impacto social del COVID-19 ha sido tan determinante en el área de la armonización facial que incluso, la preferencia por los tratamientos mínimamente invasivos es definida por el uso de la anestesia local, considerada por

la población como de mayor seguridad en tiempos de pandemia (3).

En enero de 2021 se publicó el resultado de la reunión virtual con los miembros del Focus Group de la Academia Europea de Cirugía Plástica Facial (4), destinada a delinear el protocolo de seguridad de los procedimientos estéticos faciales no quirúrgicos, con el fin de proteger al personal de la clínica y a los pacientes de infección por SARS-CoV-2. Las pautas de consenso se precisaron para tres niveles: precauciones antes de visitar la clínica, precauciones durante la visita a la clínica y precauciones después de la visita a la clínica. Lo cual puede ayudar a diseñar el marco conceptual para las pautas de seguridad de COVID-19 para las prácticas estéticas en todo el mundo.

Pero, más allá de todo lo relacionado con las preferencias de los usuarios y las medidas de seguridad, vamos al incierto camino que se le presenta al armonizador facial en la atención del paciente Post-COVID-19 o inmunizado. La evidencia



científica precisa que la proteína de pico viral de 1273 aminoácidos de largo de este virus se dirige a la enzima convertidora de angiotensina 2 para el anclaje y la invasión intracelular (5), y que se expresa de manera ubicua en todos los tejidos del cuerpo. La presentación clínica y las manifestaciones en distintos sistemas de tejidos orgánicos del cuerpo varían enormemente y aún están dilucidándose, por lo cual poco sabemos de la respuesta a diversos biomateriales, principios activos y medicamentos utilizados en la práctica de la armonización facial.

Munavalli y col (6) reportan 4 casos de reacciones inflamatorias retardadas a rellenos dérmicos de ácido hialurónico después de la exposición a la proteína de pico COVID-19, presentada en diferentes escenarios, que incluyen: un caso después de una infección por COVID-19 adquirida en la comunidad, un caso que ocurrió en un sujeto de estudio en el ensayo clínico de fase III mRNA-1273 disponible como Moderna, Cambridge MA, un caso

ocurrido después de la primera dosis de la misma vacuna mRNA-1273, y el último caso ocurrió después de la segunda dosis de la vacuna BNT162b2 (Pfizer, Nueva York, NY). Los cuales se manifestaron con eritema, nódulos dolorosos, induración y edema, los cuales fueron tratados con diversos protocolos que incluían corticoesteroides orales.

En este mismo sentido y en relación a la jornada de inmunización mundial que se ha emprendido con una diversidad de vacunas que ofrece el mercado, se presentan otros 4 casos de reacción inflamatoria retardada al relleno de ácido hialurónico dérmico facial, después de la vacunación contra COVID-19 (7). Todas las reacciones inflamatorias se produjeron después de que se hubiera aplicado un relleno de ácido hialurónico, con más de 1 año antes de la vacunación con Pfizer BNT162b2 o Moderna COVID-19 mRNA-1273. Los pacientes respondieron rápidamente a la terapia con una dosis baja de lisinopril oral, un inhibidor de la enzima



convertidora de angiotensina ECA-I, que disminuye la reacción inflamatoria y el edema relacionados con el relleno cutáneo; sin embargo, los autores sugieren que podría remitir sin tratamiento en casos leves a moderado y que el uso de antihistamínicos sería de pobre respuesta.

Por otra parte, la evidencia clínica disponible, sugiere que la infección por la enfermedad de COVID-19 está asociada con mialgia, dolor e hiperalgesia generalizada. El virus del SARS-CoV-2 puede provocar una fuerte respuesta inflamatoria a través de la elevación de los niveles de citocinas, incluidas IL-6, IL-10 y TNF- α .² En particular, la IL-6 es una citocina pro-inflamatoria importante que interviene en el dolor muscular; pero, además, esta descrito que no solo produce hiperalgesia muscular aguda, sino que también induce hiperalgesia latente crónica, lo que señala un papel crucial no solo en el dolor muscular agudo sino también en el crónico (8).

Akdogan N. (9) reporta un caso de paciente femenina de 55 años de edad que acude a la consulta para su tratamiento de rutina con Toxina Botulínica (6 meses después de su última aplicación), quien reveló que se recuperaba de la infección por COVID-19 una semana antes de la consulta. La paciente experimentó un intenso dolor durante la administración de la toxina botulínica en el músculo corrugador izquierdo, el cual minutos después el dolor mejoró ligeramente, la segunda inyección en el musculo corrugador derecho produjo un dolor de mayor intensidad, la paciente afirmó que no había experimentado tanto dolor en su vida y que no podía continuar con el tratamiento. Por lo tanto, este fue interrumpido.

La práctica clínica en tiempos de pandemia y post-pandemia abre una nueva visión de los tratamientos faciales, el camino es incierto y la documentación de los hallazgos será lo que guie en el buen proceder en el ejercicio de la profesión.



Una exhaustiva historia clínica con preguntas referentes a la posible infección e inmunización contra el COVID-19 se hace fundamental; asimismo, aunque el tiempo para realizar algún tratamiento en armonización facial no es seguro ni está establecido, se hace prudente esperar un período de al menos 3 meses antes cualquier procedimiento en pacientes que han adquirido la enfermedad, para prevenir posibles efectos secundarios indeseables.

REFERENCIAS

1. Dhanda AK, Leverant E, Leshchuk K, Paskhover B. A Google Trends Analysis of Facial Plastic Surgery Interest During the COVID-19 Pandemic. *Aesthetic Plast Surg.* 2020 Aug; 44(4):1378-1380. doi: 10.1007/s00266-020-01903-y.
2. Pang R, Wei Z, Liu W, Chen Z, Cheng X, Zhang H, Li G, Liu L. Influence of the pandemic dissemination of COVID-19 on facial rejuvenation: A survey of Twitter. *J Cosmet Dermatol.* 2020 Nov; 19(11):2778-2784. doi: 10.1111/jocd.13688.
3. Ors S. High Superficial Musculoaponeurotic System Lamellar Facelift Under Local Anesthesia. *J Craniofac Surg.* 2021 Jan 25. doi: 10.1097/SCS.00000000000007466.
4. Bertossi D, Mohsahebi A, Philipp-Dormston WD, Heidenrich I, Pirayesh A, D'Souza A, Saleh H, Yavuzer R, Fakih N, Vent J, Rahman E, Kapoor KM. Safety guidelines for nonsurgical facial procedures during COVID-19 outbreak. *J Cosmet Dermatol.* 2020 Aug; 19(8):1829-1837. doi: 10.1111/jocd.13530.
5. Verdecchia P, Cavallini C, Spanevello A, Angeli F. The pivotal link between ACE2 deficiency and SARS-CoV-2 infection. *Eur J Intern Med.* 2020 Jun; 76:14-20. doi: 10.1016/j.ejim.2020.04.037
6. Munavalli GG, Guthridge R, Knutsen-Larson S, Brodsky A, Matthew E, Landau M. "COVID-19/SARS-CoV-2 virus spike protein-related delayed inflammatory reaction to hyaluronic acid dermal fillers: a challenging clinical conundrum in



diagnosis and treatment". Arch Dermatol Res. 2021 Feb 9:1-15. doi: 10.1007/s00403-021-02190-6.

7. Munavalli GG, Knutsen-Larson S, Lupo MP, Geronemus RG. Oral angiotensin-converting enzyme inhibitors for treatment of delayed inflammatory reaction to dermal hyaluronic acid fillers following COVID-19 vaccination-a model for inhibition of angiotensin II-induced cutaneous inflammation. JAAD Case Rep. 2021 Apr; 10:63-68. doi: 10.1016/j.jdcr.2021.02.018.

8. El-Tallawy SN, Nalamasu R, Pergolizzi JV, Gharibo C. Pain Management During the COVID-19 Pandemic. Pain Ther. 2020 Dec;9(2):453-466. doi: 10.1007/s40122-020-00190-4.

9. Akdogan N. Severe hyperalgesia and pain during botulinum toxin injection avoiding application in a patient 1 week after COVID-19 infection. J Cosmet Dermatol. 2021 Mar; 20(3):755-756. doi: 10.1111/jocd.13897.



**PROPIEDADES QUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS DE MEMBRANAS DE
QUITOSANO/PROPÓLEO CON UTILIDAD PARA REGENERACIÓN TISULAR
EN CAVIDAD BUCAL.**

Leo, Marisen¹., Martínez, Leonardo¹., Rincón, Fernando¹ y Ortiz, Reynaldo².

- 1- Cátedra de Anatomía Humana, Departamento de Biopatología. Facultad de Odontología. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.**
- 2- Laboratorio de Electroquímica. Facultad de Ciencias. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.**

CORRESPONDENCIA: Avenida 3, Independencia. Edificio el Rectorado. Catedra de Anatomía Humana.

Email: marisenleo@gmail.com

RESUMEN

Ante procedimientos que involucren lesiones tisulares en la cavidad bucal, se generarán reacciones inflamatorias, por ello se han incorporado técnicas de regeneración tisular guiada y expansión de tejidos blandos, a fin de restaurar la forma y la función del tejido afectado. Con ese objetivo, en este trabajo se prepararon membranas de quitosano y propóleo para analizar algunas de sus propiedades químicas y microbiológicas con miras a su posible



utilidad en la regeneración de tejidos blandos en la cavidad bucal. Se realizó un estudio con nivel descriptivo y diseño pre-experimental, con una muestra de 9 fracciones de 3 membranas de quitosano/propóleo. Se determinó el pKa de las membranas de quitosano mediante curvas de titulación potenciométrica. Se realizaron estudios de liberación controlada de propóleo mediante la elaboración de curvas de calibración espectrofotométrica y se realizó un estudio microbiológico de susceptibilidad microbiana de *Pseudomona aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae*, frente a las membranas. Se encontró que la obtención de las membranas de quitosano/propóleo, resulta de un proceso simple, estándar, reproducible y accesible económicamente, por lo cual podría ser una alternativa viable en la práctica clínica, en vista de la propiedad mucoadhesiva, efectivo proceso de liberación de propóleo controlada y efectividad antimicrobiana frente a las cepas estudiadas.

PALABRAS CLAVE: Regeneración tisular guiada, expansión de tejidos blandos, quitosano, propóleo.

**CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL PROPERTIES OF CHITOSAN /
PROPOLIS MEMBRANES WITH UTILITY FOR TISSUE REGENERATION IN
ORAL CAVITY.**

ABSTRACT

In the event of procedures involving tissue lesions in the oral cavity, inflammatory reactions will be generated; therefore, guided tissue regeneration and soft tissue expansion techniques have been incorporated to restore shape and function of the affected tissue. With this aim, in this work, chitosan and propolis membranes were prepared to analyze some of their chemical



and microbiological properties, for their possible usefulness in the regeneration of soft tissues in the oral cavity. Study with a descriptive level and pre-experimental design was performed, with a sample of 9 fractions of 3 chitosan / propolis membranes. The pKa of the chitosan membranes was determined by potentiometric titration curves. Controlled release of propolis studies were carried out by means of spectrophotometric calibration curves, and finally a microbiological study of the microbial susceptibility from membranes front *Pseudomona aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae* was performed. Preparation of chitosan/propolis membranes was found to result from a simple, standard, reproducible and economically accessible process, making it a viable alternative in clinical practice, due to of mucoadhesive properties, controlled propolis release and antimicrobial effectiveness front to the studied strains.

KEYWORDS: Guided tissue regeneration, soft tissue expansion, chitosan, propolis.

INTRODUCCIÓN

El avance de las especialidades odontológicas, trae consigo el desarrollo de nuevas técnicas y el empleo de nuevos materiales que han ayudado a incrementar el conocimiento científico y a mejorar el diagnóstico y plan de tratamiento en el área de la salud bucal. Ante los procedimientos que involucran lesiones tisulares en cavidad bucal, los tejidos

blandos siempre reaccionan con inflamación (entre otros signos y síntomas), que pueden exacerbarse por factores propios de la técnica quirúrgica o del paciente (1, 2).

Razón por la cual, se han incorporado técnicas que involucran los principios de regeneración tisular guiada (RTG) y expansión de tejidos blandos, buscando restaurar forma y función, devolviendo la



arquitectura del tejido lesionado, favoreciendo el cierre oportuno de las heridas quirúrgicas; resultando de estas técnicas el empleo de biomateriales que promueven un enfoque biológico (3, 4).

Entre los enfoques biológicos, se propone el uso de biopolímeros naturales, siendo el quitosano uno de ellos. El quitosano, es un biopolímero, biocompatible, biodegradable y no tóxico, que se obtiene del exoesqueleto de crustáceos a partir de la desacetilación de la quitina (5) y es empleado en odontología en la curación de heridas (2, 6-9). Presenta propiedades hemostáticas, aumenta la actividad osteoblástica, por lo que ha sido utilizado en regeneración ósea guiada y gracias a la buena adaptación celular que posee también se ha empleado en la regeneración tisular guiada (2, 10).

El propóleo, material pegajoso de color oscuro que recolectan las abejas, es otro elemento terapéutico propuesto, que posee propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias, antitumorales y

antioxidantes (11-13), con grandes potencialidades para el tratamiento como anticaries (14-16), antimicótico (16), antiviral, analgésico (17), anestésico (18), sedante (19), e inmunomodulador (20, 21). En odontología, son diversas las investigaciones que ponen de manifiesto las propiedades del quitosano (2) y del propóleo (11), en el caso del quitosano se demostró a través de la evidencia clínica la regeneración osteomucosa producida por membrana de quitosano (9), la efectividad de los liposomas de quitosano en la regeneración ósea alveolar postextracción dental (2), de las esponjas de quitosano como materiales de andamiaje para crecimiento osteoblástico (22) y el quitosano como coadyuvante en el tratamiento de la periodontitis crónica (23).

Por otro lado, sobre el propóleo, se evidencia que tiene acción antimicrobiana y de medicación intraconducto a corto plazo frente a cepas estandarizadas de *E. faecalis* (24). Pudiendo ser usado con éxito



en el tratamiento de la enfermedad periodontal, como medio de conservación, en epitelización de heridas y aceleración de la cicatrización (25), en pacientes con alveolitis (26), contra algunas bacterias anaerobias estandarizadas que causan infecciones en cavidad bucal (27). En conjunto el quitosano y el propóleo se han empleado como barniz de liberación sostenida a base de quitosano, para prevención de la caries (28), así como en la elaboración de un gel de quitosano/propóleo para comparar la eficacia de este sobre las cepas *Enterococcus faecalis* (29).

A pesar de los beneficios antes expuestos de ambos biomateriales, no se encontraron estudios previos acerca de propiedades químicas de membranas de quitosano/propóleo, propiedades tales como: pKa, condicionante de la capacidad bioadhesiva de las membranas y velocidad de liberación de propóleo desde la membrana de quitosano, propiedad relevante, pues al implementar tecnologías

de liberación controlada se presentan ventajas de dosificación con respecto a otras presentaciones.

En vista de los pocos estudios en relación a ésta temática, en busca de proporcionar a la práctica clínica una alternativa simple, estándar y reproducible que acelere la cicatrización y potencie la actividad antimicrobiana para la regeneración de tejidos blandos, se propone como objetivo de este trabajo analizar las propiedades químicas de las membranas de quitosano/propóleo de posible utilidad en la regeneración de tejidos blandos en cavidad bucal.

METODOLOGÍA

Se realizó un estudio de nivel descriptivo, bajo un diseño pre-experimental. Las variables fueron el valor pKa cuyo indicador estuvo representado por los valores arrojados por la titulación ácido-base, menor a 6 fue inadecuado y mayor o igual a 6-6,5 adecuado, velocidad de liberación de propóleo de las membranas en agua destilada, variable que tuvo como



indicador la respuesta espectroscópica de los componentes del propóleo, identificando la presencia de liberación sostenida y proporcional en el tiempo, y susceptibilidad de *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 y *Klebsiella pneumoniae* ATCC 23357 frente a las membranas de quitosano/propóleo, variable que tuvo como indicador la presencia o ausencia de halos de inhibición.

Los procedimientos químicos para la obtención del compuesto de quitosano/propóleo, se llevaron a cabo a través del procedimiento estandarizado del Centro de Investigaciones Odontológicas de la Facultad de Odontología de la Universidad de Los Andes (ULA), (4). Para ello se preparó una solución de quitosano pesando 5 gr quitosano, Quitosan®, GUINAMA certificado para uso médico, colocándolo en 2 ml de ácido acético al 99 %, y luego enrasando en un matraz aforado de 100 ml y dejándolo en agitación constante por 12 horas

obteniendo un gel de quitosano ácido. El volumen total de la solución de quitosano fue doblemente filtrado para eliminar las impurezas que pudieran contaminar la solución.

Luego de obtenida la solución ácida de quitosano al 5% se procedió a dispersar la solución ácida de quitosano en cápsulas de plástico. Se realizaron una serie de ensayos en la elaboración de las membranas a fin de escoger las menos quebradizas y de fácil manipulación. De esta forma se optimizó el procedimiento para preparar 3 membranas de quitosano/propóleo, agregando 2 cc de quitosano como medida estándar para todas las membranas y variando solo la cantidad de propóleo al 4%, así la membrana nro 1, fue elaborada con 1 cc de propóleo, la nro 2 con 1,5 cc y la nro 3 con 2 cc, introduciéndose en una estufa de calor seco a 40° C durante 16 horas con la finalidad de evaporar completamente la fase líquida, obteniendo la deshidratación del compuesto, en una fina película. Las membranas en envases



plásticos fueron sometidas finalmente a una esterilización con luz ultravioleta, en un equipo Beautytech®. Las membranas estudiadas representaron 3 grupos (P1, P2, P3), cada membrana, representante de cada grupo, se fraccionó para obtener 9 muestras (P1a, P1b, P1c, P2a, P2b, P2c, P3a, P3b y P3c), con el fin de comprobar la homogeneidad de las mismas.

Una vez elaboradas las membranas de quitosano/propóleo, se determinó el pKa de la solución ácida de quitosano, empleando el método potenciométrico, titulación ácido-base. El procedimiento para calcular el pKa de las películas, se basó en disolver la película en la cantidad mínima de HCl diluido y luego realizar una curva de titulación con una solución de NaOH 0,05 M, que en éste caso se realizó utilizando un pHmetro SperScientific, modelo Benchtop Water Quality Meter 860033.

Como una primera aproximación para los estudios de liberación de propóleo *in vitro*, se escogió como medio de liberación agua

destilada, por tratarse del medio que menos complicaciones introduce al sistema. Inicialmente, se realizó un espectro patrón de una solución 0,04 % de propóleo, para obtener una señal que identifique su liberación de las membranas en agua destilada, empleando para este y todos los experimentos, un espectrofotómetro Marca Perkin-Elmer modelo lambda 25 de doble haz, acoplado a un sistema computarizado y controlado mediante el software *UV WinLab* y celdas de cuarzo de 1 mm de camino óptico.

Posteriormente las distintas series de cortes de las películas, se sumergieron en agua destilada en la parte inferior de la cubeta de muestreo del espectrofotómetro, para permitir que el propóleo fluyera libremente de la membrana a la fase líquida y así ir tomando espectros UV-visible a distintos tiempos, para obtener el valor de absorbancia a 280 nm que es directamente proporcional a la concentración de propóleo y así

determinar si se produce y como es la naturaleza del proceso de liberación.

Por último, se analizó el componente microbiológico, a través de la determinación de la susceptibilidad de *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 y *Klebsiella pneumoniae* ATCC 23357 frente a membranas de quitosano-propóleo, empleando aquella membrana

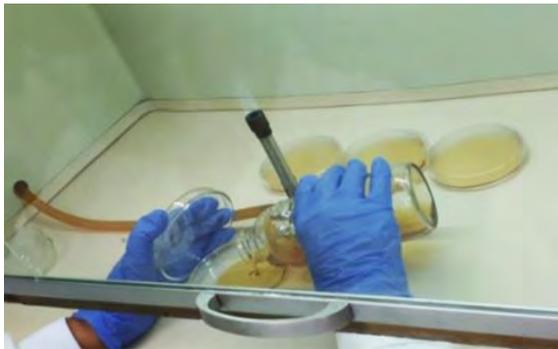


Figura 1. Preparación de medios de cultivo.
Fuente: Propia.

con mayor cantidad de propóleo (0,5 ml) que mantuviera las mejores propiedades físicas, a fin de alcanzar una más rápida concentración de propóleo en la totalidad del medio de cultivo. Este estudio fue realizado a través de un método de difusión en agar, mediante el uso de la técnica Kirby-Bauer, prueba que permite medir *in vitro* la susceptibilidad de patógenos y fitopatógenos, frente a una sustancia desconocida. Dicha prueba para fines del presente estudio fue modificada al emplear membranas cortadas de forma rectangular. Para la realización de ésta prueba, se prepararon los medios de cultivo Agar Muller Hinton, tal como se observa en la figura 1.

Posteriormente se inoculó al 2% el medio, fundido y temperado a 45° C con una suspensión 0,5 McFarland de la bacteria patógena a evaluar y se dejó solidificar.

Por último, dos membranas con una concentración de 0,5 ml fueron recortadas

con forma rectangular en tres porciones cada una, y colocadas sobre los medios preparados, como se puede observar en la figura 2. Al colocar las porciones de membrana en el agar se hizo ligera presión para garantizar un contacto adecuado. Estas se ubicaron a 15 mm o más del borde de la caja Petri a fin de que no se produjera ninguna interferencia entre los halos de inhibición, colocando solo tres membranas por caja dejando incubarse a 37°C por 24 horas para realizar después del periodo de incubación la lectura de los halos de inhibición al reverso de la caja Petri

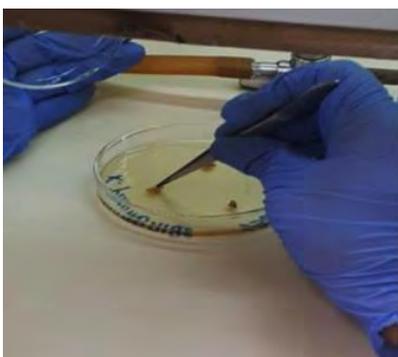


Figura 2. Colocación de membranas en medios de cultivo.
Fuente: Propia.



Figura 3. Observación de halos de inhibición con el contador de colonias.
Fuente: Propia.

observando los resultados para su posterior interpretación (figura 3). En el caso de presentarse crecimientos totalmente asimétricos éstos fueron excluidos de la medición.

RESULTADOS

Determinación potenciométrica del pKa

En todas las muestras estudiadas la presencia de propóleo en las películas no afectó la forma de la curva y los valores de pKa obtenidos en ambos casos fueron los mismos, lo cual implica que el propóleo en

estas condiciones carece de actividad ácido-base y no influye sobre el valor del pKa del quitosano, esto puede evidenciarse en la curva de titulación potenciométrica que se muestra en la figura 4.

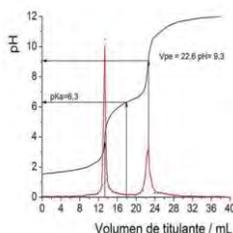


Figura 4. Curva de titulación potenciométrica de muestra representativa de los grupos de películas de quitosano en estudio, una vez disuelta en HCl.

El volumen gastado de NaOH entre el primer punto y el segundo punto de inflexión, es la cantidad de NaOH que se requiere para deprotonar todo el quitosano, la mitad de ese volumen (17,9 mL de NaOH), es el volumen para deprotonar la mitad del quitosano, por lo tanto en este el $\text{pH} = \text{pKa} = 6,3$. Este mismo procedimiento se siguió para las películas

de quitosano y quitosano/propóleo obteniéndose con mayor frecuencia un valor de pKa de $6,3 \pm 1$.

Estudio de liberación de propóleo

En la figura 5A se muestra el espectro UV-visible obtenido para una solución muy diluida de propóleo al 0,04 % en agua destilada, en este se puede observar un máximo de absorbancia a 280 nm, el cual se puede atribuir a uno o varios de los componentes de la compleja mezcla de sustancias los cuales conforman al propóleo. En relación al proceso de liberación de propóleo de las membranas en agua destilada, se evidenció para el espectro obtenido de una película de quitosano/propóleo inmersa en agua destilada, un pico de absorbancia a 280 nm, el cual se incrementa a medida que se adquieren espectros a distintos tiempos (Figuras 5B y 5C), demostrando que existe

desprendimiento del propóleo en el tiempo.

Realizando un estudio detallado a distintos tiempos de liberación para las películas escogidas, se encontró una respuesta lineal de absorbancia en el tiempo, lo que implica que la concentración en el seno de la solución aumenta gradualmente, liberándose aproximadamente la misma cantidad de fármaco por unidad de tiempo, observándose además que al aumentar la cantidad de propóleo de la película, la

velocidad de liberación también aumenta en forma proporcional, pues la pendiente de la recta aumenta, tal como se evidencia en la figura 6.

Los resultados obtenidos para comprobar si las películas de quitosano/propóleo eran homogéneas, demuestran que la pendiente de la curva obtenida para cada porción no difiere de forma significativa, lo cual implica que la composición de las mismas es bastante homogénea (figura 6).

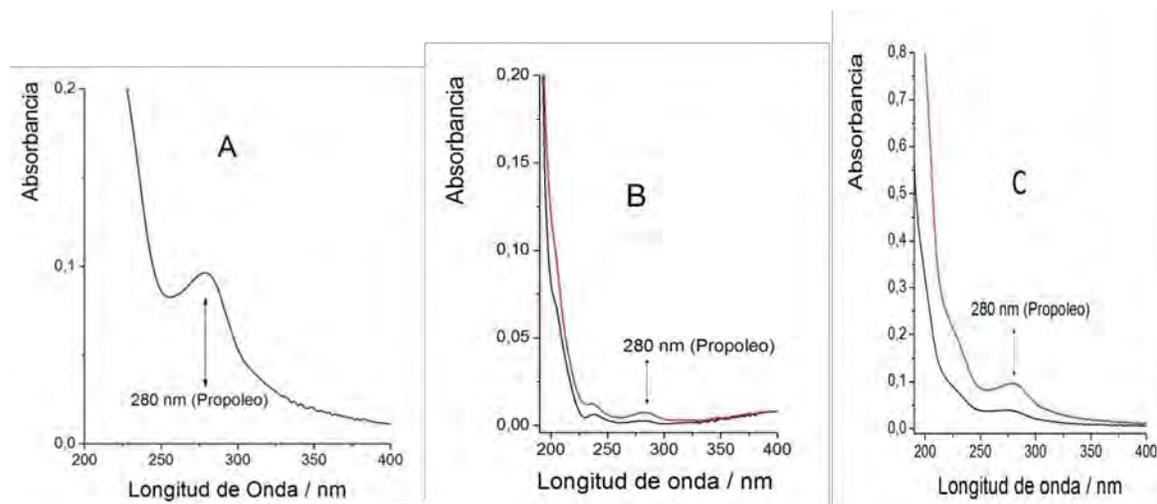


Figura 5. Respuesta espectrofotométrica del propóleo y las películas de quitosano/propóleo a distintos tiempos de inmersión en agua destilada A) Solución diluida de propóleo, B) película de quitosano/propóleo después de 5 y 60 segundos de inmersión, C) película de quitosano/propóleo después de 60 min y 24 horas de inmersión.

Componente Microbiológico

En relación a los resultados obtenidos para determinar la susceptibilidad de *Pseudomona aeruginosa* ATCC27853 y *Klebsiella pneumoniae* ATCC23357 frente a las membranas de quitosano-propóleo con concentración de 0,5 ml, se evidenció susceptibilidad de las cepas bacterianas empleadas en la prueba por triplicado realizada para cada bacteria, pues se observaron zonas de inhibición

(espacios en los que no se produjo crecimiento bacteriano), alrededor de cada porción rectangular de las membranas de quitosano/propóleo colocadas en los medios de cultivo (figura 7).

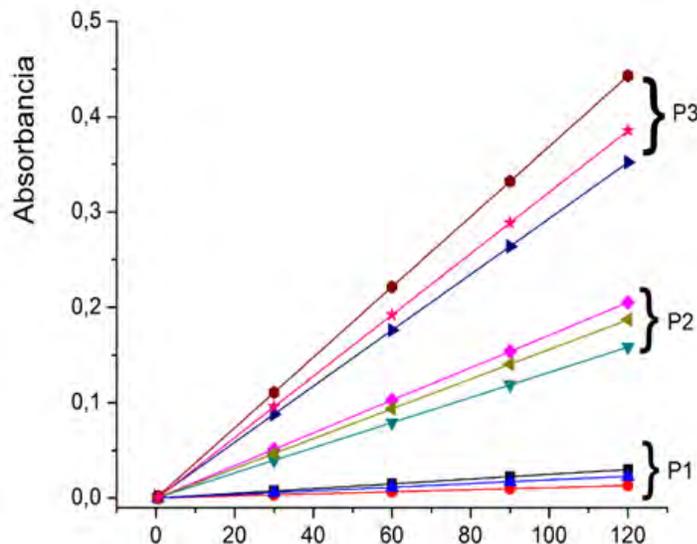


Figura 6. Curvas de concentración de grupos estudiados P1 (0,3 ml), P2 (0,4 ml) y P3 (0,5 ml), en función de intervalos de tiempo constantes.



Figura 7. Zonas de inhibición en el crecimiento bacteriano de *P. aeruginosa* (izquierda) y *K. pneumoniae* (derecha).

Fuente: Propia.

DISCUSIÓN

En relación a los resultados evidenciados en la determinación del valor pKa, se demuestra en concordancia con Cortés y Alvares, 2008 (30), que la presencia de propóleo en las películas no afecta la forma de la curva ni los valores de pKa que caracterizan los grupos aminos del quitosano, es decir, se mantienen

invariables las características y por tanto propiedades físicas del mismo.

Igualmente, se refleja que las membranas de quitosano/propóleo poseen un potencial de disociación (pKa) que oscila entre 6,2 y 6,5, en concordancia con los estudios de Barrios, 2012 (31), James, 2011 (32), Duarte et al, 2016 (33) y Suárez *et al*, 2011 (9), representando éstos, valores positivos, que según la literatura clínicamente justifican una propiedad mucoadhesiva de los compuestos estudiados a membranas corporales que poseen carga negativa,



haciéndolos biomateriales ideales para transporte de drogas a través de las superficies epiteliales (30),(34).

Con respecto a la identificación de la velocidad de liberación de propóleo de las membranas en agua destilada, así como la homogeneidad en su composición, a través del uso de espectroscopia UV-visible, se observa que el desprendimiento del propóleo en el tiempo es lineal, siendo éste un mecanismo de liberación ideal, cuando se quiere conseguir una acción farmacológica prolongada, ya que al implementar tecnologías de liberación controlada se presentan ventajas de dosificación con respecto a otras presentaciones, entre ellas se encuentran la disminución de los efectos colaterales secundarios, el tiempo de actividad prolongado, y el brindar protección a fármacos sensibles contra los ataques enzimáticos o degradación ácida debido al pH local, todo lo expuesto constatado por

Leonardi *et al*, 2015 (35) y por Arias *et al*, 2012 (36).

Dadas las propiedades del quitosano como polímero bioadhesivo, además de incrementador de la absorción, se evidencia que promueve el paso de fármacos a través de la barrera mucosa, este se convierte en un potencial sistema para aplicaciones en liberación controlada, prolongando el tiempo de contacto en el sitio de absorción, sosteniendo el perfil de liberación y mejorando la biodisponibilidad de fármacos ello en concordancia con Barrios, 2012 (31), Leonardi *et al*, 2015 (35), Arias *et al*, 2012 (36) y Harris, 2010 (37).

En relación al componente microbiológico, destinado a la determinación de la susceptibilidad de *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 y *Klebsiella pneumoniae* ATCC 23357 frente a membranas de quitosano-propóleo, los resultados demostraron



susceptibilidad de ambos microorganismos en presencia de la membrana elaborada, visto a través de la presencia de halos de inhibición. Tal como se evidencia en los estudios de Leo *et al*, 2014 (1), Partir *et al*, 2007 (38), Cortés *et al*, 2008 (30), y del propóleo en correspondencia con Premoli *et al*, 2010 (11), Gil *et al*, 2010 (39) y Carrillo *et al*, 2011 (40).

CONCLUSION

La obtención en laboratorio de membranas de quitosano/propóleo, resulta de un proceso simple, estándar, reproducible y accesible económicamente, por lo cual podría ser considerado como una alternativa viable en la práctica clínica. En relación al componente químico estudiado en la presente investigación los resultados sobre determinación de pKa de membranas de quitosano/propóleo, demuestran que la presencia de propóleo en las películas no

afecta la forma de la curva y los valores de pKa de los grupos aminos del quitosano, por lo cual las membranas conservan las propiedades mucoadhesivas que caracterizan al quitosano (30), manteniendo esa capacidad de liberación de fármacos.

Con respecto a la velocidad de liberación de propóleo de las membranas en agua destilada, objetivo cumplido mediante espectroscopia UV-visible, se evidencia un desprendimiento del propóleo en el tiempo es lineal, lo que implica que la concentración en el seno de la solución aumenta gradualmente, siendo ésta una liberación controlada, prolongando el tiempo de contacto en el sitio de absorción, sosteniendo el perfil de liberación y mejorando la biodisponibilidad (31). Sin embargo, el valor de velocidad no pudo ser calculado por el desconocimiento de la cantidad exacta de cada componente del propóleo por ser este una sustancia natural con gran diversidad de componentes.



El análisis del componente microbiológico, dado a través de la determinación de la susceptibilidad de *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 y *Klebsiella pneumoniae* ATCC 23357 frente a membranas de quitosano-propóleo, empleando la prueba de Kirby-Bauer, refleja un resultado positivo evidenciado por la presencia de halos de inhibición en ambos cultivos a las 24 horas de ser incubados.

AGRADECIMIENTO

Los autores quieren expresar su mayor agradecimiento al Laboratorio de Electroquímica del Departamento de Química de la Facultad de Ciencias y Laboratorio de Diagnóstico e Investigaciones "Prof. Celina Araujo de Pérez" Departamento de Microbiología y Parasitología Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la ilustre Universidad de Los Andes, por haber permitido realizar

gran parte de este trabajo en sus instalaciones, así como por todo el apoyo suministrado.

DECLARACION DE CONFLICTOS DE INTERES

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses con respecto a la publicación de este artículo.

REFERENCIA

1. Leo M, Parra S, Peña M, Martínez L, Oballos M. Biomateriales Para La Regeneración Del Reborde Alveolar: Revisión. Acta Bioclínica [Internet]. 2014;77–100. Available from: <http://erevistas.saber.ula.ve/index.php/actabioclinica/article/view/4965/4787>
2. Quiroz S, Suárez D, Mantilla A, Velazco G, González A, J. M. Efectividad de los liposomas de



- quitosano en la regeneración ósea alveolar de terceros molares mandibulares retenidos. Revista Europea de Odontostomatología. Rev Eur Odontostomatol [Internet]. 2016;14. Available from: <http://www.redoe.com/ver.php?id=237>
3. Bascones A, Ibero I, Castro J, Lizardo P. Revisión de los estudios comparativos entre regeneración tisular guiada V cirugía mucogingival en el tratamiento de recesiones gingivales. Av en Periodoncia e Implantol Oral [Internet]. 2000;12(1):9–27. Available from: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1699-65852000000100002
4. Velazco G, Gonzáles A, Ortíz R, Yépez J. Membranas tridimensionales de hidroxiapatita y quitosano como terapéutica en regeneración ósea guiada. Estudio de caso. Int Association Dent Res [Internet]. 2014;2(1):27–34. Available from: <http://erevistas.saber.ula.ve/index.php/rvio/article/view/4838>
5. Suárez D, García C, Velazco G, Ortiz R, González A. Biogel de Quitosano a partir de la desacetilación termoalcalina de conchas de camarón propuesta para el tratamiento de la estomatitis subprotésica. Rev Odontológica los Andes [Internet]. 2009;4(2):5–12. Available from: <http://erevistas.saber.ula.ve/index.http://www.actaodontologica.com/ediciones/2014/2/art-2/odontoula/article/view/7199/7071>
6. Rodríguez A, Ramírez M, Rivero D, Bosquez E, Barrera L, Bautista S. Propiedades Químico-Estructurales Y Actividad Biológica De La Quitosana En



- Microorganismos Fitopatógenos. Rev Chapingo Ser Hortic [Internet]. 2009;15(3):307–17. Available from: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1027-152X2009000500012
7. Ying H, Wang W, Tang X, Liu X. Osteogenic induction of bone marrow mesenchymal cells on electrospun polycaprolactone/chitosan nanofibrous membrane. Dent Mater J [Internet]. 2017; Available from: https://www.jstage.jst.go.jp/article/dmj/advpub/0/advpub_2016-203/_article
8. Gómez C, Padilla M, Martínez V, Vaca F. Quitosana: alternativa terapéutica. Rev Mex Periodontol [Internet]. 2013;4(3):120–2. Available from: <http://www.medigraphic.com/pdfs/periodontologia/mp-2013/mp133e.pdf>
9. Suárez D, García C, Yépez J, González A, Velazco G. Regeneración Osteomucosa con Membrana de Quitosano: Reporte de un caso. Rev Eur Odontoestomatol [Internet]. 2011;18:33–9. Available from: <http://www.redoe.com/ver.php?id=122>
10. Wang M, Roy AK, Webster T. Development of Chitosan/Poly(Vinyl Alcohol) Electrospun Nanofibers for Infection Related Wound Healing. Front Physiol [Internet]. 2017;7(January):2016–8. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fphys.2016.00683/full>
11. Premoli G, Laguado P, Díaz N, Romero C, Villareal J, González A. Uso del propóleo en Odontología. Acta Odontológica Venez



- [Internet]. 2010;48(2):1–13. Available from: <http://www.actaodontologica.com/ediciones/2010/2/art22.asp>
12. Vagish L. Propolis in dentistry and oral cancer management. *N Am J Med Sci* [Internet]. 2014;6(6):11–20. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4083525/>
13. Castaldo S, Capasso F. Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia* [Internet]. 2002;73(SUPPL. 1):1–6. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12495704>
14. Libério S, Pereira A, Araújo M, Dutra R, Nascimento F, Monteiro-Neto V, et al. The potential use of propolis as a cariostatic agent and its actions on mutans group streptococci. *J Ethnopharmacol* [Internet]. 2009;125(1):1–9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19422903>
15. Reyes V. Actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de propóleo peruano sobre cultivos de bacterias anaerobias frecuentes en pacientes con periodontitis crónica [Internet]. Universidad Mayor de San Marcos.; 2010. Available from: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/3273/1/Reyes_cc.pdf
16. Kukreja B, Dodwad V. Propolis mouthwash: A new beginning. *J Indian Soc Periodontol* [Internet]. 2011;15(2):121. Available from: <http://www.jisponline.com/text.asp?2011/15/2/121/84379>
17. Cerda E. Efecto inhibitorio de cepa enterococcus faecalis usando propóleos ecuatorianos , gluconato de clorhexidina e hiplocorito de sodio: In vitro. [Internet].



- Universidad Central de Ecuador; 2017. Available from: <http://www.dspace.uce.edu.ec:8080/bitstream/25000/8278/1/T-UCE-0015-453.pdf>
18. Vaculik P, Rosende O, Cardozo J, Pérez S, Ramírez C. Acción antimicrobiana de extracto etanólico de propóleos sobre estreptococos mutans. 2014;16:81–6. Available from: <http://revistadigital.uce.edu.ec/index.php/ODONTOLOGIA/article/view/104/PDF>
19. Bravo A, Díaz L, Gónzales L. Tratamiento de la alveolitis dental con tintura de Treatment of dental alveolitis with 5 % propolis tincture. Rev Cuba Farm [Internet]. 2012;46(1):97–104. Available from: <http://scielo.sld.cu/pdf/far/v46n1/far12112.pdf>
20. Noriega V. El propóleo, otro recurso terapéutico en la práctica clínica. Curso de adaptación al grado. 2014.
21. Miranda M, Panis C, Depieri A, Da Silva S, Kawakami N, Lopes L, et al. Nitric oxide and Brazilian propolis combined accelerates tissue repair by modulating cell migration, cytokine production and collagen deposition in experimental leishmaniasis. PLoS One [Internet]. 2015;10(5):1–19. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25973801>
22. Seol Y-J, Lee J-Y, Park Y-J, Lee Y-M, Young-Ku, Rhyu I-C, et al. Chitosan sponges as tissue engineering scaffolds for bone formation. Biotechnol Lett [Internet]. 2004;26(13):1037–41. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1023/B:BILE.0000032962.79531.f0>



23. Paz D, Sosa M, Dávila L, Velazco G, Arteaga S, Morales O, et al. Efectividad del Quitosano como coadyuvante en el tratamiento local de periodontitis crónica. Acta Bioclínica [Internet]. 2012;2(4):53–71. Available from: <http://erevistas.saber.ula.ve/index.php/actabioclinica/article/view/4184/3974>
24. Awawdeh L, Beitawi M, Hammad M. Effectiveness of propolis and calcium hydroxide as a short-term intracanal medicament against *Enterococcus faecalis*: A laboratory study. Aust Endod J [Internet]. 2009;35(2):52–8. Available from: http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1747-4477.2008.00125.x/epdf?r3_referer=wol&tracking_action=preview_click&show_checkout=1&purchase_referrer=onlinelibrary.wiley.com&purchase_site_license=LICENSE_DENIED
25. Felitti R. Propóleo en Odontología. Usos y aplicaciones. Atas Odontológicas [Internet]. 2014;11(1):30–7. Available from: <http://revistas.ucu.edu.uy/index.php/actasodontologicas/article/viewFile/967/959>
26. Gómez Y, Pardillo L, Sánchez L, Diaz L. El uso del propóleos al 5% en el tratamiento de la alveolitis. 2008;10(1). Available from: [http://bvs.sld.cu/revistas/gme/pub/vol.10.\(1\)_06/vol.10.1.06.pdf](http://bvs.sld.cu/revistas/gme/pub/vol.10.(1)_06/vol.10.1.06.pdf)
27. Ozen T, Kilic A, Bedir O, Koru O, Sorkun K, Tanyuksel M, et al. In vitro Activity of Turkish Propolis Samples Against Anaerobic Bacteria Causing Oral Cavity Infections. Kafkas Univ Vet Fak Derg [Internet]. 2009;16(2):293–8. Available from: http://vetdergi.kafkas.edu.tr/extdocs/2010_2/293_298.pdf



28. Franca J, Luca M, Ribeiro T, Castilho R, Moreira A, Santos V, et al. Propolis - based chitosan varnish : drug delivery , controlled release and antimicrobial activity against oral pathogen bacteria. *BioMed Cent* [Internet]. 2014;14:1–11. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25495921>
29. Luaces G. Actividad antimicrobiana in vitro del chitosan/propóleo en gel sobre el *Enterococcus faecalis* [Internet]. Universidad de Cuenca; 2017. Available from: [http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/28167/1/TESIS PDF.pdf](http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/28167/1/TESIS%20PDF.pdf)
30. Cortés RJ, Cortés OJ, Alvarez SR. Quitosano : un Material con Propiedades Regenerativas y su Aplicación Clínica. *Rev Eur Odontol*. 2008;17:(47):55.
31. Lisbeth A, Barrios P. Diseño de una película de quitosán como sistema terapéutico farmacéutico alternativo para el tratamiento de úlceras cutáneas. Universidad Nacional de Colombia; 2012.
32. Elizabeth L, James A. Incorporación de nanopartículas en películas de Quitosano Quinoa. 2011.
33. Duarte M, Mano J, Paiva M, Alves N. Chitosan nanocomposites based on distinct inorganic fillers for biomedical applications. *Sci Technol Adv Mater* [Internet]. 2016;17(1):626–43. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/14686996.2016.1229104>
34. Avila AJ, Costamagna V, Barrientos E, Pucci G, Strumia MC. Películas de quitosano con sorbato de potasio unido física y covalentemente. estudios de



- aplicación. 2010;11(2):73–87.
35. Rómulo Leonardi, José Páez, Lorena Bustillos, Reynaldo Ortiz, Gladys Velazco AG. Detección de la liberación del fluconazol cargado en un adhesivo protésico. ACTA BIOCLINICA. 2015;5(10):140–8.
36. Arias B, Ortiz R, Velazco G. Determinación de la velocidad de liberación de metronidazol incorporado en membranas de quitosano , utilizando voltametría de pulso diferencial. Acta Bioclínica. 2012;2(3).
37. Harris RE. Quitosano, un biopolímero con aplicaciones en sistemas de liberación controlada de fármacos. Universidad Complutense de Madrid; 2010.
38. Partir DA, Camarón DEEDE, Juan P, Lemus F, Alejandra L, Zimeri M, et al. Obtención y uso de Quitosano para tratamientos [Internet]. 2007. Available from: http://www.fsalazar.bizland.com/LANDIVAR/ING-PRIMERO/boletin07/URL_07_QUI01.pdf
39. Gil M, Colarusso V, Ferreira J, Ochoa G, Perozo E. Efecto de un extracto etanólico de propóleos sobre Pseudomonas aeruginosa en estado planctónico y sésil. Rev Salus. 2016;20:27–33.
40. Carrillo ML, Castillo LN, Mauricio R. Evaluación de la Actividad Antimicrobiana de Extractos de Propóleos de la Huasteca Potosina (México). Inf Tecnol. 2011;22(5):21–8.



**ESTUDIO ECOLÓGICO SOBRE CONTAGIOS, MORTALIDAD Y LETALIDAD
POR COVID-19 EN EL MUNDO: CORRELACIÓN CON DIVERSOS
INDICADORES ECONÓMICOS Y DE SALUD**

**Carlo Eduardo Medina-Solís,¹ Cesar Tadeo Hernández-Martínez,¹ Sandra Isabel
Jiménez-Gayosso,¹ Salvador Eduardo Lucas-Rincón,¹ Mario I. Ortiz,¹ Miriam
Alejandra Veras-Hernández,¹ María de Lourdes Márquez-Corona,¹ América Patricia
Pontigo-Loyola,¹ Martha Mendoza-Rodríguez,¹ Leticia Ávila-Burgos.²**

- 1. Instituto de Ciencias de la Salud de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca, México.**
- 2. Centro de Investigación en Sistemas de Salud del Instituto Nacional de Salud Pública. Cuernavaca, México.**

CORRESPONDENCIA: Dra. Leticia Ávila-Burgos. Centro de Investigación en Sistemas de Salud, Instituto Nacional de Salud Pública. Cuernavaca, Morelos, México. Av. Universidad 655, 62440, Cuernavaca, México.

Email: leticia.avila@insp.mx



RESUMEN

Analizar la correlación de las tasas de contagios, mortalidad y letalidad del COVID-19 con diferentes indicadores económicos y de salud a nivel ecológico. Un estudio ecológico se realizó con datos provenientes de diversas fuentes. En total fueron incluidos 150 países que al 12 de Julio de 2020 tenían al menos 500 contagios de COVID-19. Las variables consideradas como dependientes fueron las tasas de contagios, mortalidad y letalidad del COVID-19, mientras que las variables independientes fueron: el producto interno bruto (PIB), el índice de desarrollo humano (IDH), la esperanza de vida al nacer, el promedio de escolaridad, el PIB per cápita en dólares internacionales (PPP), la prevalencia de obesidad y diabetes. Además, para los países miembros de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE), el gasto en salud per cápita en dólares internacionales y las camas hospitalarias por 1,000 habitantes. El análisis estadístico se realizó en Stata 14.0. La población de los 150 países representó al 94.24% de la población mundial. Se observó correlación ($p < 0.05$) entre el número de contagios y el número de muertes con la población total. Entre el número de muertes y el número de contagios. Diversos indicadores económicos (IDH, PIB, promedio de escolaridad, PIB per cápita) y de salud (Gasto en salud per cápita, obesidad y diabetes) correlacionaron positivamente con las tasas de contagios, mortalidad y



letalidad, pero negativamente con camas hospitalarias. Indicadores económicos y de salud se relacionan a nivel ecológico con las tasas de contagios, mortalidad y letalidad en el mundo.

PALABRAS CLAVE: SARS-CoV-2; COVID-19; pandemia; población mundial; estudio ecológico.

ECOLOGICAL STUDY ON INFECTIONS, MORTALITY AND LETHALITY DUE TO COVID-19 IN THE WORLD: CORRELATION WITH VARIOUS ECONOMIC AND HEALTH INDICATORS

ABSTRACT

To analyze the correlation of the rates of infections, mortality and lethality of COVID-19 with different economic and health indicators at an ecological level. An ecological study was carried out with data from various sources. In total, 150 countries were included that as of July 12, 2020 had at least 500 COVID-19 infections. The variables considered as dependent were the infection, mortality and lethality rates of COVID-19, while the independent variables were: the gross domestic product (GDP), the human development index (HDI), life expectancy at birth, the average of schooling, GDP per capita in international dollars (PPP), prevalence of obesity and diabetes. Also, for Organization for Economic Co-operation and Development (OECD) countries members, health spending per capita in international dollars and hospital beds per 1,000 inhabitants. Statistical analysis was performed in Stata 14.0. The



population of the 150 countries represented 94.24% of the world population. A correlation ($p < 0.05$) was observed between the number of infections and the number of deaths with the total population. Between the number of deaths and the number of infections. Various economic indicators (HDI, GDP, average schooling, GDP per capita) and health (health expenditure per capita, obesity and diabetes) correlated positively with the rates of infections, mortality and fatality, but negatively with hospital beds. Economic and health indicators are related at an ecological level with the rates of infections, mortality and fatality in the world.

KEYWORDS: SARS-CoV-2; COVID-19; pandemic; world population; ecological study.

INTRODUCCIÓN

Los coronavirus son virus de ARN de sentido positivo no segmentados que pertenecen a la familia Coronaviridae y al orden Nidovirales, se distribuyen ampliamente en humanos, otros mamíferos y aves. Causan enfermedades respiratorias, entéricas, hepáticas y neurológicas. Aunque la mayoría de las

infecciones por coronavirus en humanos son leves, las epidemias de los dos betacoronavirus, el coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV) y el coronavirus del síndrome respiratorio del Medio Oriente (MERS-CoV),¹⁻³ han causado más de 10,000 casos de contagios en las últimas dos décadas, con tasas de mortalidad del



10% para SARS-CoV y del 37% para MERS-CoV.¹ Son de origen zoonótico, altamente transmisibles y patógenos que surgieron en humanos a principios del siglo XXI (4)

En Wuhan, provincia de Hubei, China, a fines de diciembre de 2019, varios centros de salud locales informaron sobre grupos de pacientes con neumonía de causa desconocida que estaban vinculados epidemiológicamente a un mercado mayorista de mariscos y animales húmedos. El 31 de diciembre de 2019, el Centro Chino para el Control y la Prevención de Enfermedades envió un equipo de respuesta rápida para acompañar a las autoridades sanitarias y realizar una investigación epidemiológica y etiológica (2,3) El 7 de enero de 2020, investigadores

aislaron y caracterizaron, de células epiteliales de las vías respiratorias humanas, al nuevo coronavirus (SARS-CoV-2) de pacientes con neumonía confirmada. El virus, formó un clado dentro del subgénero sarbecovirus, subfamilia Orthocoronavirinae. Diferente de MERS-CoV y SARS-CoV, el 2019-nCoV es el séptimo miembro de la familia de los coronavirus que infectan a los humanos (2,5). La secuencia del genoma de SARS-CoV-2 fue emitida por primera vez y compartida por China el 10 de enero (3). La partícula viral tiene forma esférica con algo de pleomorfismo, el diámetro de las partículas del virus varía de 60 a 140 nm con picos distintivos de aproximadamente 8 a 12 nm de longitud (2).



El 30 de enero de 2020, la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró que la enfermedad de coronavirus-2019 (COVID-19) como una emergencia de salud pública de preocupación internacional y la declaró una epidemia, y centró la atención de la comunidad científica en el campo de la salud mundial. El 11 de marzo, la OMS declaró oficialmente la enfermedad por coronavirus 2019 una pandemia mundial, lo que ilustraba la gravedad de esta nueva epidemia. El virus es altamente infeccioso y puede causar la transmisión de persona a persona y cada 24 horas, los casos aumentan varias veces (5-7). La última vez que la OMS anunció una pandemia mundial fue en marzo de 2009, con la gripe porcina H1N1 en todo el mundo (8).

Al inicio de la pandemia se sabía poco sobre la COVID-19, debido a que era una nueva enfermedad. Hasta ahora, no se han desarrollado vacunas, tratamientos clínicos prometedores o estrategias preventivas contra SARS-CoV-2. Por lo que la interrupción de la transmisión sostenida de humano a humano es la mejor manera de combatirla. La comprensión de las rutas de transmisión es esencial para que se puedan adoptar medidas de protección adecuadas individuales, familiares y comunitarias para evitar su propagación (9,10). Las observaciones epidemiológicas y los estudios de laboratorio sugieren que el SARS-CoV-2 es altamente infeccioso y se transmite principalmente por contacto cercano, a través de gotitas y fómites contaminados,



pero la transmisión a través de aerosoles, vía feco-oral y otras vías potenciales deben tenerse en cuenta en esta situación actual. Por lo que se deben emplear todas las medidas de protección para superar la pandemia lo antes posible (10).

Una característica típica del paciente infectado con SARS-CoV-2 es la neumonía, demostrada por tomografía computarizada o radiografía de tórax. En las primeras etapas, los pacientes muestran síntomas de infección respiratoria aguda, y algunos desarrollan rápidamente insuficiencia respiratoria aguda y otras complicaciones graves (2,3,11). Los signos y síntomas más frecuentes de la enfermedad son: fiebre, tos, fatiga y disnea, sin embargo, pueden no estar presentes; se han reportado síntomas

gastrointestinales y pérdida de sabor u olfato entre los casos leves; la disnea es frecuente entre los casos graves y fatales,(1,12,13) así como otras alteraciones psiquiátricas y neuropsiquiátricas(14). Un estudio encontró datos sobre 27 signos y síntomas, los cuales se dividen en cuatro categorías diferentes: sistémica, respiratoria, gastrointestinal y cardiovascular (15). Por otro lado, una característica que muestran los pacientes es la presencia de diversas comorbilidades, (13,16-22) entre ellas las enfermedades crónicas como la diabetes, hipertensión y obesidad, que aumentan el riesgo de agravar la enfermedad o de morir (23-29)

La interrelación entre desarrollo económico y salud es un problema



complejo, en general, existe una apreciación que a un mayor nivel de desarrollo económico al interior de un país se elevarán los niveles de salud entre la población. Por lo que se asume que el crecimiento económico mejora la disponibilidad, cobertura y acceso a los servicios de salud. Estas suposiciones se realizan ya que, en general, las condiciones y los indicadores de salud de los países desarrollados son mejores a las observadas en los países en desarrollo (30). La pandemia de la enfermedad por coronavirus 2019, se ha extendido rápidamente por todo el mundo y ha afectado a muchos países con una morbilidad y mortalidad cada vez mayores. Al día de hoy, se han estado desarrollando diversas vacunas,

actualmente, hay alrededor de 200 grupos trabajando en todo el mundo en busca de una vacuna, y la OMS le está siguiendo la pista a unas 140 propuestas (31). Mientras, de manera inmediata, las estrategias como el distanciamiento social, la buena higiene, evitar grandes reuniones, cancelar eventos sociales y deportivos, usar equipos de protección personal, cierre de escuelas y restaurantes, cierre de países, etc., que, aunque no necesariamente están dentro del sector de la salud, se han promovido para contener, prevenir y atenuar las tasas de infección por SARS-CoV-2.(9,32,33)

Hasta el 12 de Julio de 2020, se han confirmado un total de 13,135,616 casos de COVID-19, con 573,869 muertes. Al momento no se habían realizado estudios a



nivel global donde la unidad de análisis sea el país. Por lo que el objetivo del presente estudio fue analizar la correlación de las tasas de contagios, mortalidad y letalidad del COVID-19 con diferentes indicadores económicos y de salud a nivel ecológico en los países con al menos 500 contagios confirmados.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño del estudio

Se realizó un estudio ecológico, el cual se distingue de otros diseños en su unidad de observación, pues se caracteriza por estudiar grupos, más que individuos por separado. El tipo específico de diseño es llamado: estudio ecológico exploratorio.³⁴ En este análisis se incluyeron los países y territorios con al menos 500 contagios para

el día de la obtención de los datos (12 de Julio de 2020). El *Diamond Princess* figuraba en la lista, pero se eliminó debido a que se trata de un crucero británico. El tamaño de la muestra resultó en 150 países/territorios.

Variables y fuentes de datos

A partir del número de contagios de COVID-19, que se refiere al número de sujetos que dieron positivo a la prueba de virus que causa COVID-19, y el número de muertes por COVID-19, que hace referencia al número de muertes por COVID-19 y usando datos de la población de cada país (35) se calcularon tres variables: 1) la tasa de contagios de COVID-19 por 100,000 habitantes; 2) la tasa de mortalidad de COVID-19 por 100,000 habitantes; y 3) la tasa de letalidad



de COVID-19 por 100 contagiados de COVID-19, las cuales fueron calculadas para este estudio y consideradas como las variables dependientes. El número de contagios y de muertes se obtuvo de la página del *Coronavirus Resource Center* de la Universidad Johns Hopkins, los datos analizados son el acumulado hasta el día 12 de Julio de 2020.(36) Los cálculos se realizaron como a continuación se describen:

Tasa de contagios de COVID-19 por 100,000 habitantes: Se define como el número de casos diagnosticados de una enfermedad, en este caso de COVID-19, dividido entre la población en un país específico y durante un período específico multiplicado por 100,000 habitantes. (37)

Tasa de mortalidad de COVID-19 por 100,000 habitantes: Se refiere al total de muertes en un país entre la población total estimada del mismo país multiplicado por 100,000 habitantes. (37)

Tasa de letalidad de COVID-19 por 100 contagiados de COVID-19: La letalidad desde el punto de vista poblacional, es una medida de la gravedad de una enfermedad y se define como la proporción de casos de una enfermedad que resultan mortales con respecto al total de casos diagnosticados en un periodo especificado.(37)

Las variables consideradas como independientes para este análisis se enlistan a continuación: (38)

Producto interno bruto (PIB): Es la suma del valor agregado de todos los productores residentes en la economía más



todos los impuestos a los productos (menos los subsidios) no incluidos en la valoración del producto. El valor agregado es el producto neto de una industria tras haberle sumado todos los productos y restado los insumos intermedios. A fin de hacer comparaciones válidas entre países/territorios con diferente tamaño de población se utilizó el PIB per cápita en dólares internacionales (PPP). El dólar internacional (PPP US\$) es una unidad hipotética calculada por el World Bank que permite ajustar por poder de paridad de compra (PPP, por sus siglas en inglés), y representa la cantidad de unidades monetarias locales que se necesitan para adquirir, dentro del país en cuestión, la misma cantidad de bienes que podrían ser

compradas en USA con un dólar estadounidense.(39)

Índice de desarrollo humano

(IDH):(40,41) El IDH es una medida resumida del logro promedio en las dimensiones clave del desarrollo humano que incluyen la esperanza de vida al nacer, educación y tener un nivel de vida decente medido como PIB per cápita en PPP US\$. El IDH se creó para enfatizar que las personas y sus capacidades deberían ser el criterio final para evaluar el desarrollo de un país y no solo su crecimiento económico.

Promedio de escolaridad:

la escolaridad media de la población es el promedio de los grados escolares que la población en un grupo de edad ha



aprobado dentro del sistema educativo.(40,41)

Por su relación con la severidad de COVID-19 se incluyeron también:

Prevalencia de obesidad: Porcentaje de una población definida con un índice de masa corporal (IMC) de 30 kg/m² o superior. (42,43)

Prevalencia de diabetes en sujetos de 20 a 79 años: Se refiere al porcentaje de la población con diagnóstico de diabetes. Los datos fueron del 2019 de acuerdo a la Federación Internacional de Diabetes. (44)

Además, para los países miembros de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE) se evaluaron: el gasto en salud per cápita en PPP US, las camas hospitalarias

disponibles por 1,000 habitantes y la tasa de pruebas de COVID-19 realizadas.

Tasa de pruebas de COVID-19 realizadas: Se refiere al número de pruebas de detección de SARS-CoV-2 por cada millón de habitantes al 20 Julio de 2020.(45)

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó en Stata 14. La base de datos se encuentra disponible en ResearchGate (DOI: 10.13140/RG.2.2.19324.56961). La prueba estadística utilizada fue la prueba de correlación de Spearman. En el estudio se descartó realizar un análisis inferencial debido a la naturaleza exploratoria y preliminar de los datos analizados. Debido a que para algunos países no se reportaron



datos, el tamaño de muestra en cada análisis se menciona en las figuras.

Consideraciones éticas

El presente estudio empleó bases de datos públicas, por lo que no fue necesaria la aprobación de un comité de ética.

RESULTADOS

En total fueron 7,347,457,722 habitantes de los 150 países/territorios incluidos en el estudio, lo cual representa al 94.24% de la población mundial. San Marino fue el país con la menor población total estimada ($n=33,553$), mientras que China fue el país con mayor población total estimada, con 1,403,496,680 individuos. En el total de los países se reportaron 12,853,527 contagios de SARS-CoV-2 y 567,829 muertes por COVID-19. La tasa global de

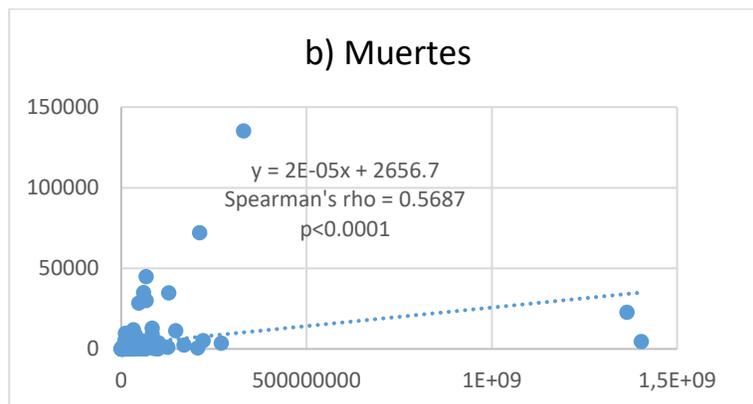
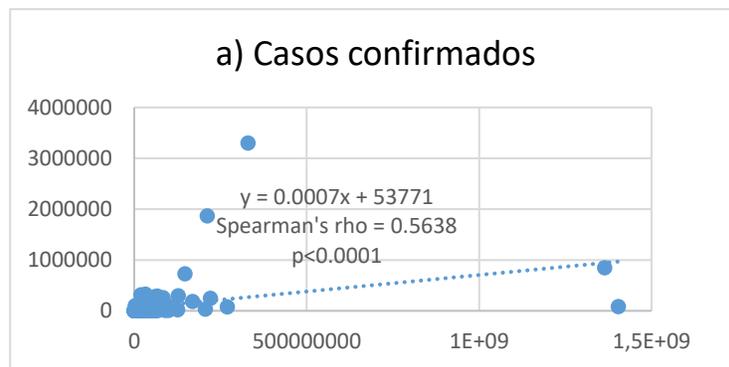
contagios fue de 174.94 por 100,000 habitantes; mientras que la tasa de mortalidad fue de 7.73 por 100,000 habitantes y la tasa de letalidad de 4.42%, a Julio del año 2020 se incluyeron un total de 150 países, en la revisión.

El análisis estadístico bivariado se muestra en la figura 1 a 5 y las figuras suplementarias S1 al S4 (DOI: 10.13140/RG.2.2.29829.99044). Se observó que hay una correlación positiva entre el tamaño de la población del país con el número de contagios ($r = 0.5638$; $p < 0.0001$, figura 1a), así como con el número de muertes ($r = 0.5687$; $p < 0.0001$, figura 1b). La figura 1c muestra una asociación positiva entre número de contagios y número de muertes; a mayor



contagios mayor número de muertes

($r=0.8909$; $p<0.0001$).



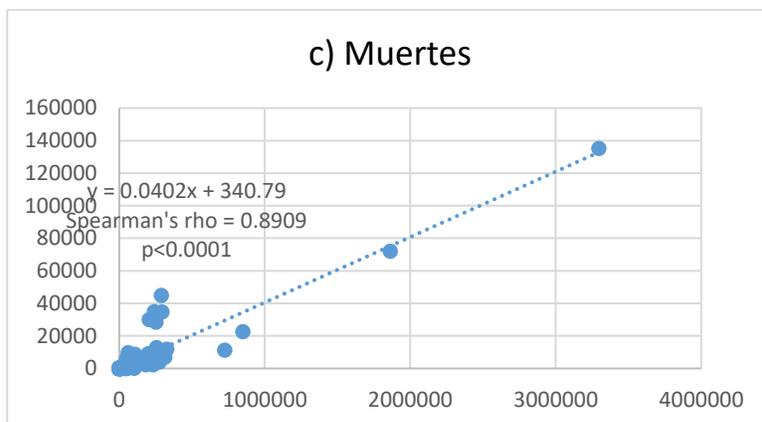
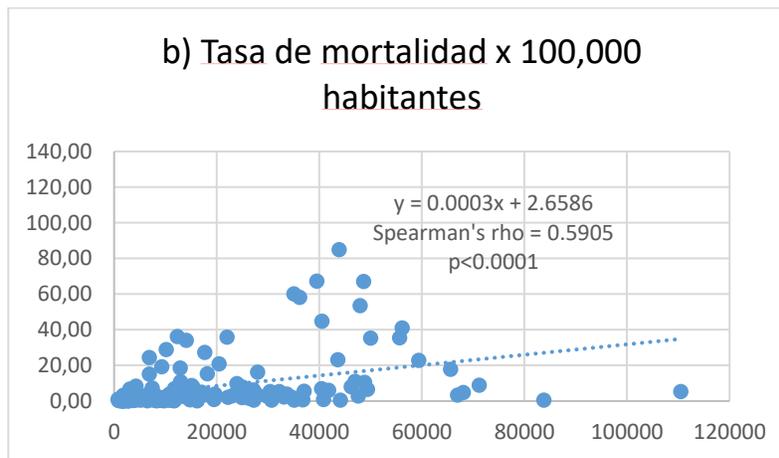
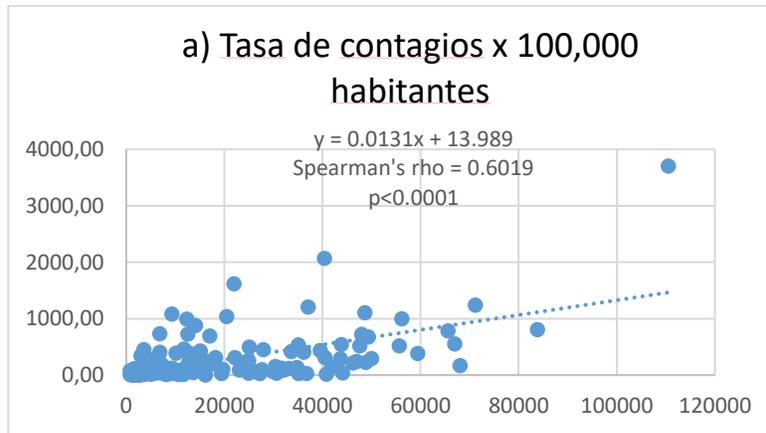


Figura 1. Correlación de Spearman entre la población total con: a) el número de contagios y b) número de muertes y c) correlación entre número de muertes con número de contagios, para 150 países con al menos 500 casos confirmados de COVID-19 al 12 de julio de 2020.

Sobre los indicadores económicos se observa que cuando el PIB per cápita aumentó la tasa de contagios se incrementó ($r = 0.6019$; $p < 0.0001$, figura 2a), lo mismo sucedió con la tasa de mortalidad ($r = 0.5905$; $p < 0.0001$, figura 2b) y con la tasa de letalidad ($r = 0.1658$; $p < 0.05$, figura 2c).



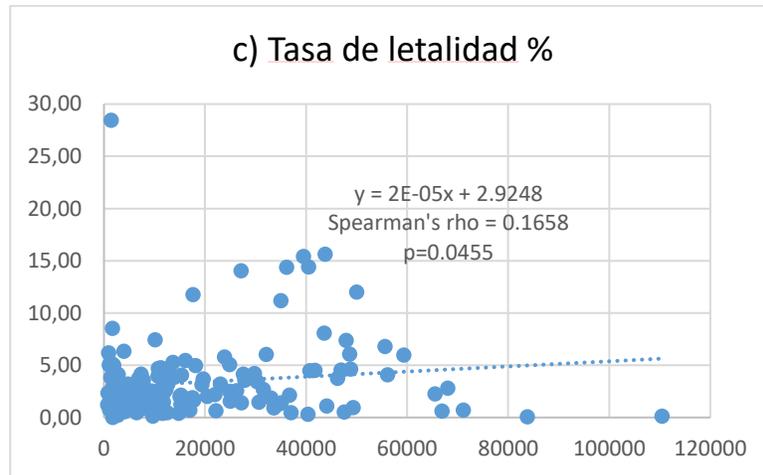
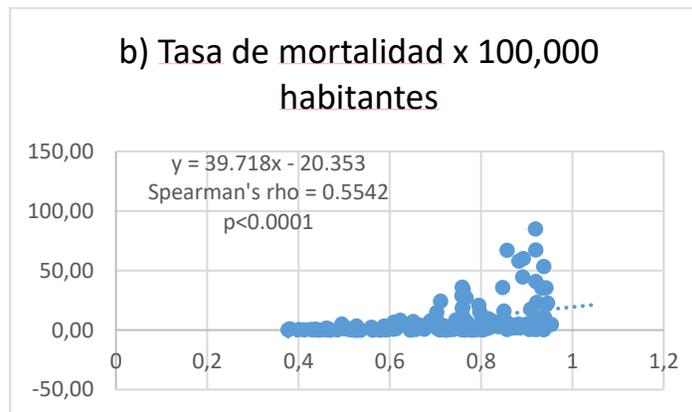
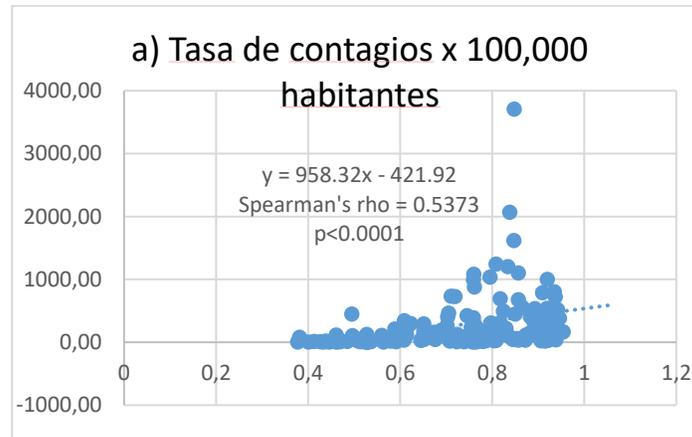


Figura 2. Correlación de Spearman entre el PIB per cápita en dólares internacionales (PPP) con: a) tasa de contagios, b) tasa de mortalidad y c) tasa de letalidad para 146 países con al menos 500 casos confirmados de COVID-19.

De igual manera, se observó que conforme aumentó el índice de desarrollo humano también lo hicieron la tasa de contagios ($r = 0.5373$; $p < 0.0001$, Figura 3a), la tasa de mortalidad ($r = 0.5542$; $p < 0.0001$, Figura 3b) y la tasa de letalidad ($r = 0.1963$; $p < 0.05$, Figura 3c).



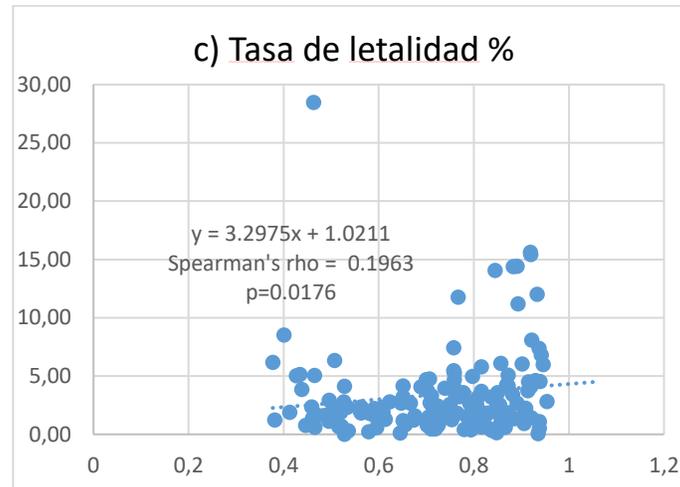
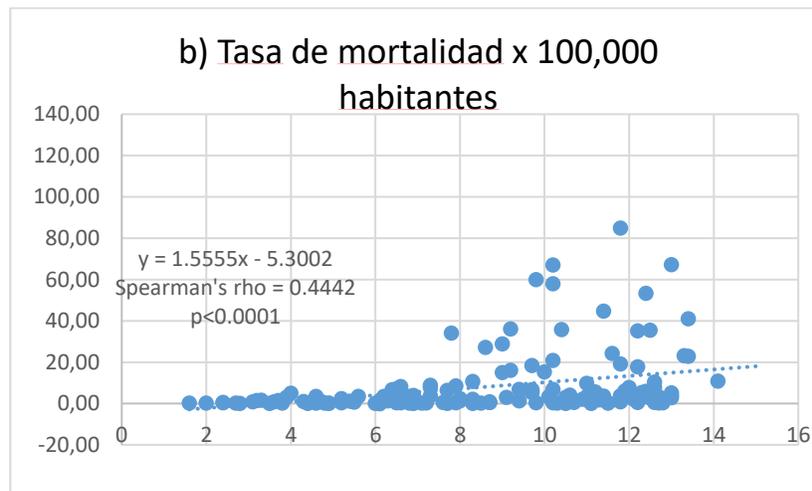
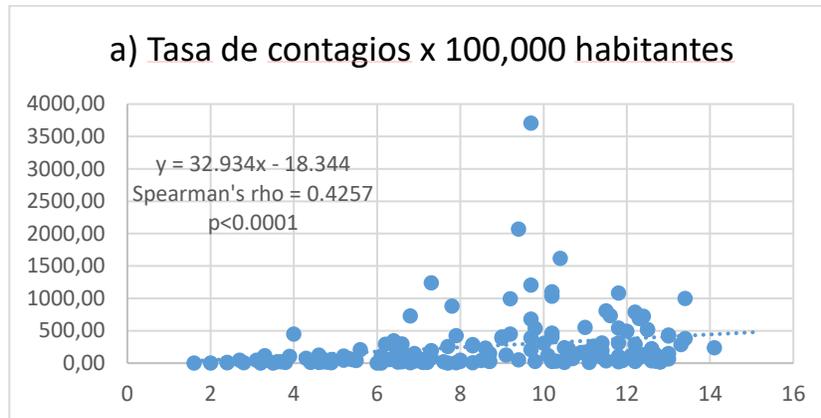


Figura 3. Correlación de Spearman entre el Índice de Desarrollo Humano con: a) tasa de contagios, b) tasa de mortalidad y c) tasa de letalidad para 146 países con al menos 500 casos confirmados de COVID-19.

El promedio de escolaridad y las tasas de contagios ($r = 0.4257$; $p < 0.0001$, figura 4a) y de mortalidad ($r = 0.4442$; $p < 0.0001$, figura 4b), tuvieron una asociación positiva; en cambio, no se observó correlación entre la escolaridad y la tasa de letalidad ($p > 0.05$, figura 4c).



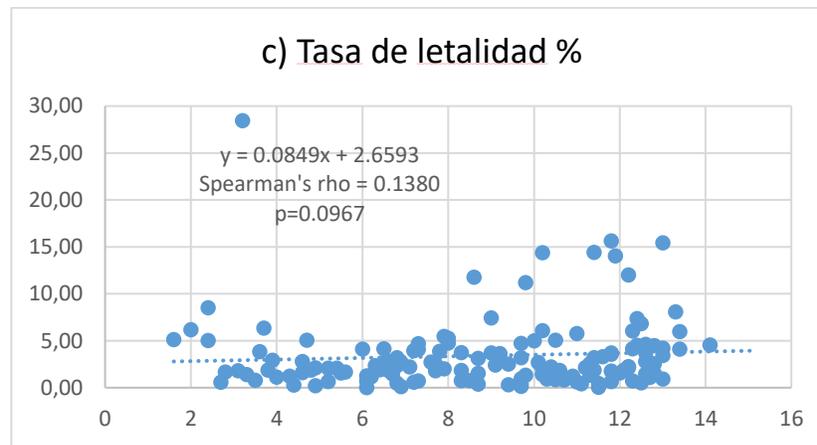
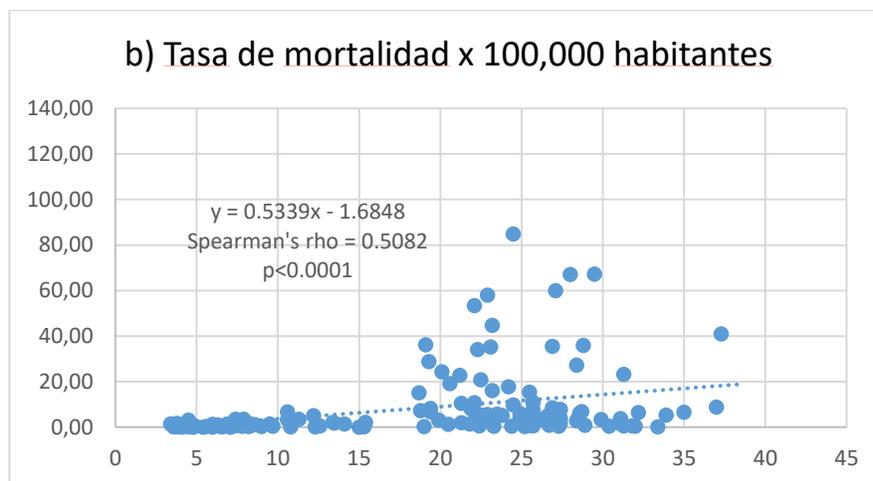
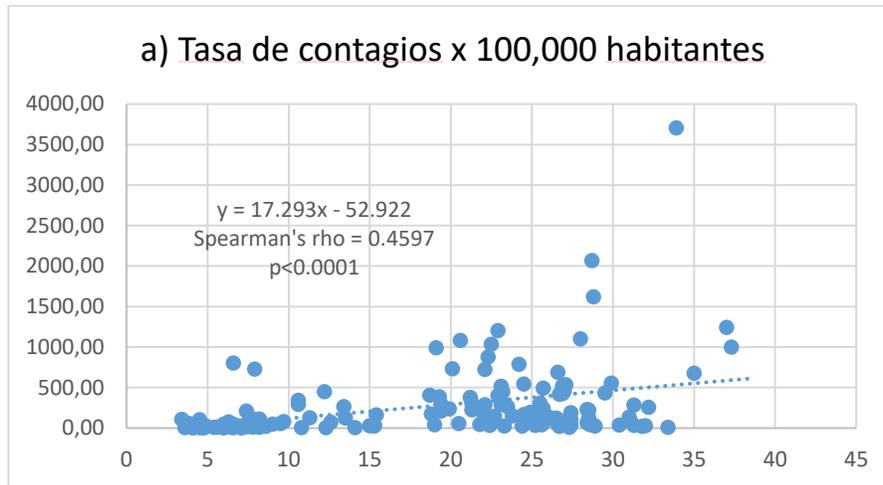


Figura 4. Correlación de Spearman entre el promedio de escolaridad y a) tasa de contagios, b) tasa de mortalidad y c) tasa de letalidad para 146 países con al menos 500 casos confirmados de COVID-19.

En las variables relacionadas a la salud se observó que conforme aumenta la prevalencia de obesidad, lo hace la tasa de contagios ($r = 0.4597$; $p < 0.0001$, figura 5a), y también la tasa de mortalidad ($r = 0.5082$; $p < 0.0001$, figura 5b). La tasa de letalidad mostró una correlación marginalmente significativa con la prevalencia de obesidad ($p = 0.0672$, figura

5c). Con relación a la prevalencia de diabetes, se observó que conforme el porcentaje de personas con diabetes aumenta, la tasa de contagios ($r = 0.2390$; $p = 0.0034$, figura S1a) y la tasa de mortalidad ($r = 0.2047$; $p = 0.0126$, figura S1b) se incrementan. La tasa de letalidad no mostró asociación con la prevalencia de diabetes ($p = 0.5171$, figura S1c).



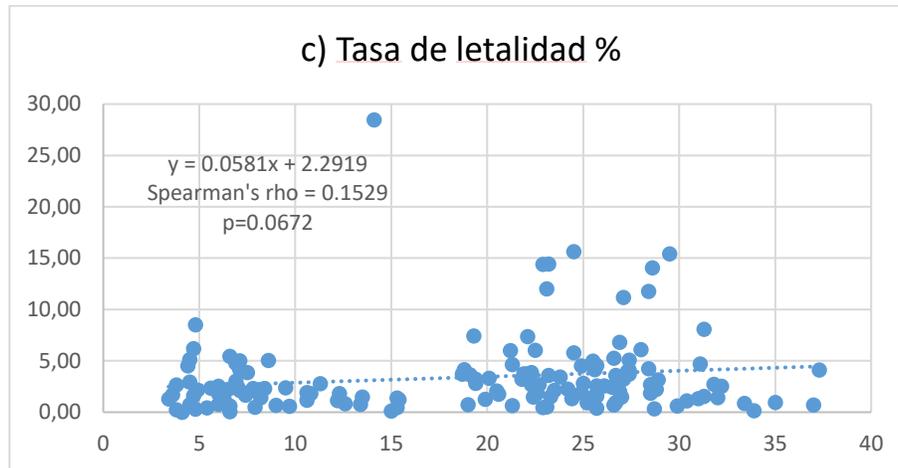


Figura 5. Correlación de Spearman entre la prevalencia de obesidad y a) tasa de contagios, b) tasa de mortalidad y c) tasa de letalidad para 146 países con al menos 500 casos confirmados de COVID-19.

Un análisis focalizado en los países miembros de la OCDE se observó correlación positiva entre el gasto en salud per cápita (en dólares internacionales) con la tasa de contagios ($r = 0.3295$; $p < 0.05$, figura S2a); en cambio con la tasa de mortalidad fue marginalmente significativa ($p = 0.0537$, figura S2b) y sin asociación con la tasa de letalidad

($p = 0.1967$, figura S2c). Las figuras S3 muestran que cuando el número de camas hospitalarias por 1,000 habitantes aumenta, disminuyen tanto la tasa de contagios ($r = -0.5122$, $p < 0.01$, figura S3a) como la tasa de mortalidad ($r = -0.4077$, $p < 0.05$, figura S3b). No se observó relación entre el número de camas hospitalarias por 1,000 habitantes y la tasa



de letalidad ($p=0.7233$, figura S3c). En las figuras S4 se muestra el resultado del análisis de correlación entre el número de pruebas realizadas para SARS-CoV-2 por cada millón de habitantes y la tasa de contagios; a mayor número de pruebas mayor tasa de contagios ($r = 0.6747$, $p<0.0001$, figuras S4a). Los mismos resultados fueron observados para el número de pruebas realizadas por cada millón de habitantes y la tasa de mortalidad ($r = 0.4897$, $p<0.01$, figuras S4b). En cambio, no se observó correlación entre el número de pruebas realizadas por cada millón de habitantes y la tasa de letalidad ($p=0.8601$, figuras S4c).

Por otro lado, se observó que el PIB nacional se correlaciona positivamente

con el tamaño de la población del país (Spearman's rho = 0.6112, $p<0.0001$). En un subanálisis para 30 países donde se disponía de datos sobre las pruebas realizadas para SARS-CoV-2 por cada millón de habitantes, se observó que esta variable también se correlacionaba positivamente con el índice de desarrollo humano (Spearman's rho = 0.7711, $p<0.0001$).

DISCUSIÓN

Este estudio, a modo exploratorio, se propuso identificar la existencia de correlaciones entre las tasas de contagios, de mortalidad y letalidad con diversos indicadores económicos y de salud. Las enfermedades infecciosas representan un importante problema de salud global. El brote COVID-2019 causado por el



coronavirus de tipo 2 que ocasiona el síndrome respiratorio agudo grave iniciado en China, ha despertado una gran preocupación en la salud pública, así como de los gobiernos de los países alrededor del mundo, ya que existen muchas incógnitas con respecto a la dinámica de transmisión y el espectro de enfermedades, que requieren diversos niveles de atención.(3) Mientras tanto, resulta necesario aumentar las acciones que garanticen que nadie se quede sin información sobre los factores de riesgo a los que está expuesta la población.(33) Se plantea como hipótesis que las respuestas de los gobiernos desempeñan un papel importante en el aplanamiento de la curva epidémica y en la desaceleración de la llegada del pico, lo cual sería beneficioso para evitar que los

pacientes diagnosticados y con necesidades de hospitalización excedan la capacidad del sistema de salud y no se tengan los suficientes recursos, tanto económicos como de infraestructura sanitaria, para ser tratados. De esta forma, al inicio de la pandemia, en China sugiera que la eficiencia de las respuestas gubernamentales se refleja en tres aspectos: 1. Etapa de notificación hospitalaria a las agencias nacionales de salud pública, 2. Identificación de patógenos y etapa de secuenciación del gen del virus, y 3. Etapa de formulación de políticas de salud pública gubernamentales.8 Los resultados del estudio muestran, que a mayor tamaño poblacional del país mayor el número de contagios y de mortalidad. Es de suponer



que los países con mayor cantidad de población sean los que tengan mayor cantidad de contagios de SARS-CoV-2 y de mortalidad por COVID-19.

En general, los resultados del estudio sugieren que a mayor desarrollo económico mayor es la tasa de contagios. Dos hipótesis pudieran surgir de estas observaciones. Esto puede reflejar, por un lado, que los países con mayor PIB, mejor desarrollo humano, y mayor gasto en salud disponen de mayores recursos y por tanto, tienen una mayor capacidad de ofrecer a la población de un mayor número de pruebas que permiten una mayor detección de los casos de COVID-19. Esto se observa en un subanálisis para 30 países donde se disponía de datos sobre las pruebas para SARS-CoV-2. Otra hipótesis es que, por el

mismo desarrollo del país, la movilidad de las personas en las grandes metrópolis propiciaría una cadena de contagios de SARS-CoV-2 mayor que en sus contrapartes menos desarrolladas. La importancia de estas interacciones sociales tiene que ver con la configuración de la dinámica general de la propagación de la enfermedad y en la determinación de la efectividad de las estrategias de mitigación contra la enfermedad. En este sentido, el rastreo de contactos es una importante respuesta de salud pública en las enfermedades infecciosas raras o emergentes. Los objetivos principales del rastreo de contactos son identificar a las personas potencialmente infectadas antes del inicio de los síntomas graves y prevenir la transmisión posterior de los casos



secundarios.(46) El SARS-CoV-2 es más transmisible que el coronavirus del síndrome respiratorio del SARS-CoV y del Medio Oriente. Las personas mayores (≥ 60 años) son las más susceptibles a la transmisión doméstica del SARS-CoV-2.(47) Además de la búsqueda de casos y el aislamiento, se debe implementar el rastreo oportuno y la cuarentena de los contactos cercanos para evitar la transmisión durante el período de incubación viral.(47) El rastreo de contactos ha contribuido decisivamente al control de muchas enfermedades infecciosas en todo el mundo, por lo que es recomendable realizar esta acción para COVID-19.(46) Además de las estrategias de contención de la enfermedad, otro reto para los sistemas de salud en el mundo es

la capacidad de respuesta de sus sistemas de salud para la atención médico hospitalaria de manera oportuna de los casos de COVID-19. Los países con mayores recursos hospitalarios tendrán la capacidad de responder de manera más adecuada al número creciente de personas con COVID-19 que requieren de hospitalización, e incluso una mayor posibilidad de que sus sistemas no se vean rebasados (48) En este sentido nuestros hallazgos documentan que el hecho que los países cuenten con mayor número de camas hospitalarias se asocia a una menor mortalidad, e incluso a una menor tasa de contagios.

Los resultados de este estudio mostraron también que tanto la prevalencia de obesidad y de diabetes se asocian con un



mayor número de contagios, como de mortalidad a nivel país. Estos resultados son consistentes con lo que se ha señalado en diversos estudios epidemiológicos realizados en el mundo, que documentan que las personas contagiadas de SARS-CoV-2 presentan numerosas comorbilidades, (13,16-22) Fang et al.,(23) encontró en un metaanálisis mayor riesgo de gravedad o de morir en los individuos con comorbilidades. Por otro lado, en un metaanálisis observaron que la diabetes fue más prevalente entre los casos fatales en comparación con los casos totales.(24) Otros estudios, identificaron a la diabetes como una comorbilidad con mayor riesgo de complicaciones y muerte.^{25,26} En un estudio realizado por Suleyman et al.,(27) también observaron

que la obesidad estuvo asociada con la admisión en la unidad de cuidados intensivos. En otro estudio los pacientes con diabetes y obesidad fueron más probables de requerir cuidados intensivos.(26,28,29) De igual forma, en un estudio ecológico previo observó correlación entre la incidencia de la Covid-19, y la prevalencia de IMC>25.(49) Igualmente, la diabetes se asoció con un mayor riesgo de complicaciones durante la infección por influenza pandémica A (H1N1) de 2009.(50) Lo anterior sugiere que las comorbilidades pueden tener resultados adversos en este tipo de infecciones, Además, los estudios han estado basados en datos clínicos y epidemiológicos de pacientes graves, y se



dispone de muy pocos basados en amplias muestras.(51)

El presente estudio tiene diversas limitaciones que se tienen que tomar en cuenta al momento de interpretar los resultados. 1. se utilizaron datos crudos generados para cada país y en algunos ítems no se tuvo información completa para los 150 países/territorios incluidos, fallando en la exhaustividad de la información. 2. En algunos países no se realizan pruebas a todos los sujetos con COVID-19, sólo a los que presentan síntomas, por lo que podría haber una subestimación de los contagiados, la cual es difícil determinar para cada uno de los países con diferentes tasas de pruebas diagnósticas, y esto no tiene por qué ser representativo de todos los países. Ya que

no es lo mismo un país donde se realizan pruebas de detección masivas a toda persona que lo solicita, o bien países que las aplican solamente en pacientes ambulatorios que acuden para cribado de salud, o incluso países en los que la pruebas se realizan solamente en individuos que acuden a consulta con síntomas compatibles con el COVID-19; o bien, aquellos países que realizan las pruebas solamente en las personas hospitalizadas por COVID-19. 3. Este estudio no analizó la velocidad con la que se ha presentado la enfermedad alrededor del mundo (no calculó incidencias), los países se encuentran en diferentes estadios de la pandemia, unos se ubican en pleno ascenso mientras que otros en descenso, por lo que al momento de corte del estudio



solo se pueden realizar conclusiones parciales. 4. por último, se debe tener presente que existe un problema que presentan los estudios ecológicos, llamada falacia ecológica, que consiste en realizar conclusiones individuales a partir de datos agregados. Este estudio no presenta dicho problema, pues solo ha realizado conclusiones para el nivel global y no el individual.

CONCLUSIÓN

En conclusión, podemos decir que se observaron diversos indicadores económicos y de salud relacionados a nivel ecológico con las tasas de contagios, mortalidad y letalidad, de lo que se desprende el supuesto que, para la COVID-19, también es relevante el resultado de la variabilidad a niveles

grupal. Además, las tasas analizadas tuvieron grandes variaciones alrededor del mundo. Estos hallazgos proporcionan una base cuantitativa para estudios epidemiológicos sobre los resultados sanitarios de infección por coronavirus en la población mundial. Igualmente, estos resultados pueden ser utilizados para ver tendencias y evaluar las intervenciones realizadas en la población.

REFERENCIAS

1. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020;395(10223):497-506.
2. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China,



2019. N Engl J Med. 2020;382(8):727-733.
3. Zheng J. SARS-CoV-2: an Emerging Coronavirus that Causes a Global Threat. Int J Biol Sci. 2020;16(10):1678-1685.
4. Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. Nat Rev Microbiol. 2019;17(3):181-192.
5. Jiang F, Deng L, Zhang L, Cai Y, Cheung CW, Xia Z. Review of the Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). J Gen Intern Med. 2020;35(5):1545-1549.
6. Mazzucchelli R, Agudo Dieguez A, Dieguez Costa EM, Crespí Villarías N. Democracia y mortalidad por Co-vid-19 en Europa. Rev Esp Salud Pública. 2020; 94: 24 de junio e202006073
7. World Health Organization. WHO Director-General's Opening Remarks at the Media Briefing on COVID-19—11 March 2020. Available online: <https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020> (accessed on 14 Julio 2020).
8. Wang Q, Zhang T, Zhu H, Wang Y, Liu X, Bai G, et al. Characteristics of and Public Health Emergency Responses to COVID-19 and H1N1 Outbreaks: A Case-Comparison Study. Int J Environ Res Public Health. 2020;17(12):4409.
9. Daumas RP, Silva GAE, Tasca R, Leite IDC, Brasil P, Greco DB, Graboís V, Campos GWS. The role of primary care in the Brazilian healthcare system: limits and



possibilities for fighting COVID-19. *Cad Saude Publica*. 2020;36(6):e00104120.

10. Yeasmin M, Tasnim J, Akram A, Yusuf MA, Shamsuzzaman AKM, Molla MMA, Ghosh AK. Routes of Transmission of Newly Emerging SARS-CoV-2: A Systematic Review. *Bangladesh J Infect Dis* 2020;7(suppl_1):S18-S31.

11. Chan JF, Yuan S, Kok KH, To K, Chu H, et al. A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. *Lancet*. 2020;395(10223):514-523.

12. Iser BPM, Sliva I, Raymundo VT, Poletto MB, Schuelter-Trevisol F, Bobinski F. Suspected COVID-19 case definition: a narrative review of the most

frequent signs and symptoms among confirmed cases. *Epidemiol Serv Saude*. 2020;29(3):e2020233.

13. Yang J, Zheng Y, Gou X, Pu K, Chen Z, Guo Q, et al. Prevalence of comorbidities and its effects in patients infected with SARS-CoV-2: a systematic review and meta-analysis. *Int J Infect Dis*. 2020;94:91-95.

14. Rogers JP, Chesney E, Oliver D, Pollak TA, McGuire P, Fusar-Poli P, et al. Psychiatric and neuropsychiatric presentations associated with severe coronavirus infections: a systematic review and meta-analysis with comparison to the COVID-19 pandemic. *Lancet Psychiatry*. 2020;7(7):611-627.

15. Struyf T, Deeks JJ, Dinnes J, Takwoingi Y, Davenport C, Leeflang



MM, et al. Signs and symptoms to determine if a patient presenting in primary care or hospital outpatient settings has COVID-19 disease. *Cochrane Database Syst Rev.* 2020;7:CD013665.

16. Kumar-M P, Mishra S, Jha DK, Shukla J, Choudhury A, Mohindra R, et al. Coronavirus disease (COVID-19) and the liver: a comprehensive systematic review and meta-analysis. *Hepatol Int.* 2020;1-12. [published online ahead of print, 2020 Jul 4] doi:10.1007/s12072-020-10071-9

17. Jain V, Yuan JM. Predictive symptoms and comorbidities for severe COVID-19 and intensive care unit admission: a systematic review and meta-analysis. *Int J Public Health.* 2020;65(5):533-546.

18. Singh AK, Gillies CL, Singh R, Singh A, Chudasama Y, Coles B, et al.

Prevalence of co-morbidities and their association with mortality in patients with COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Diabetes Obes Metab.* 2020;10.1111/dom.14124. [published online ahead of print, 2020 Jun 23]. doi:10.1111/dom.14124

19. Casas-Rojo JM, Antón-Santos JM, Millán-Núñez-Cortés J, Lumbreras-Bermejo C, Ramos-Rincón JM, Roy-Vallejo E, et al. Características clínicas de los pacientes hospitalizados con COVID-19 en España: resultados del Registro SEMI-COVID-19. *Rev Clin Esp.* 2020 DOI: 10.1016/j.rce.2020.07.003

20. Kammar-García A, Vidal-Mayo JJ, Vera-Zertuche JM, Lazcano-Hernández M, Vera-López O, Segura-Badilla O, et al. Impact of comorbidities in Mexican sars-



cov-2-positive patients: a retrospective analysis in a national cohort. *Rev Invest Clin.* 2020;72(3):151-158.

21. Bajgain KT, Badal S, Bajgain BB, Santana MJ. Prevalence of comorbidities among individuals with COVID-19: A rapid review of current literature. *Am J Infect Control.* 2020:S0196-6553(20)30637-4.

22. Marín-Sánchez A. [Basic clinical characteristics in the first 100 fatal cases of COVID-19 in Colombia]. *Rev Panam Salud Publica.* 2020;44:e87.

23. Fang X, Li S, Yu H, Wang P, Zhang Y, Chen Z, et al. Epidemiological, comorbidity factors with severity and prognosis of COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Aging (Albany NY).* 2020;12(13):12493-12503.

24. Gold MS, Sehayek D, Gabrielli S, Zhang X, McCusker C, Ben-Shoshan M. COVID-19 and comorbidities: a systematic review and meta-analysis. *Postgrad Med.* 2020;1-7. [published online ahead of print] doi: 10.1080/00325481.2020.1786964.

25. Lu L, Zhong W, Bian Z, Li Z, Zhang K, Liang B, et al. A comparison of mortality-related risk factors of COVID-19, SARS, and MERS: A systematic review and meta-analysis *J Infect.* 2020;S0163-4453(20)30460-6. [published online ahead of print]. doi:10.1016/j.jinf.2020.07.002

26. Bello-Chavolla OY, Bahena-López JP, Antonio-Villa NE, Vargas-Vázquez A, González-Díaz A, Márquez-Salinas A, et al. Predicting Mortality Due to SARS-



CoV-2: A Mechanistic Score Relating Obesity and Diabetes to COVID-19 Outcomes in Mexico. *J Clin Endocrinol Metab.* 2020;105(8):dgaa346.

27. Suleyman G, Fadel RA, Malette KM, Hammond C, Abdulla H, Entz A, et al. Clinical Characteristics and Morbidity Associated With Coronavirus Disease 2019 in a Series of Patients in Metropolitan Detroit. *JAMA Netw Open.* 2020;3(6):e2012270.

28. Ortiz-Brizuela E, Villanueva-Reza M, González-Lara MF, Tamez-Torres KM, Román-Montes CM, Díaz-Mejía BA, et al. Clinical and epidemiological characteristics of patients diagnosed with COVID-19 in a tertiary care center in Mexico City: a prospective cohort

study. *Rev Invest Clin.* 2020;72(3):165-177.

29. Pranata R, Lim MA, Yonas E, Vania R, Lukito AA, Siswanto BB, Meyer M. Body Mass Index and Outcome in Patients with COVID-19: A Dose-Response Meta-Analysis. *Diabetes Metab.* 2020 Jul 29:S1262-3636(20)30097-5.

30. Mollina-Salazar RE, Romero-Velázquez JR, Trejo-Rodríguez JA. Desarrollo económico y salud. *Salud Publica Mex* 1991;33:227-234.

31. BBC News Mundo. Vacuna contra la covid-19: qué vacunas están más avanzadas en la carrera por combatir el coronavirus (y por qué aún queda un largo camino).

<https://www.bbc.com/mundo/noticias-53487188>



32. Alves SMC, Ramos EMB, Delduque MC. Lockdown by court order: an (un)necessary measure?. Decretação de lockdown pela via judicial: medida (des)necessária?. Cad Saude Publica. 2020;36(6):e00116020.
33. Ataguba OA, Ataguba JE. Social determinants of health: the role of effective communication in the COVID-19 pandemic in developing countries. Glob Health Action. 2020;13(1):1788263.
34. Borja-Aburto VH. Estudios ecológicos. Salud Pública Mex 2000;42(6): S33-S38.
35. Wikipedia. List of countries and dependencies by population. Disponible en: https://en.wikipedia.org/wiki/List_of_countries_and_dependencies_by_population#cite_note-52 Consultado 12-Julio-2020
36. Johns Hopkins University. Coronavirus Resource Center. COVID-19 Dashboard by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at Johns Hopkins University. Disponible en: <https://coronavirus.jhu.edu/map.html> Consultado 12-Julio-2020.
37. Moreno-Altamirano A, López-Moreno S, Corcho-Berdugo A. Principales medidas en epidemiología. Salud Pública Mex 2000;42(4):337-348.
38. United Nations Development Programme. Human Development Report 2019. Beyond income, beyond averages, beyond today: Inequalities in human development in the 21st century. Technical notes. Disponible en:



http://hdr.undp.org/sites/default/files/hdr2019_technical_notes.pdf Consultado 21-Julio-2020.

39. Organisation for Economic Co-operation and Development, OECD Statistics, National Accounts, PPPs and exchanges rates. Available at: https://stats.oecd.org/index.aspx?DataSetCode=SNA_Table4 [access date Marzo 16, 2021].

40. United Nations Development Programme. Human Development Index (HDI). Disponible en: <http://hdr.undp.org/en/content/human-development-index-hdi> Consultado 21-Julio-2020c.

41. United Nations Development Programme. Human Development Report 2019. Disponible en:

<http://hdr.undp.org/en> Consultado 14-Julio-2020b.

42. World Health Organization. The Global Health Observatory. Prevalence of obesity among adults, BMI ≥ 30 (crude estimate) (%). Disponible en: [https://www.who.int/data/gho/data/indicators/indicator-details/GHO/prevalence-of-obesity-among-adults-bmi-30-\(crude-estimate\)-\(-\)](https://www.who.int/data/gho/data/indicators/indicator-details/GHO/prevalence-of-obesity-among-adults-bmi-30-(crude-estimate)-(-)) (accessed on 14 Julio 2020).

43. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128·9 million children, adolescents, and adults. *Lancet*. 2017;390(10113):2627-2642.



44. Grupo Banco Mundial. Federación Internacional de Diabetes, Atlas de la Diabetes. Prevalencia de la diabetes (% de la población de 20 a 79 años). Disponible en: <https://datos.bancomundial.org/indicador/SH.STA.DIAB.ZS> Consultado 22-Julio-2020.
45. Statista. Rate of coronavirus (COVID-19) tests performed in the most impacted countries worldwide as of July 20, 2020 (per million population). 2020 <https://www.statista.com/statistics/1104645/covid19-testing-rate-select-countries-worldwide/> Consultado 21-Julio-2020.
46. Liu T, Liang W, Zhong H, He J, Chen Z, He G, et al. Risk factors associated with COVID-19 infection: a retrospective cohort study based on contacts tracing. *Emerg Microbes Infect.* 2020;9(1):1546-1553.
47. Jing QL, Liu MJ, Zhang ZB, Fang LQ, Yuan J, Zhang AR, et al. Household secondary attack rate of COVID-19 and associated determinants in Guangzhou, China: a retrospective cohort study [published online ahead of print, 2020 Jun 17]. *Lancet Infect Dis.* 2020;S1473-3099(20)30471-0.
48. OECD. Beyond Containment: Health Systems Responses to Covid 19 In The Oecd 2020. April 16, 2020. Disponible en <https://www.oecd.org/coronavirus/en/policy-responses>. [Acesed 31 de julio 2020]
49. Amengual-Moreno M, Calafat-Caules M, Carot A, Rosa Correia AR, Río-Bergé C, Rovira Plujà J, Valenzuela Pascual C, Ventura-Gabarró C. Determinantes



sociales de la incidencia de la Covid-19 en Barcelona: un estudio ecológico preliminar usando datos públicos. Rev Esp Salud Pública. 2020; 94: 16 de septiembre e202009101.

50. Papadokostaki E, Tentolouris N, Liberopoulos E. COVID-19 and diabetes: What does the clinician need to know? Prim Care Diabetes. 2020;S1751-9918(20)30222-9.

51. Vila-Córcoles Á, Ochoa-Gondar O, TorrenteFraga C, Vila-Rovira Á, Satué-Gracia E, Hospital-Guardiola I, De Diego-Cabanes C, Gómez-Bertomeu F, Basora-Gallisà J. Evaluación de la incidencia y perfil de riesgo de Covid-19 según comorbilidad previa en adultos ≥ 50 años del área de Tarragona. Rev Esp Salud Pública. 2020; 94: e202006065



**ÍNDICE DE HÍGADO GRASO EN MUJERES ADULTAS DEL ESTADO
CARABOBO, VENEZUELA. ASOCIACIÓN CON SÍNDROME METABÓLICO Y
RIESGO CARDIOMETABÓLICO.**

Nelina Ruiz-Fernández^{1,2}, Doris Nobrega³

- 1. Departamento de Morfofisiopatología. Escuela de Bioanálisis, sede Carabobo. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Carabobo. Venezuela. E-mail: nruiz@uc.edu.ve. ORCID: [0000-0001-6047-4417](https://orcid.org/0000-0001-6047-4417)**
- 2. Instituto de Investigaciones en Nutrición (INVESNUT). Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Carabobo. Venezuela.**
- 3. Departamento de Ciencias Básicas. Escuela de Bioanálisis, sede Carabobo. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Carabobo. Venezuela. E-mail: dmnobrega@uc.edu.ve. ORCID: [0000-0001-8113-1683](https://orcid.org/0000-0001-8113-1683)**

CORRESPONDENCIA: Nelina Ruíz-Fernández, Calle acuario (88-20, Urb. Trigal Norte, Valencia, Estado Carabobo, Venezuela. Teléfono: +582418426674.

E-mail: nruiz@uc.edu.ve

RESUMEN

El índice de hígado graso (IHG) es un buen predictor de la presencia de esteatosis hepática. evaluar el IHG y su asociación con síndrome metabólico (SM), componentes individuales del SM, riesgo cardiometabólico (RCM) y factores de riesgo cardiometabólico no integrados en la



definición de SM, en un grupo de mujeres adultas venezolanas. Estudio transversal en 114 mujeres adultas del Estado Carabobo, Venezuela. Se midió presión arterial, indicadores antropométricos y bioquímicos de RCM. Se calculó el IHG y el índice cardiometabólico (ICMet) como indicador de RCM. Se estableció el SM, sus componentes individuales y el riesgo cardiovascular según puntaje de Framingham. El 21,9% de las mujeres presentaron IHG alto (≥ 60). En comparación con el grupo de mujeres con IHG bajo (< 30), las mujeres con IHG ≥ 60 mostraron valores significativamente superiores de colesterol total (CT), colesterol-LDL, colesterol noHDL, triglicéridos (TGL), ácido úrico, índice CT/colesterol-HDL, índice colesterol-LDL/colesterol-HDL, índice TGL/colesterol-HDL, ICMet, puntaje de Framingham y riesgo cardiovascular. El riesgo de IHG alto se asoció a obesidad central, hipertrigliceridemia, presión arterial elevada, glicemia alterada, RCM elevado y riesgo cardiovascular medio-alto; al ajustar por edad, condición de posmenopausia y concentración de CT, apareció asociado con el SM y se mantuvo su asociación con presión arterial elevada, número de componentes individuales de SM y RCM elevado. Resultados similares se encontraron para IHG intermedio (30-59). El IHG se asoció a SM, elevado RCM y a otros factores de riesgo cardiometabólico. Las mujeres con IHG ≥ 30 deben ser monitoreadas.

PALABRAS CLAVE: Hígado graso; Síndrome metabólico; Factores de riesgo; Enfermedades cardiovasculares.



**FATTY LIVER INDEX IN ADULT WOMEN OF CARABOBO STATE,
VENEZUELA. ITS ASSOCIATION WITH METABOLIC SYNDROME AND
CARDIOMETABOLIC RISK.**

ABSTRACT

The Fatty Liver Index (FLI) is a good predictor for the presence of hepatic steatosis. to evaluate the FLI and its association with metabolic syndrome (MS), individual components of MS, cardiometabolic risk (CMR) and cardiometabolic risk factors not integrated in the unified definition of MS, in a group of Venezuelan adult women. A cross-sectional study in 114 adult women from Carabobo State, Venezuela. Blood pressure, anthropometric parameters and biochemical markers of CMR were measured. The FLI and the cardiometabolic index (CMetI) as an indicator of CMR were calculated. SM, its individual components and cardiovascular risk according to Framingham score were established. 21.9% of the women showed high FLI (≥ 60). In comparison with the group of women in low IHG (< 30), women with IHG ≥ 60 showed significantly higher values of total cholesterol (TC), LDL-cholesterol, non-HDL cholesterol, triglycerides (TGL), uric acid, TC/cholesterol-HDL ratio, LDL-cholesterol/HDL-cholesterol ratio, TGL/HDL-cholesterol ratio, CMetI, Framingham score and cardiovascular risk. The risk of high FLI was associated with central obesity, hypertriglyceridemia, elevated blood pressure, impaired glycemia, elevated CMR and medium-high cardiovascular risk; when adjusting for age, postmenopausal condition and TC, it appeared associated with MS and its association with high blood pressure, number of individual components of MS and elevated CMR was maintained. Similar results were found for intermediate values of FLI (30-59). In adult women,



the FLI was associated with MS, elevated CMR and other cardiometabolic risk factors. Women with an IHG ≥ 30 should be followed up.

KEYWORDS: Fatty liver; Non-alcoholic fatty liver disease; Metabolic syndrome; Risk factors; Cardiovascular diseases.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad por hígado graso no alcohólico (EHGNA) es una patología compleja y multifactorial definida por la presencia de esteatosis o exceso de grasa en más del 5% de los hepatocitos de acuerdo a análisis histológicos. Comprende un espectro de condiciones patológicas, desde esteatosis simple hasta esteatohepatitis no alcohólica, con o sin cirrosis y carcinoma hepatocelular. El consumo excesivo de alcohol (> 20 g/día en mujeres o > 30 g/día en hombres) excluye EHGNA(1). Younossi et al.(2) han establecido que su prevalencia global es de 25%, siendo Suramérica (30%) y Medio Oriente las regiones más afectadas (32%). Los

individuos portadores de factores de riesgo como sobrepeso/obesidad central, dislipidemia aterogénica, insulinoresistencia, presión arterial elevada y diabetes mellitus tipo 2, todos ellos asociados conceptualmente en lo que se conoce como síndrome metabólico (SM), exhiben alto riesgo de EHGNA(3).

La EHGNA es una de las principales causas de enfermedad hepática crónica en todo el mundo, pero además contribuye a elevar el riesgo cardiometabólico (RCM) al incrementar el riesgo de desarrollo de hipertensión, diabetes mellitus tipo 2 y enfermedad cardiovascular(4). La principal causa de muerte de los pacientes con EHGNA son los eventos



cardiovasculares(5). Por ser una entidad de amplio espectro clínico, radiológico y anatomopatológico, su detección depende tanto de la metodología diagnóstica utilizada como de la población estudiada. Los métodos diagnósticos más utilizados son: ecografía abdominal, espectroscopía por resonancia magnética nuclear, medición de enzimas hepáticas y biopsia hepática que se considera el “gold standard”(3). Ahora bien, para restringir la realización de biopsias hepáticas así como el uso de estudios imagenológicos, se han diseñado varios índices predictivos de EHGNA que emplean parámetros antropométricos, clínicos y bioquímicos de uso rutinario, entre ellos, uno de los más conocidos por sus siglas en inglés, es el Fatty Liver Index (FLI)(6). El FLI o Índice de Hígado Graso (IHG) desarrollado por Bedogni et al.(6) es un indicador simple y preciso para evaluar

esteatosis hepática no alcohólica (hígado graso no alcohólico) en la población general, reportándose como el de mejor valor predictivo para EHGNA diagnosticada ultrasonográficamente, con grandes ventajas en cuanto a costos y accesibilidad(7).

Empleando ultrasonido hepático se ha informado una frecuencia de EHGNA del 50% en un grupo de obesos del estado de Mérida, Venezuela(8). Sin embargo, la revisión de la literatura revela que no se tienen datos de la aplicación del IHG en la población venezolana, desconociéndose la posible frecuencia de EHGNA a través de dicho índice. Considerando todo lo anteriormente planteado, el presente estudio tuvo como propósito principal evaluar el IHG y su asociación con SM, componentes individuales del mismo y RCM en un grupo de mujeres adultas del Estado Carabobo,



Venezuela. Adicionalmente, se exploró su asociación con factores de riesgo cardiometabólico individuales no integrados en la definición unificada de SM.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio descriptivo, correlacional y transversal, de muestreo no probabilístico e intencional, en el cual se incluyeron 114 mujeres adultas de un total de 168 que asistieron a jornadas de atención de salud y despistaje de enfermedades cardiovasculares que fueron organizadas en un centro público de salud del Municipio Naguanagua, Estado Carabobo-Venezuela y por la Iglesia Adventista del Séptimo Día en el Municipio Valencia, Estado Carabobo-Venezuela, entre julio 2015 y diciembre 2016. Los criterios de inclusión del estudio fueron: edad entre 18 y 65 años, aparentemente sana, sin síntomas de procesos infecciosos/inflamatorios agudos

y que contaran con todas las evaluaciones previstas.

Se excluyó del estudio toda mujer adulta que presentara uno o más de los siguientes criterios: antecedente personal de enfermedad cardiovascular, hipertensión no controlada, diagnóstico de cáncer, insuficiencia renal o hepática, cirugía o trauma mayor reciente, enfermedades autoinmunes/inflamatorias crónicas, depresión, enfermedad tiroidea o suprarrenal, bajo tratamiento con insulina, corticoides o psicotrópicos así como terapia de reemplazo hormonal, bajo régimen de pérdida de peso, embarazo o lactancia.

El protocolo de estudio fue aprobado por la Dirección del Centro Público de Salud del Municipio Naguanagua y por el Departamento de Salud de la Iglesia Adventista del 7mo día, Central de



Valencia-Venezuela, además contó con el aval institucional de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad de Carabobo. Se cumplieron los lineamientos expresados en el Código de Ética para la Vida de la República Bolivariana de Venezuela y en la Declaración de Helsinki en su última versión. Se solicitó consentimiento informado por escrito a todas las mujeres incluidas en el estudio, una vez explicados los objetivos y detalles del mismo, y se respondieron sus preguntas.

Se aplicó a cada participante un instrumento de recolección de datos para obtener información personal, antecedentes personales de enfermedades cardiometabólicas, datos biomédicos relevantes, hábito tabáquico, consumo de bebidas alcohólicas y tratamiento farmacológico.

Se realizó una evaluación antropométrica en la que se determinó el peso y la talla, usando una balanza previamente calibrada (Marca Health Meter, precisión= 0,1g) y una cinta métrica no extensible (precisión= 0,1cm) adosada a la pared, respectivamente. Además, se midió la circunferencia de cintura (CC), utilizando una cinta métrica, entre la cresta iliaca y el último arco costal, con el sujeto en bipedestación al final de la espiración no forzada. Las mediciones se realizaron sin zapatos y con ropa mínima. El IMC se calculó a partir de la relación peso (Kg)/ talla (m²). Las mujeres estudiadas se ubicaron en tres categorías: normopeso, sobrepeso y obesidad según IMC(9). Se definió obesidad abdominal cuando la CC fue ≥ 80 cm(10).

La presión arterial (PA) se determinó empleando el método auscultatorio, con un esfigmomanómetro de mercurio calibrado



siguiendo las recomendaciones internacionales, con tres (03) tomas de la PA en posición sentada, separadas por intervalos de 5 minutos entre cada toma y se registró el promedio de los tres valores. Se definieron como diagnóstico de hipertensión arterial (HTA) cifras de presión arterial sistólica (PAS) > 140 mmHg y/o de presión arterial diastólica (PAD) > 90 mmHg para el momento del examen y/o cuando la paciente refirió tratamiento hipotensor (11).

Previo ayuno de 12 horas, se extrajeron 10 mL de sangre venosa en el pliegue del codo. Se determinaron niveles séricos de colesterol total (CT), colesterol-HDL (HDLc) (previa precipitación), triglicéridos (TGL), glicemia y ácido úrico (AU) mediante métodos enzimáticos-colorimétricos. El colesterol-LDL (LDLc) se estimó empleando la conocida fórmula

de Friedewald. Las enzimas hepáticas Transaminasa Glutámico Oxalacética (TGO), Transaminasa Glutámico Pirúvica (TGP) y Gamma Glutamil Transpeptidasa (GGT) se determinaron por métodos cinéticos. Se calculó la relación TGO/TGP. Todas las mediciones se realizaron en forma manual utilizando un espectrofotómetro OMEGA IV. Se calcularon los índices aterogénicos de riesgo cardiovascular CT/HDLc y LDLc/HDLc, la relación TGL/HDLc y el colesterol no HDL (ColnoHDL = CT-HDLc). Los criterios diagnósticos aplicados fueron los siguientes: CT elevado > 200 mg/dL(12); LDLc elevada > 130 mg/dL(12); índice CT/HDLc elevada > 4,5(13); índice LDLc/HDLc elevada > 3,0(13); relación TGL/HDLc elevada > 3,5(14) y colesterol no HDL elevado \geq 130 mg/dL(15).



También se determinó el Índice Cardiometabólico (ICMet) propuesto por Wakabayashi y Daimon⁽¹⁶⁾, como el producto de la relación TGL/HDLc y el índice CC/talla. Considerando que por el momento no existen puntos de corte para ICMet, se calculó el percentil 85 de este índice en la muestra estudiada. Participantes con valores iguales o mayores de dicho percentil, fueron consideradas en elevado RCM. Adicionalmente se estableció el riesgo de desarrollar un evento cardiovascular en 10 años a través del puntaje de Framingham, aplicando el modelo simplificado propuesto por Wilson et al.⁽¹⁷⁾. Las pacientes fueron clasificadas en riesgo cardiovascular bajo cuando el puntaje < 10%, en riesgo moderado entre 10 y 20 % y en riesgo alto cuando fue superior a 20%(17).

La presencia de Síndrome Metabólico (SM) se estableció según definición armonizada o unificada (10). Se definió diabetes de acuerdo al criterio de la American Diabetes Association(18). El IHG (FLI, *Fatty Liver Index*) fue aplicado como indicador predictor de la presencia de estosis hepática o hígado graso no alcohólico (HGNA), sin requerir estudios ultrasonográficos. Este índice fue calculado aplicando la ecuación diseñada por Bedogni et al.⁽⁶⁾ que considera las cifras de TGL, IMC, GGT y CC. Sus valores oscilan entre 0 y 100. Las participantes fueron clasificadas en tres grupos de acuerdo al IHG: valores < 30 o IHG bajo se definieron como ausencia de HGNA (sensibilidad del 87% y likelihood ratio negativa = 0,2), valores \geq 60 o IHG alto se definieron como presencia de HGNA (especificidad del 86% y likelihood ratio positiva = 4,3), las



pacientes con valores comprendidos entre 30-59 se definieron como IHG intermedio(6). Se calcularon estadísticos descriptivos de tendencia central y dispersión, mediana y rango intercuartílico, frecuencias absolutas y relativas. Se verificó la distribución normal de las variables estudiadas mediante test de Kolmogorov-Smirnov. Se empleó el análisis de varianza de una sola vía (ANOVA) y la Prueba de Kruskal Wallis, según el caso, para detectar si existieron diferencias en las variables estudiadas según IHG y las pruebas de Bonferroni y U de Mann Whitney como test post hoc para comparar las categorías de IHG entre sí. Se aplicó la prueba de Chi cuadrado para asociar la frecuencia de factores de riesgo cardiometabólico, índice cardiometabólico elevado y riesgo cardiovascular de Framingham al IHG. Mediante análisis de

regresión logística (con o sin ajuste por edad, posmenopausia y concentración de CT), se estimaron para las categorías intermedia y alta del IHG las razones de oportunidad u odds ratios (OR) asociados a SM, componentes y número de componentes individuales de SM, y elevación del ICMet y del riesgo cardiovascular para diez años. Se empleó el método de selección por pasos hacia delante para la introducción/remoción de las variables en el modelo de regresión. Se consideró un nivel de significancia de $p < 0,05$. Se empleó el software Statistical Package for the Social Sciences (IBM SPSS Statistics, SPSS, Chicago, IL, USA) en su versión 20.0.0 para Windows.

RESULTADOS

La muestra estudiada (n=114) presentó una edad media de $42,1 \pm 12,3$ años, ubicándose 51,8% de las mujeres en el grupo etario de

42 o más años y 31,3% fueron posmenopáusicas. Según IMC, 46,5% de las mujeres presentaron exceso de peso (21,9% sobrepeso y 24,6% obesidad). Al momento de la evaluación solo dos mujeres se diagnosticaron como diabéticas según glicemia en ayunas, mientras que 30,7% fue hipertensa. Se registró que 1,8% y 27,2% de las mujeres recibían tratamiento hipoglicemiante y tratamiento hipotensor, respectivamente. El consumo de alcohol fue informado por 32,5% de las mujeres estudiadas, quienes indicaron en su totalidad mantener una ingesta ocasional (una o menos veces a la semana),

relacionada a eventos sociales y consistente en 1-2 bebidas/ocasión. El habito tabáquico fue registrado en 15,8% de las mujeres.

En el grupo total, la mediana del IHG fue 23,77 (9,34-47,30) y 21,9% de las mujeres presentaron un $IHG \geq 60$. La Figura 1 muestra la distribución del índice según grupo etario, observándose una asociación significativa entre IHG y edad ($p= 0,001$), donde las mujeres de 42 o más años mostraron mayor frecuencia de IHG intermedio y alto.

La mayoría de las variables estudiadas mostraron variación significativa de acuerdo a las categorías de IHG (tabla 1).

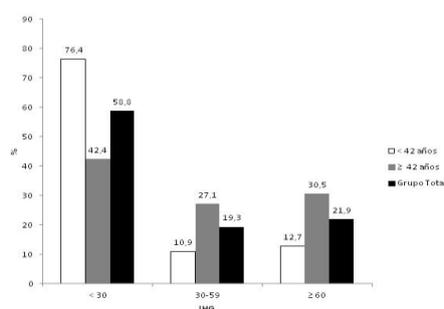


Figura 1. Distribución del índice de hígado graso en la muestra total y según grupo etario. Porcentajes calculados con base al número total de mujeres en la muestra y en cada grupo etario. n= 114. IHG: índice de hígado graso.

Tabla 1. Variables antropométricas, clínicas, bioquímicas y puntajes de riesgo de acuerdo al Índice de Hígado Graso.

Variable	Grupo total (n=114)	IHG			p ^a
		< 30 (n= 67)	30-59 (n= 22)	≥ 60 (n= 25)	
Edad (años)	42,1±12,3	37,9±12,3	45,7±7,3**	50,0±10,8***	< 0,001
Peso (Kg)	63,4 (55,8-72,1)	58,0 (51,2-62,5)	66,7 (63,2-71,0)***	81,7 (75,1-99,8)***	< 0,001
Talla (m)	1,60 (1,55-1,64)	1,61 (1,56-1,65)	1,57 (1,54-1,63)	1,60 (1,52-1,63)	0,088
IMC (Kg/m ²)	24,6 (21,5-29,9)	21,9 (20,8-24,4)	26,2 (24,7-28,7)***	32,3 (30,8-37,3)***	< 0,001
CC (cm)	87,1±13,3	79,8±8,5	89,6±6,5***	104,4±11,4***	< 0,001
PAS (mmHg)	110,0 (100,0-122,2)	109,0 (100,0-113,0)	115,5 (107,8-122,2)**	127,0 (109,5-137,0)***	< 0,001
PAD (mmHg)	70,0 (63,8-80,0)	70,0 (61,0-78,0)	78,5 (70,0-80,2)**	80,0 (69,5-90,0)**	< 0,001
Glicemia (mg/dL)	82,0 (74,0-89,6)	81,0 (71,9-86,0)	84,0 (75,0-89,6)	89,0 (78,5-98,0)**	0,001
CT (mg/dL)	175,3±44,0	160,8±35,2	188,8±41,9*	202,2±51,6***	< 0,001
HDLc (mg/dL)	40,0 (33,0-47,0)	41,6 (33,0-47,0)	37,3 (32,0-43,2)	38,2 (32,4-47,6)	0,630
LDLc (mg/dL)	111,7 (85,9-145,1)	98,8 (83,0-118,6)	137,0 (102,1-154,4)**	143,0 (101,4-167,4)**	0,001
ColnoHDL (mg/dL)	134,0±41,6	119,7±33,9	148,0±38,2*	160,1±47,2**	< 0,001
TGL (mg/dL)	76,5 (53,0-120,0)	60,0 (48,0-88,0)	82,5 (62,0-130,2)*	110,0 (81,5-166,8)***	< 0,001
AU (mg/dL)	3,2 (2,5-4,0)	2,82 (2,3-3,7)	3,1 (2,5-3,6)	4,0 (3,4-5,3)***	< 0,001
TGO (U/L)	18,0 (12,8-25,6)	18,0 (13,0-26,2)	20,2 (12,2-27,7)	16,3 (12,0-25,2)	0,712
TGP(UL)	17,6 (11,1-26,5)	16,0 (11,0-23,5)	20,3 (12,4-27,0)	19,3 (10,9-29,6)	0,429
Índice TGO/TGP	1,09 (0,85-1,27)	1,11 (0,90-1,37)	1,03 (0,78-1,20)	0,98 (0,78-1,16)	0,083
GGT (U/L)	13,6 (8,5-20,0)	10,7 (7,4-17,0)	17,2 (11,8-25,2)**	16,4 (12,4-31,0)**	< 0,001
Índice CT/HDLc	4,2 (3,4-4,9)	3,8 (3,2-4,6)	4,5 (3,8-5,8)*	4,8 (4,0-5,5)**	0,002
Índice LDLc/HDLc	2,7 (2,1-3,4)	2,4 (1,9-3,2)	3,0 (2,3-4,3)*	2,9 (2,4-3,8)**	0,013
Índice TGL/HDLc	1,9 (1,3-3,1)	1,6 (1,2-2,3)	2,0 (1,5-3,4)*	2,7 (2,2-4,1)***	< 0,001
ICMet	1,04 (0,63-1,73)	0,80 (0,54-1,14)	1,13 (0,9-2,0)**	2,0 (1,39-2,54)***	< 0,001
Puntaje de Framingham	1,0 (-9,0-8,0)	-6,0 (-11,0-4,0)	2,5 (-1,0-10,0)**	8,0 (3,0-10,5)***	< 0,001
Riesgo de Framingham para 10 años (%)	2,0 (1,0-7,0)	1,0 (1,0-4,0)	3,0 (1,8-10,0)**	5,0 (2,5-10,0)***	< 0,001

Los datos son expresados como Media ± Desviación Estándar o Mediana (Rango intercuartílico). ^a p asociada a Prueba de Kruskal Wallis o Análisis de Varianza, según el caso.

* p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001 para comparación IHG ≥ 60 vs. <30, Prueba post-hoc de Bonferroni o U Mann Whitney, según el caso.

* p<0,05, ** p<0,01, ***p<0,001 para comparación IHG ≥ 60 vs. 30-59, Prueba post-hoc de Bonferroni o U Mann Whitney, según el caso.

IHG = Índice de Hígado Graso; IMC = Índice de Masa Corporal; CC = Circunferencia de Cintura; PAS = Presión Arterial Sistólica, PAD = Presión Arterial Diastólica; CT = Colesterol Total; HDLc = Colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad; LDLc = Colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad; ColnoHDL = colesterol no HDL. TGL = Triglicéridos; AU = Ácido Úrico; TGO = Transaminasa glutámico oxalacética; TGP = Transaminasa Glutámico Pirúvica; GGT = Gamma glutamil transpeptidasa; ICMet = Índice Cardiometaabólico.

Se encontraron valores estadísticamente superiores de edad, peso, IMC, CC, PAS, PAD, glicemia, CT, LDLc, ColnoHDL, TGL, AU, índice TGO/TGP, GGT, índice

CT/HDLc, índice LDLc/HDLc, índice TGL/HDLc, ICMet, puntaje de



Framingham y riesgo de Framingham para 10 años en el grupo de pacientes que mostraron un

IHG ≥ 60 , respecto del grupo con IHG < 30 .

En general, el grupo de mujeres con IHG= 30-59 presentó diferencias similares al contrastarlas con aquellas que mostraron un IHG < 30 . Cuando se compararon los grupos de IHG alto versus IHG intermedio, el primero mostró cifras significativamente superiores de peso, IMC, CC, PAS, TGL, AU e ICMet,

La distribución de la frecuencia de factores cardiometabólicos, de RCM elevado y riesgo cardiovascular para 10 años en la muestra total y según categorías del IHG se muestra en la Tabla 2. Se encontró una asociación estadísticamente significativa entre la elevación de IHG y CC elevada, TGL elevados, PA elevada y glicemia alterada. También el número de

componentes individuales de SM presentes se encontró asociado con el IHG. La frecuencia de mujeres con SM, RCM elevado según ICMet y riesgo cardiovascular medio y alto para 10 años según puntaje de Framingham fue estadísticamente mayor al incrementarse el IHG. La frecuencia de HTA, CT elevado, LDLc elevado, índice TGL/HDLc elevado y ColnoHDL alto se asoció a la elevación de IHG.

El análisis de regresión logística sin ajuste demostró que los OR para IHG ≥ 60 fueron significativamente más elevados para las pacientes con obesidad central, hipertrigliceridemia, elevación de la presión arterial, glicemia alterada, RCM elevado y riesgo cardiovascular medio-alto; los OR también se incrementaron a medida que aumentó el número de componentes individuales de SM presentes (Tabla 3). Al



ajustar por edad, condición de posmenopausia y concentración de CT, el IHG apareció asociado con el SM y además se mantuvo su asociación con la presión arterial elevada, número de componentes individuales de SM y RCM elevado.

De forma similar, para el IHG entre 30-59 (intermedio) se encontraron OR significativamente elevados entre las mujeres con CC elevada, presión arterial elevada y riesgo cardiovascular medio-alto, incrementándose al aumentar el número de componentes individuales de SM presentes; el SM también tendió a asociarse a IHG intermedio (Tabla 3). Al ajustar por edad, condición de posmenopausia y concentración de CT, solo se mantuvo significativa la asociación con el riesgo cardiovascular medio-alto.

DISCUSIÓN

Esta investigación tuvo como propósito fundamental evaluar el IHG como indicador de HGNA y su relación con SM y RCM en un grupo de mujeres adultas del Estado Carabobo. Se encontró que 21,9% de las mujeres presentaron un $IHG \geq 60$. Tal frecuencia coincide con la prevalencia reportada para EHGNA en población hispánica y en países occidentales, la cual oscila entre 20 y 30%(3) aunque menor a lo estimado en Suramérica(2). También nuestra frecuencia fue más baja en comparación con lo antes registrado en el Estado Mérida-Venezuela(8), lo cual puede ser explicado por dos condiciones, una relacionada al hecho de que se trató de un grupo de obesos en su totalidad y otra concerniente al método de diagnóstico empleado.

Arshad et al.(19) encontraron que la frecuencia de EGHNA entre 2007-2014 fue



24,4% en mujeres adultas estadounidenses, siendo más elevada para las féminas mayores de 44 de años, hallazgo que coincide con la asociación entre IHG y edad observada en el presente estudio. El sexo femenino no se considera un factor de riesgo para EHGNA ya que los estrógenos desempeñan un papel protector, elevándose la prevalencia de la enfermedad después de la menopausia. Múltiples factores estarían implicados en ello, incluyendo alteraciones de la composición corporal, distribución de la grasa, alteraciones hormonales y metabólicas asociadas a la postmenopausia así como la enfermedad del ovario poliquístico(19). No obstante es probable que el exceso de peso y la desregulación metabólica que le acompaña sean los mayores factores que expliquen la asociación entre IHG y edad, en este sentido, en esta investigación tanto el

sobrepeso/obesidad como el SM se asociaron significativamente a la edad (datos no mostrados).

En las mujeres participantes de este estudio, valores de $IHG \geq 60$ se asociaron a presencia de SM, a cuatro de sus componentes individuales y al número de componentes presentes. Estos hallazgos son consistentes con los reportados por otros autores(20-22) aplicando el IHG u otros métodos diagnósticos. En este orden de ideas, Cheng et al.(23) concluyeron que el IHG es un indicador útil para reconocer SM en individuos con y sin EHGNA.

Al evaluar los componentes individuales del SM en asociación a la elevación del IHG, se observó que los OR más elevados se correspondieron con la obesidad central y la hipertrigliceridemia, hecho que se explica en parte por la interacción de CC y TGL, variables incluidas en la ecuación de



cálculo del IHG, con el factor independiente (IHG). Excluyendo la obesidad central y la hipertrigliceridemia, la glicemia alterada fue el componente del SM no involucrado en dicha ecuación que mostró el mayor OR para $IHG \geq 60$, seguida de la presión arterial elevada que incluso también se asoció significativamente a IHG entre 30 y 59 (intermedio), mientras que la disminución del HDLc no se identificó como un factor asociado a la elevación de IHG, hallazgo que Caballería et al.(20) previamente informaron en españoles, aunque otros investigadores(22) si han demostrado tal asociación.

La relación entre EHGNA y SM es compleja y probablemente bidireccional. En principio, se entendió la EHGNA como la manifestación o componente hepático del SM, sin embargo, hoy por hoy, colectivamente la literatura apunta más bien

a que la EHGNA puede ser precursora/causa pero también consecuencia del SM, generándose un círculo vicioso donde la insulinoresistencia tendría un papel patogénico aunque no suficiente para el desarrollo de la EHGNA, participando también factores ambientales (dieta hipocalórica, sedentarismo, tabaquismo), el background genético/epigenético predisponente y disbiosis de la microbiota intestinal(4,24). Dentro de esa relación bidireccional, precisamente sobresalen aquellos componentes individuales que esta investigación evidenció con mayor asociación a IHG elevado, la glicemia y presión arterial alterada. Asimismo, la frecuencia de HTA se incrementó significativamente al elevarse el IGH. Evidencias clínicas y experimentales sugieren que la EHGNA puede preceder y/o



promover el desarrollo de la HTA, la diabetes mellitus tipo 2 y la enfermedad cardiovascular (ECV) a través de un conjunto de mediadores proinflamatorios, proaterogénicos, profibrinogénicos y oxidativos(4,24).

En línea con ese cuerpo de evidencias antes mencionado(4), se evidenció una asociación significativa entre IHG alto y RCM elevado según ICMet y entre IHG alto y riesgo cardiovascular medio-alto para 10 años según puntaje de Framingham. Previamente, Gastaldelli et al. (25) demostraron que valores elevados de IHG en población caucásica europea estuvieron asociados a mayor puntuación de riesgo de Framingham y aumento del grosor de la íntima media carotídea. Por su parte, Hong et al.(26) probaron en un grupo de pacientes sin ECV que la EHGNA y el SM tuvieron un impacto sinérgico sobre marcadores de

aterosclerosis subclínica. Olubanwo et al.(27) informaron que el IHG fue capaz de predecir la incidencia de ECV en hombres, independientemente de factores metabólicos y de otra índole.

Interesantemente, el estudio de Olubanwo et al. (27) también mostró que los valores intermedios de IHG (entre 30-59) fueron igualmente asociados a la incidencia de ECV, sugiriendo que los individuos con IHG intermedio igualmente están en mayor riesgo cardiovascular. Tal evidencia es concordante con observaciones registradas en el presente trabajo, donde el OR para riesgo cardiovascular medio-alto, con y sin ajuste por covariables, fue significativamente elevado en grupo de mujeres que presentó IHG entre 30-59. Además, los valores intermedios de IHG se asociaron a CC elevada y presión arterial elevada; también tendieron a asociarse al



SM. En conjunto nuestros resultados tienen importantes implicaciones para las estrategias de monitoreo y seguimiento de la salud cardiometabólica, sugiriendo que no solo las mujeres con IHG alto deben ser vigiladas. Las mujeres con $IHG \geq 30$ deberán ser orientadas a la adopción de medidas preventivas o correctivas (según el caso) dirigidas a mejorar su pronóstico relacionado a la evolución de la enfermedad hepática en sí misma y al desarrollo de enfermedades cardiometabólicas.

El objetivo secundario de este estudio fue evaluar la asociación del IHG con otros factores de riesgo cardiometabólico individuales no integrados en la definición unificada de SM. Al aumentar el IHG la concentración de CT, LDLc, ColnoHDL y los índices CT/HDLc, LDLc/HDLc y TGL/HDLc se incrementaron significativamente, adicionalmente la

frecuencia de CT elevado, LDLc elevado, índice TGL/HDLc elevado y ColnoHDL alto se asoció a la elevación de IHG. Estos hallazgos se corresponden con los obtenidos por otros estudios (28-30) y confirman que no solo la dislipidemia aterogénica recogida en los criterios de SM condicionaría el alto RCM en el cual se encuentran las mujeres con aumento del IHG. La elevación de la relación TGL/HDLc fue esperada puesto que este índice constituye un marcador sucedáneo de insulinoresistencia(14) que, como ya se mencionó, está inmersa en la patogénesis de la EHGNA. Por su parte, el ColnoHDL es un factor bien establecido de riesgo cardiovascular que mide la concentración de las lipoproteínas aterogénicas que contienen apolipoproteína B (LDL, VLDL, IDL, quilomicrones y Lp(a)), su aumento predice el inicio de la EHGNA en la



población general y reflejaría una desregulación de la homeostasis del colesterol(31).

Por último, aunque manteniéndose dentro de los límites normales, las concentraciones de AU fueron significativamente superiores entre las mujeres con aumento del IHG. Anteriormente, la relación entre valores normales de AU y la presencia de EHGNA (diagnosticada por ultrasonografía) fue informada por otros autores(32), demostrando incluso una asociación más fuerte entre mujeres. Un reciente meta-análisis concluyó que los niveles elevados de AU se asocian independientemente con la ocurrencia EHGNA, donde la disfunción endotelial, el estrés oxidativo, la insulinoresistencia y la inflamación serían los mecanismos mediadores(33).

Es necesario indicar que la presente investigación presenta varias limitaciones

derivadas de aspectos metodológicos. Se trató de un estudio de corte transversal en el cual no es posible dilucidar relaciones de causa-efecto. En segundo lugar, el IHG no es una medida directa de la acumulación de grasas en los hepatocitos, por lo que podría existir sub o sobrestimación de la condición de HGNA. En tercer lugar, el tamaño muestral del estudio es pequeño por lo que sus resultados no pueden ser extrapolados a la población general, aunque los mecanismos biológicos que explican los mismos son plausibles. En cuarto lugar, el autoreporte del consumo de alcohol y hábito tabáquico frecuentemente está sujeto a subestimación.

Los hallazgos del presente estudio permiten concluir que, de acuerdo al IHG, la EHGNA fue prevalente en el grupo de mujeres estudiadas. El incremento de IHG se asoció al SM, a elevado RCM y a factores de RCM



individuales no integrados en la definición unificada de SM. Exceptuando la obesidad central y la hipertrigliceridemia, la glicemia y la presión arterial alterada resultaron los componentes del SM más fuertemente asociados al IHG. Los resultados indican que las mujeres con $IHG \geq 30$ deben ser sometidas a seguimiento e incluidas en programas de salud cardiometabólica. Estudios prospectivos deben confirmar los resultados de este estudio.

AGRADECIMIENTOS

A la Agencia Adventista de Desarrollo y Recursos Asistenciales (ADRA), en especial al personal integrante del Departamento de Salud de la Iglesia Adventista del Séptimo Día, Central de Valencia-Carabobo, Venezuela quienes facilitaron materialmente la logística y espacio necesario para realizar las sesiones de despistaje previstas.

Al personal directivo, médico y de enfermería del Ambulatorio Dr. Miguel Franco por su apoyo y colaboración durante las jornadas de despistaje realizadas.

REFERENCIAS

1. European Association for the Study of the Liver (EASL); European Association for the Study of Diabetes (EASD); European Association for the Study of Obesity (EASO). EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2016;64(6):1388-1402.
2. Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology* 2016;64(1):73-84.



3. Castro L, Silva G. Hígado graso no alcohólico. Rev Med Clin Condes 2015;26(5):600-612.
4. Lonardo A, Nascimbeni F, Mantovani A, Targher G. Hypertension, diabetes, atherosclerosis and NASH: Cause or consequence? J Hepatol 2018;68(2):335-352.
5. Bhatia LS, Curzen NP, Calder PC, Byrne CD. Non-alcoholic fatty liver disease: a new and important cardiovascular risk factor? Eur Heart J 2012;33(10):1190-200.
6. Bedogni G, Ballentani S, Miglioli L, Masutti F, Passalacqua M, Castiglione A, et al. The Fatty Liver Index: a simple and accurate predictor of hepatic steatosis in the general population. BMC Gastroenterology 2006;6:33.
7. Zhu J, He M, Zhang Y, Li T, Liu Y, Xu Z, et al. Validation of simple indexes for nonalcoholic fatty liver disease in western China: a retrospective cross-sectional study. Endocr J 2018;65(3):373-381.
8. Gaviria G, Uzcátegui L, Gómez R, Uzcátegui E, Baptista T, Martínez D, et al. Frecuencia de hígado graso no alcohólico en pacientes con síndrome metabólico: estudio poblacional en el Municipio Libertador del Estado Mérida. MedULA 2012;21(1):18-25.
9. Organización Mundial de la Salud. El Estado Físico: Uso e Interpretación de la Antropometría. WHO Technical Report Series, 854. Ginebra: World Health Organization; 1995. (Fecha de acceso: 18 de junio de 2020). Disponible en: [HYPERLINK "http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42132/WHO_TRS_854_spa.pdf;jsessionid=6FC4A30C4FE2956CF4B11829C1FF3B79?sequence=1.%20"](http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42132/WHO_TRS_854_spa.pdf;jsessionid=6FC4A30C4FE2956CF4B11829C1FF3B79?sequence=1.%20)



- http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42132/WHO_TRS_854_spape/df.jsessionid=6FC4A30C4FE2956CF4B11829C1FF3B79?sequence=1.
10. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation* 2009;120(16):1640-1645.
 11. Chobanian A, Bakris G, Black H, Cushman W, Green L, Izzo J, et al. The Seventh Report of the Joint National Committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure: the JNC 7 report. *JAMA* 2003;289(19):2560-2572.
 12. National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Final Report. *Circulation* 2002;106(25):3143-3421.
 13. Millán J, Pintó X, Muñoz A, Zúñiga M, Rubiés-Prat J, Pallardo LF, et al. Lipoprotein ratios: Physiological significance and clinical usefulness in cardiovascular prevention. *Vasc Health Risk Manag* 2009;5:757-765.



14. McLaughlin T, Reaven G, Abbasi F, Lamendola C, Saad M, Waters D, et al. Is there a simple way to identify insulin-resistant individuals at increased risk of cardiovascular disease? *Am J Cardiol* 2005;96(3):399-404.
15. Expert Dyslipidemia Panel, Grundy SM. An International Atherosclerosis Society Position Paper: global recommendations for the management of dyslipidemia. *J Clin Lipidol* 2013;7(6):561-565.
16. Wakabayashi I, Daimon T. The "cardiometabolic index" as a new marker determined by adiposity and blood lipids for discrimination of diabetes mellitus. *Clin Chim Acta* 2015;438:274-278.
17. Wilson P, D'Agostino R., Levy D, Belanger AM, Silbershatz H, Kannel W. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation* 1998;97(18):1837-1847.
18. American Diabetes Association. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2018. *Diabetes Care* 2018;41 Suppl1:S13-S27.
19. Arshad T, Golabi P, Paik J, Mishra A, Younossi ZM. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease in the female population. *Hepatol Commun* 2019;3(1):74-83.
20. Caballería L, Pera G, Auladell MA, Torán P, Muñoz L, Miranda D, et al. Prevalence and factors associated with the presence of nonalcoholic fatty liver disease in an adult population in Spain. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2010;22(1):24-32.



21. Lee SW, Lee TY, Yang SS, Peng YC, Yeh HZ, Chang CS. The association of non-alcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome in a Chinese population. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2017;16(2):176-180.
22. Van den Berg EH, Amini M, Schreuder TC, Dullaart RP, Faber KN, Alizadeh BZ, et al. Prevalence and determinants of non-alcoholic fatty liver disease in lifelines: A large Dutch population cohort. *PLoS One* 2017;12(2):e0171502.
23. Cheng YL, Wang YJ, Lan KH, Huo TI, Huang YH, Su CW, et al. Fatty liver index and lipid accumulation product can predict metabolic syndrome in subjects without fatty liver disease. *Gastroenterol Res Pract* 2017;2017:9279836.
24. Lim S, Taskinen MR, Borén J. Crosstalk between nonalcoholic fatty liver disease and cardiometabolic syndrome. *Obes Rev* 2019; 20(4):599-611.
25. Gastaldelli A, Kozakova M, Hojlund K, Flyvbjerg A, Favuzzi A, Mitrakou A, et al. Fatty liver is associated with insulin resistance, risk of coronary heart disease, and early atherosclerosis in a large European population. *Hepatology* 2009;49(5):1537-1544.
26. Hong H, Hwang S, Ryu J, Yoo H, Seo J, Kim S. The synergistic impact of nonalcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome on subclinical atherosclerosis. *Clin Endocrinol* 2016;84(2):203-209.
27. Olubamwo O, Virtanen J, Voutilainen A, Kauhanen J, Pihlajamäki J, Tuomainen TP. Association of fatty



- liver index with the risk of incident cardiovascular disease and acute myocardial infarction. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2018;30(9):1047-1054.
28. Wu KT, Kuo PL, Su SB, Chen YY, Yeh ML, Huang CI, et al. Nonalcoholic fatty liver disease severity is associated with the ratios of total cholesterol and triglycerides to high-density lipoprotein cholesterol. *J Clin Lipidol* 2016;10(2):420-425.e1.
29. Du T, Sun X, Yuan G, Zhou X, Lu H, Lin X, et al. Sex differences in the impact of nonalcoholic fatty liver disease on cardiovascular risk factors. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2017;27(1):63-69.
30. Peng K, Mo Z, Tian G. Serum Lipid Abnormalities and Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Adult Males. *Am J Med Sci* 2017;353(3):236-241.
31. Zelber-Sagi S, Salomone F, Yeshua H, Lotan R, Webb M, Halpern Z, et al. Non-high-density lipoprotein cholesterol independently predicts new onset of non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int* 2014;34(6):e128-135.
32. Hwang IC, Suh SY, Suh AR, Ahn HY. The relationship between normal serum uric acid and nonalcoholic fatty liver disease. *J Korean Med Sci* 2011;26(3):386-391.
33. Zhou Y, Wei F, Fan Y. High serum uric acid and risk of nonalcoholic fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis. *Clin Biochem* 2016;49(7-8):636-642.



**NECROPSIA ORAL SU IMPORTANCIA E INSERCIÓN EN EL PROTOCOLO
MÉDICO FORENSE DEL CADÁVER DENTRO DEL CAMPO DE LA
ODONTOLOGÍA FORENSE**

Juan Carlos Araujo-Cuauro ¹

- 1. Medicina Legal. Escuela de Derecho de la Facultad de Ciencias Jurídicas y Políticas de la Universidad del Zulia Maracaibo Venezuela.**

CORRESPONDENCIA: Av. 16 (Guajira). Ciudad Universitaria “Dr. Antonio Borjas Romero”. Núcleo Humanístico. Maracaibo-Venezuela. Teléfono: 0414 6119640. Fax 0261-7873827.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6559-5370>

Email: jcaraujoc_65@hotmail.com.

RESUMEN

El propósito de esta investigación es establecer la importancia del método normatizado de procedimientos en la cavidad bucal, la necropsia oral o buco máxilo facial; su inserción y utilización durante el desarrollo del protocolo médico forense del cadáver de la autopsia médico legal y no antes o después del mismo, dentro del campo de la odontología forense en el sistema judicial venezolano como elemento auxiliar en la administración de justicia y sus implicaciones jurídicas. La autopsia buco máxilo facial o judicial constituyen uno de los procedimientos de mayor relevancia entre los realizados por la actividad médico u odontólogo forense, su importancia radica en el poder determinar la verdadera causa de la muerte: natural o violenta, y en este último caso, si fue accidental, suicida u homicida. Es por ello que la autopsia es considerada como la última posibilidad de consulta médico u odontólogo forense, ya que la

94



interpretación de los hallazgos postmortem, permite conocer las bases anatómicas de los síntomas y signos, ejercicio que se conoce como correlación anatomo-clínico-forense; es decir, muestra el status del proceso patológico en el momento de la muerte. En este orden de ideas sería trascendental promover la realización de esta técnica como lo es autopsia bucal considerando los aportes con los que esta contribuyen a las ciencias forenses y la importancia de ser inserta en el protocolo de autopsia y necropsia médico legal.

PALABRAS CLAVE: Necropsia oral; odontología; legal; forense; protocolo; métodos.

**ORAL NECROPSY ITS IMPORTANCE AND INSERTION IN THE FORENSIC
MEDICAL PROTOCOL OF THE CORPSE WITHIN THE FIELD OF
FORENSIC DENTISTRY**

ABSTRACT

The purpose of this research is to establish the importance of the standardized method of procedures in the oral cavity, the oral or buccal maxillofacial necropsy; its insertion and use during the development of the forensic medical protocol of the corpse of the medical legal autopsy and not before or after it, within the field of forensic dentistry in the Venezuelan judicial system as an auxiliary element in the administration of justice and its legal implications. The autopsy or the oral or maxillofacial or judicial constitute one of the most relevant procedures among those carried out by the forensic medical or dental activity, its importance lies in being able to determine the true cause of death: natural or violent, and in the latter case, if it was accidental, suicidal or homicidal. That is why the autopsy is considered the last possibility of medical or forensic dentist consultation, since the interpretation of the postmortem findings allows to know the anatomical bases of the symptoms and signs, an exercise known as anatomo-clinical



correlation -forensic; that is, it shows the status of the pathological process at the time of death. In this vein, it would be important to promote the performance of this technique, such as oral autopsy, considering the contributions with which it contributes to forensic sciences and the importance of being inserted in the autopsy and medical-legal autopsy protocol.

KEYWORDS: Oral necropsy; odontology; legal; forensic; protocol; methods.

INTRODUCCIÓN

Hoy en día hacer referencia a cerca del significado de la palabra muerte, es considerar una expresión compleja, pues implica no solo el hecho biológico en sí, sino que engloba variantes sociales, culturales, religiosas y legales.

Es de allí que surge la necesidad de asignarle una responsabilidad a la muerte de los seres humanos, esta es tan antigua como la historia y ha encontrado expresión en el lenguaje religioso y judicial. Desde el ámbito religioso, la muerte puede ser por hechos inevitables (actos de Dios), o por actos de los seres humanos. En el primer caso, enfermedades y accidentes, y en el segundo, suicidios y homicidios (1).

Establecer el origen y la causa de la muerte cuando los hechos no están

claros o son discutibles, suele presentarse como una de las tareas más arduas del quehacer profesional de la medicina o de la odontología legal o forense. Cuando se recurre a una autopsia o necropsia en condiciones necesaria, esta se convierte en la técnica forense perfecta que, permite determinar correctamente la causa y el origen de la muerte, es por ello que representa una de las grandes responsabilidades del patólogo u odontólogo forense; practicar una autopsia o necropsia forense o en el caso al que haremos referencia como lo es la autopsia o necropsia oral o buco máximo facial en su inserción en el protocolo médico forense (2).

La autopsia médico legal o necropsia forense se define como el examen externo e interno de un cadáver,



realizado por un médico patólogo forense que aplica técnicas y procedimientos anatomopatológicos internacionalmente aceptados, para el estudio de una muerte investigada desde la perspectiva judicial para lograr determinar las causas o circunstancias concurrentes en el momento de la misma. En el caso de la necropsia oral forense esta se define como el conjunto de operaciones determinadas a investigar lesiones del sistema estomatognático capaces de haber producido la muerte o en su defecto el contribuir con la identificación de restos humanos en situaciones de grandes desastres donde juego su papel estelar, por lo que debe formar parte de ese protocolo de autopsia médico legal (3).

La autopsia buco maxilofacial o necropsia oral, se constituyen en una verdadera herramienta de gran valor en la investigación criminal al proveer los indicios físicos necesarios y la información obtenida de su procesamiento y análisis. El procedimiento de autopsia o necropsia es considerado como la última

posibilidad de consulta odontológica, ya que la interpretación de sus hallazgos postmortem, permite conocer las bases anatómicas de los signos y síntomas, así como su correlación anatomoclínica del individuo (4).

La determinación del origen y la causa de la muerte por parte el odontólogo forense tiene repercusiones jurídicas legales. Por ello, testificar o dictaminar una causa de muerte incorrecta puede generar notables perjuicios que van desde la inducción a errores judiciales (una de las peores faltas que se pueden cometer en el ejercicio odontológico-forense), a que el propio odontólogo forense se vea inmerso en situaciones indefendibles. Se debe tener presente que, aunque los informes de autopsia se emiten para el Juzgado, en diligencias inaccesibles para todo el que no esté legitimado en la causa, en la práctica resultan públicos porque se entregan copias a abogados, familiares, compañías de seguros, entre otro (5).

Una autopsia o necropsia oral es el estudio interno de cada una de las partes que conforma en el sistema



estomatognático siguiendo un orden para que pueda ser observado en su totalidad. Cuando se presenta un caso donde la destrucción del esqueleto (cráneo) hace muy difícil su identificación, es necesario realizar la autopsia de la cavidad oral o técnica necro-quirúrgica, extrayendo los maxilares, donde los dientes son el único medio para poder hacer una identificación de la víctima.

Los procedimientos odontológicos forenses en sala de morgue han sido realizados en forma separada del mismo protocolo de autopsia médico legal. Una forma eficiente de recuperar rastros y evitar la pérdida de datos es la aplicación de protocolos (reconocimiento, registro y conservación) y una vinculación interdisciplinaria. Este procedimiento odontológico constituye un mecanismo de gran valor en la investigación criminal al proveer los indicios físicos necesarios y la información derivada de su procesamiento y análisis (6).

Los hallazgos obtenidos podrán adquirir la condición de prueba o evidencia

pericial al ser admitidos durante el curso de un proceso penal por fiscales y jueces, pero esto es sólo si se ven soportado por profesionales idóneas, odontólogos forenses que fingen como peritos, quienes deberán detentar no sólo el conocimiento teórico de los conceptos de la patología odontoforense, sino también la obediencia y aplicación sistemática de protocolos durante el procedimiento autopsico.

Sin embargo, el criterio de inserción para estas diferentes disciplinas adolece hoy de limitantes que sólo agotan su evidente potencial. Escasamente puede verse hoy en salas de morgue la presencia de profesionales no médicos participando activa y simultáneamente del procedimiento de autopsia. La participación de equipos interdisciplinarios de identificación aparece como una necesidad en el actual mundo globalizado, donde a diario se suscitan hechos violentos que ocasionan víctimas múltiples. En dicho contexto, el odontólogo forense puede cumplir un papel preponderante en la identificación



basada en evidencia odontológica resulta altamente confiable, eficiente y rápida (7).

Pese a los dilemas de la actual sociedad globalizada e internacionalizada, en varios países como en Venezuela permanece todavía aquel precepto de que la necropsia médico legal es un campo fértil sólo para el médico patólogo forense, aunque la realidad hoy en día ha indicado en numerosos casos la decisiva injerencia del odontólogo forense en dicho procedimiento (8).

Conforme a los lineamientos más actualizados, se hace énfasis en el seguimiento de procedimientos estandarizados donde la presencia del odontólogo forense resulta indispensable como componente miembro de los protocolos de necropsia médico legal, pretendiendo revertir la actitud donde la actuación del profesional de la odontología quedaba visiblemente circunscrita, con el peligro de que la información recabada acerca del aparato estomatognático pudiera quedar sesgada, máxime cuando

no se tienen al alcance los recursos que brinda la biología molecular a las ciencias forenses. Finalmente se debe resaltar que la necropsia médico legal bucal se de llevar a cabo con el propósito de dar respuesta a las preguntas relativas a la identidad, causa eficiente, tiempo y circunstancias de la muerte, y se ha referido que el odontólogo no puede mantenerse al margen de este procedimiento (9).

El propósito de esta investigación es establecer la importancia del método normatizado de procedimientos en la cavidad bucal, la necropsia oral o buco máximo facial; su inserción y utilización durante el desarrollo del protocolo médico forense del cadáver de la autopsia médico legal y no antes o después del mismo, dentro del campo de la odontología forense en el sistema judicial venezolano como elemento auxiliar en la administración de justicia y sus implicaciones jurídicas.

**MARCO TEÓRICO.
CONCEPTUALIZACIÓN DE
CATEGORÍAS BÁSICAS**



Odontología Forense. La rama de la odontología que trata del manejo y el examen adecuado de la evidencia dental y de la valoración y presentación apropiadas de los hallazgos dentales en interés de la justicia, es reconocida como una de las especialidades actualmente validadas por Organización Internacional de Policía Criminal conocida como la INTERPOL para la identificación de restos humanos, papel fundamental cuando otros métodos de identificación no son viables.

Es responsable de seis áreas fundamentales de práctica: la identificación de restos humanos, la investigación de huellas de mordeduras, la detección de abuso y maltrato (infantil, violencia de género y geriátrica), los casos civiles de responsabilidad profesional y la estimación de edad. Es por ello que tiene una estrecha relación con la medicina y el derecho.

Patología Oral Forense. Se define como la especialidad odontológica dedicada a la identificación, documentación, recolección y

preservación de todos los indicios en tejidos duros y blandos orales, susceptibles de transformarse en evidencia jurídica, aparenta ser una concepción más integral y exhaustiva de la pericia odontológica, y una posible solución a la subestimación de la participación del odontólogo en la sala de la morgue.

Necropsia Oral o Autopsia Buco Maxilofacial.

La palabra necropsia procede de las voces griegas "*Nekrós*" ("muerto, cadáver") y "*opsis*" haciendo referencia a "Observar" y, generalmente, se considera sinónima de autopsia.

Sin embargo, esto nos da a entender que la necropsia además de ser un proceso de visualización, es un procedimiento científico por el cual se estudia en un cadáver humano a nivel de aparato o sistema estomatognático para poder identificar lo normal de lo anormal, así como las diferentes patologías para su examen, registro y obtención de evidencias significativas en el campo odontológico forense, que tienen por



objeto el esclarecer la causa de la muerte.

Odontólogo Forense. Experto de la odontología encargado de practicar la autopsia odontológica, adscrito en Venezuela al Servicio Nacional de Medicina y Ciencias Forenses del Cuerpo de Investigaciones Científicas Penales y Criminalísticas (SENAMECF-CICPC).

Prueba pericial odontológica. Es una de las herramientas más importantes debido al valor en el litigio, pues permite, tras un completo análisis de los indicios en el aparato estomatognático que involucre a un presunto responsable de un acto delictivo, determinar con efectividad y eficiencia si es o no responsable de éste.

Perito en odontología. Es un especialista en la ciencia de la Odontología que, con sus conocimientos, aporta los elementos para la resolución de los problemas que se plantean en la práctica en determinada situación legal para dilucidar la problemática judicial.

MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación es un estudio descriptivo observacional prospectivo, de tipo transversal, mediante la utilización de un instrumento de recolección de datos basado en un cuestionario encuesta anónima, estandarizada y normatizada con una muestra elegida de forma aleatoria e intencionalmente en un grupo de odontólogos. El universo poblacional estuvo constituido por 50 odontólogo/as.

A través de un test de preguntas abiertas y cerradas, utilizando como parámetros lo contentivo en las diversas investigaciones reportadas en la literatura nacional e internacional, consultado la base de datos como Elsevier, Medline, Proquest y Ovid, sobre la importancia e inserción en el protocolo médico legal del dictamen obtenido en la necropsia oral (sistema estomatognático del cadáver), como el examen de mayor importancia dentro del campo de la odontología forense como rama auxiliar de la administración de justicia.



Se realizó la búsqueda bibliográfica en la revisión del tema correspondiente a la importancia dentro del campo de la odontología forense de la necropsia del sistema estomatognático del cadáver en la identificación y esclarecimiento de la causa de la muerte de un individuo.

Asimismo, por involucrar aspectos bioéticos con sus principios, la investigación se llevó a cabo atento a los reparos ético-morales, e igualmente bajo el enfoque de las normativas vigentes (requisitos de las Good Clinical Practices – GCP-, disposiciones regulatorias y adhesión a principios éticos con origen en la Declaración de Helsinki). Previo a la aplicación del instrumento se les explicó a los odontólogo/as las implicaciones y propósitos de la investigación y se les tomó el consentimiento informado de manera verbal, se les garantizó el total anonimato de su participación.

El 100% de los odontólogo/as invitados a completar el cuestionario suministrado, accedieron en forma voluntaria a responder la encuesta suministrada.

La investigación está delimitada en el período comprendido de julio de 2018 a marzo de 2019 en Maracaibo Zulia - Venezuela.

Para su análisis estadístico, los datos recabados durante la encuesta se expresaron como valores absolutos del análisis de las variables cuantitativas se describe en porcentaje y se presentan en gráficos para su mejor comprensión, visualización y poder focalizar las diferencias.

RESULTADOS

En la figura 1 se puede observar que el 80 % (40/50) de los encuestados eran del sexo femenino; mientras que el 20% (10/50) eran del sexo masculino.

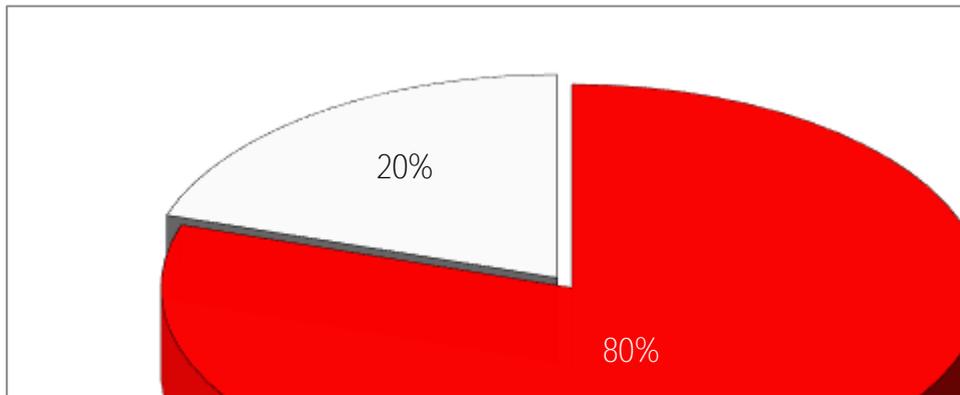


Figura 1. Resultado según el sexo (n=50).

En la figura 2 se evidenció que el 80% (44/50) de los odontólogos encuestados no precisaron correctamente sobre el conocimiento e inserción médico forense del protocolo de autopsia oral

del cadáver dentro del campo de la odontología forense en la identificación y/o esclarecimiento de la causa de la muerte de un individuo. Mientras que el 12% (6/50) si tenían conocimientos

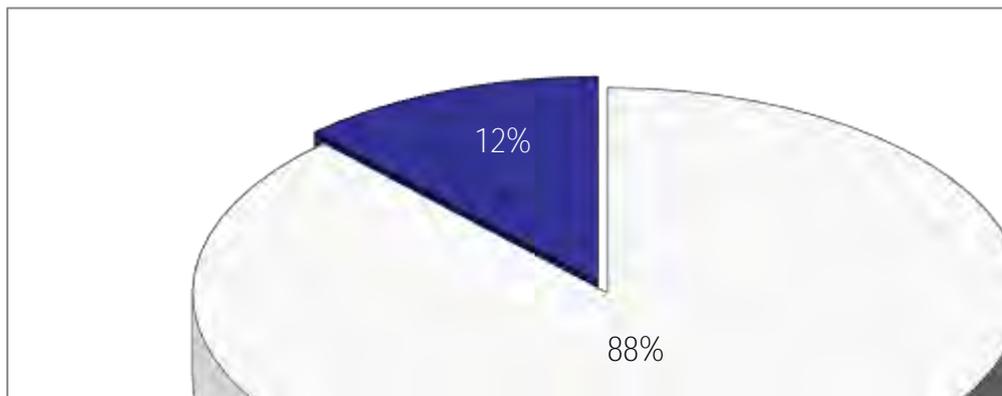


Figura 2. Resultado el conocimiento e inserción médico forense del protocolo de autopsia oral del cadáver (n=50).

Durante la autopsia, es imprescindible y crítico tener acceso a la cavidad bucal para registrar las características dentales, a través de lo que llamamos autopsia bucal. Existen diferentes

formas de abordaje, pero esto depende del estado de la cabeza al momento del examen, esta determina qué procedimiento se debe emplear, clasificación de Silver y Souviron

(2009). En la figura 3 se puede evidenciar que el 92% (46/50) de los odontólogos encuestados no conocían las diferentes formas de abordaje, según el estado de la cabeza al momento del

examen, basada en la clasificación empleada por Silver y Souviron. El otro 8% (4/50) no recuerdan o no respondieron.

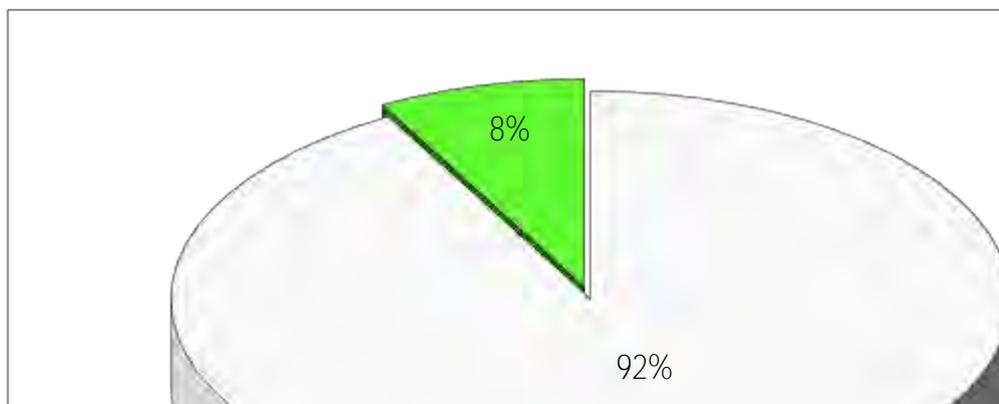


Figura 3. Resultado según las diferentes formas de abordaje clasificación Silver y Souviron (n=50).

El procedimiento de autopsia o necropsia es considerado como la última posibilidad de consulta odontológica, ya que la interpretación de sus hallazgos postmortem, permite conocer las bases anatómicas de los signos y síntomas, así como su correlación anatomoclínica del individuo. En la figura 4 al evaluar la pregunta sobre si la autopsia buco maxilofacial o necropsia oral, constituye una herramienta de

investigación criminal al proveer los indicios físicos necesarios a través de la información obtenida de su procesamiento y análisis, cuando por la destrucción del cadáver se hace muy difícil su identificación, donde los dientes son el único medio para poder hacer una identificación de la víctima. El 100% (50/50) estuvieron de acuerdo que esta constituye una herramienta forense jurídico criminal.

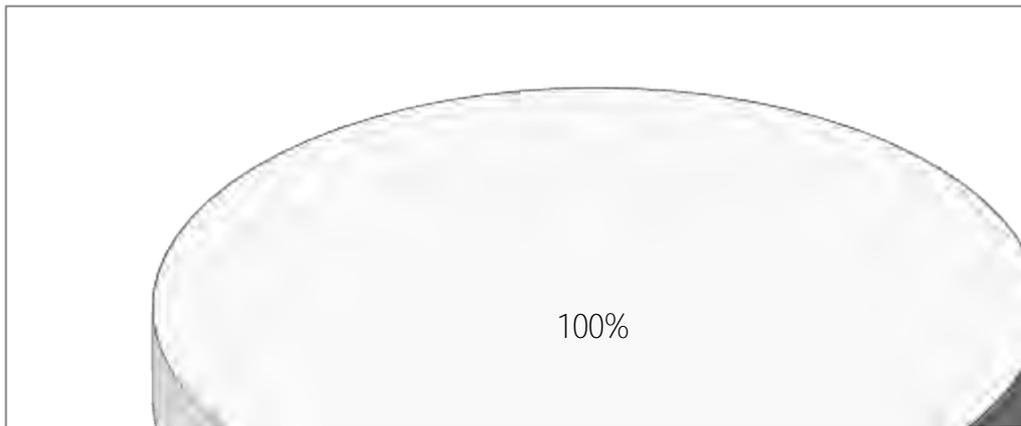


Figura 4. Resultado según herramienta de investigación jurídico criminal (n=50).

En la figura 5 en la pregunta sobre los objetivos que debe cumplir la necropsia oral u odontológica en el protocolo médico forense, los odontólogos encuestados respondieron en el 80% (40/50) para documentar características morfológicas de las estructuras dentales, los tratamientos odontológicos presentes y otras particularidades, es decir la carta odontológica; el 16%

(8/50) para registrar y documentar la presencia o ausencia de lesiones o huellas de violencia en el sistema estomatognático y establecer una secuencia aproximada de ocurrencia de los hechos; el 4% (2/50) para su recolección, preservación, muestras y/o evidencias físicas útiles para su posterior análisis.

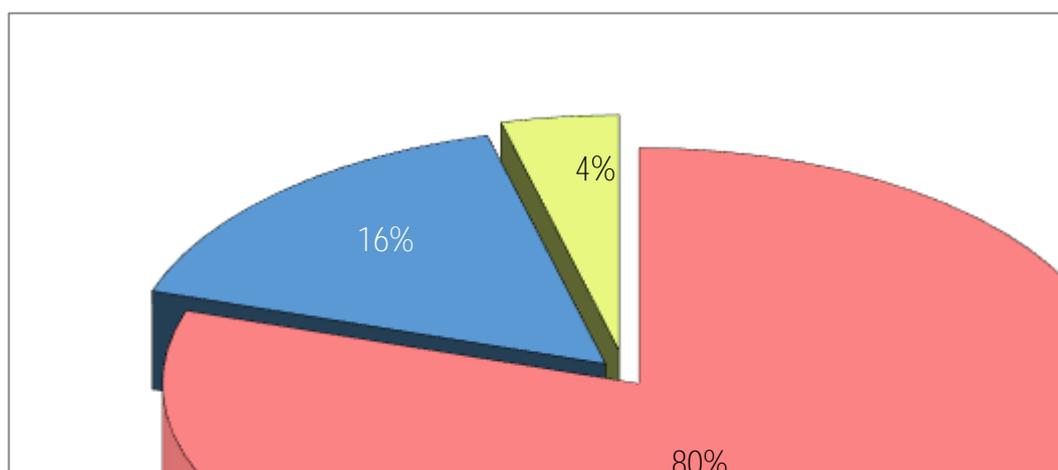


Figura 5. Resultado según los objetivos que debe cumplir la necropsia oral u odontológica en el protocolo médico forense (n=50).

En la figura 6 en cuanto a si se disponen de protocolos diagnóstico-terapéuticos, odontoforense legal que se incluye las interconsultas entre los diferentes servicios médico forense y los servicios odontoforense, donde se aborden las características del caso problema y los

pasos en el tratamiento y la corresponsabilización en el seguimiento forense. El 80% (40/50) respondió creer que existe dicho protocolo, el 16 % (8/50) respondió que no existe protocolo, mientras que 4% (2/50) no saben no respondieron.

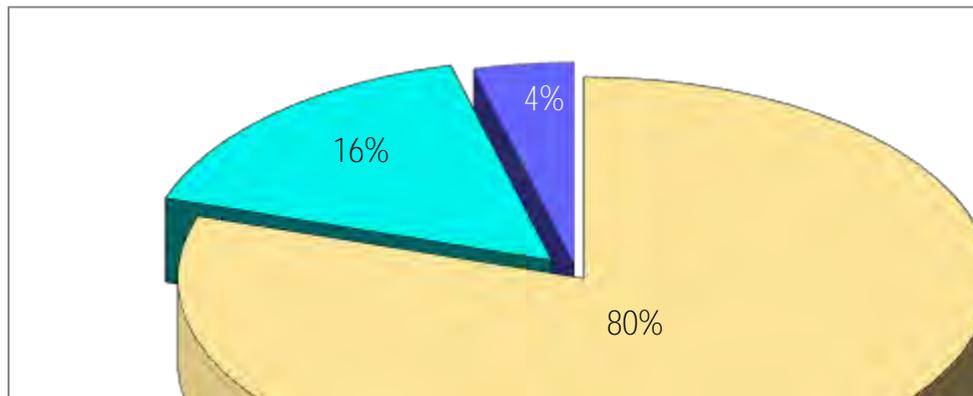


Figura 6. Resultado según la disposición de protocolos diagnóstico-terapéutico odontoforense legal (n=50).

En la figura 7 con referencia a si existe un método normatizado de procedimientos en cavidad bucal inserto durante el desarrollo del protocolo de autopsia médico legal y no antes o después del mismo. Es por esto que separar a la autopsia bucal de la médico legal por supuestas “diferentes causas” resulta una concepción improcedente cuando el mismo objeto de estudio es

una suma de complejidades, un todo: el Hombre. Prácticamente en todas las etiologías médico legales podemos encontrar cambios y modificaciones a nivel bucal... ¿Se encuentran preparados los patólogos y médicos para reconocerlos y diagnosticarlos? el 90 % (45/50) de las encuestados manifestaron no tener conocimiento.

Mientras que 10% (5/50) no recuerdan o

no respondieron.

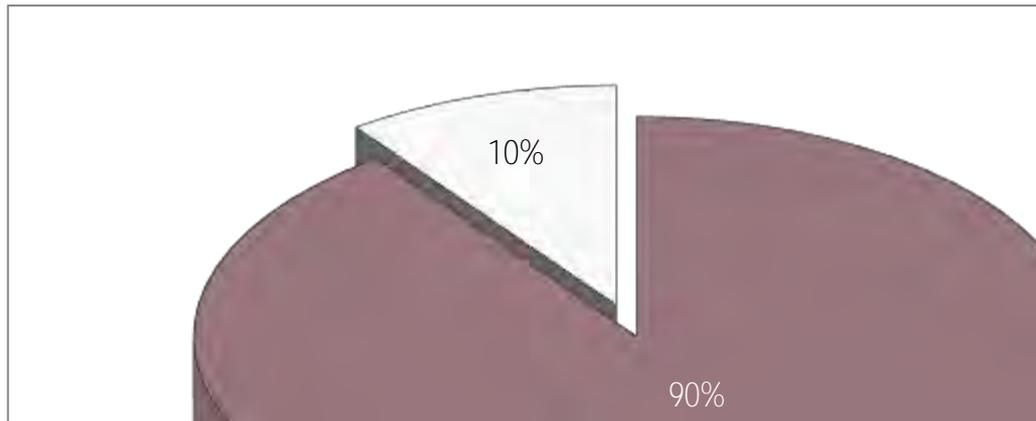


Figura 5. Resultado según la existencia método normatizado de procedimientos en cavidad bucal inserto durante el desarrollo del protocolo de autopsia médico legal (n=50).

DISCUSIÓN

El término autopsia procede del griego (αὐτοψία) y significa ver con los propios ojos, mientras que el término necropsia, que también procede del griego (necro y οψις), significa examen de un cadáver. En puridad consiste en el procedimiento médico quirúrgico destinado a obtener información morfológica sobre las causas de la enfermedad o también los cambios producidos por esta en el cuerpo humano.

Autopsia o necropsia es el término que queda reservado en el caso de los exámenes judiciales realizados para la

determinación de la causa de la muerte con el fin de proporcionar información al Juez cuando existe una investigación judicial y son ordenadas por él con el fin de determinar o esclarecer la causa de la muerte cuando lo considere necesario (10).

La autopsia o necropsia es uno de los métodos de investigación médica más antiguo. Las disecciones humanas en cadáveres fueron practicadas en Alejandría alrededor de 300 a 400 años a.C., alcanzando importancia con los trabajos del anatomista italiano Giovanni Battista Morgagni (1682-



1771) y sus discípulos. Hace ya más de tres siglos este científico estableció, firme e irrevocablemente, que las bases estructurales de los eventos clínicos que conducen a la muerte, deben ser encontrados por los médico/as patólogos forense u odontólogo/as forense en la realización de la autopsia o necropsia.

En la investigación criminal moderna existen dos pilares básicos fundamentales: el conocimiento teórico de los conceptos de la patología forense y la aplicación sistemática del método y procedimientos de la anatomía patológica en el procesamiento de los casos, en países desarrollados con sistemas judiciales de regimen acusatorio, se hace hincapié en el uso del método científico para el estudio, análisis, investigación, observación de la evidencia física, como medio para confirmar que se ha cometido un crimen, corroborar o descartar testimonios, exonerar a un inocente bajo sospecha, identificar a la persona o personas responsables y disponer de

pruebas objetivas y controvertibles que puedan sustentar una acusación (11).

La autopsia médico legal o la autopsia buco máxilo facial o judicial constituyen uno de los procedimientos de mayor relevancia entre los realizados por la actividad del médico patólogo forense u odontólogo forense, su importancia radica en el poder determinar la verdadera causa de la muerte: natural o violenta, y en este último caso, si fue accidental, suicida u homicida.

Pero que se define como autopsia o necropsia médico legal; como el examen externo e interno de un cadáver realizado por un médico que aplica las técnicas y procedimientos de la anatomía patológica internacionalmente aceptados para estudio de los casos en que se investiga judicialmente una muerte. Mientras que se define como autopsia o necropsia buco máxilo facial a todo el conjunto de procedimientos externo e interno realizados en la cavidad bucal por un odontólogo para el examen, investigación, búsqueda, exploración, registro y obtención de



evidencias significativas en la esfera odontológico forense del aparato o sistema estomatognático.

Ambos procedimientos necesitan invariablemente de un indispensable manejo de conocimientos criminalísticos, anatómicos, tanatológicos, toxicológicos y anatomopatológicos, entre otros (12).

Estas técnicas y/o procedimientos están indicadas para satisfacer los requerimientos de la investigación al sustentar adecuadamente los hallazgos, pero no es simplemente plasmar los hallazgos, ni solo limitarse a describir los cambios anatómicos o patológicos después de haber practicado estos procedimientos forenses. Es saber transmitir a los interesados abogados, fiscales y jueces de manera escrita y/o verbal en el curso de una audiencia u otra diligencia del proceso judicial sobre todo en lo penal, para poder aportar las herramientas que soporten las responsabilidades legales a partir de estos aportes y experticias de un profesional que en este caso sería el odontólogo forense, ya que éste debe

estar en plena capacidad de determinar la causa de la muerte siguiendo una metodología científica (13).

Es por ello que la autopsia o necropsia es considerada como la última posibilidad de consulta médico u odontólogo forense, ya que la interpretación de los hallazgos postmortem, permiten conocer las bases anatómicas de los síntomas y signos, ejercicio que se conoce como correlación anatómico-clínico-forense; es decir, muestra el *status* del proceso patológico en el momento de la muerte, cuya difusión formal de los resultados se convierte en una verdadera conferencia médico-forense-patológica, lo que permite la integración de las ciencias básicas de la medicina forense, con la odontología forense es decir, permite estudiar los resultados encontrados con fines judiciales, científicos, asistenciales e incluso docentes.

Es por todo esto que los beneficios de la autopsia o la necropsia son múltiples o diversos; ya que determina la causa de muerte, detecta posibles errores



diagnósticos y clarifica aspectos médico-legales u odontolegales en torno a la muerte, en apoyo para la administración de justicia, permite la investigación y la docencia, admite la rectificación de los certificados de defunción (14).

En virtud de que la autopsia o la necropsia permite la comparación entre los hallazgos clínicos y los morfológicos, se consideran que ésta representa el complemento final de la investigación médica u odontológica forense. Visto así, la autopsia o necropsia no es una medida simplemente correctiva de diagnósticos equivocados con fines estadísticos, sino una vigilante del procedimiento y de las técnicas de diagnóstico y de refinamiento del conocimiento forense (15).

La capacidad de abordar el estudio de un caso de manera adecuada y la solidez conceptual del perito depende no solo de la práctica de muchas necropsias, sino de la discusión y análisis de los casos con personas de mayor experiencia y/o conocimiento y de su

actualización a través del estudio de bibliografía que le aportarán cada vez mayor ilustración y capacidad de análisis y discernimiento en el abordaje e interpretación de aspectos críticos de su experticia; así va formando su criterio forense y, como corolario, su mayor seguridad o confianza en la práctica de necropsias y posterior sustentación de los casos.

El avance tecnológico en cada una de las áreas del conocimiento y la disponibilidad de los recursos les exige cada vez más al odontólogo el cuidado de las actividades periciales que sin duda, guiada por tan excelente resultado de un trabajo que debe ser mancomunado en la investigación forense (16).

CONCLUSIONES

El objetivo principal de esta investigación es establecer la importancia la necropsia oral o buco máxilo facial como método normatizado de procedimientos en la cavidad bucal; y su inserción en el protocolo médico forense del cadáver de la autopsia



médico legal. Debido a que excluir a la autopsia bucal de la autopsia médico legal por presuntos y distintos motivos o justificaciones resulta una concepción improcedente cuando ambos procedimientos tiene en común el mismo objeto de estudio, es una suma de complejidades, un todo el cadáver humano (el Hombre) se debe de considerar que prácticamente en todas las etiologías médico legales se puede encontrar cambios y modificaciones a nivel del aparato o sistema estomatognático.

En este orden de ideas sería trascendental promover la realización de esta técnica como lo es autopsia bucal considerando los aportes con los que esta contribuyen a las ciencias forenses y la importancia de ser inserta en el protocolo de autopsia y necropsia médico legal.

Otra consecuencia de la merma en la realización de necropsias es que redundan en una peor calidad diagnóstica, ya que el enfoque de enfermedad del patólogo se limita al diagnóstico de lesiones aisladas en

órganos y tejidos, en desmedro de una perspectiva global, integradora y de correlación, fundamentales para el médico.

También se debería favorecerse un registro único de datos, con posibilidad de ser consultado por todos los sectores interesados. Las autopsias deberían incluirse en el plan de docencia de todas las especialidades.

REFERENCIAS

1. Sánchez-Mena MR, Medina-Escobedo G, Vega-Ramos BE, et al. La autopsia: la consulta final, Disponible en línea en: <https://www.yumpu.com/document/view/la-autops>.
2. Lozano, O., Andrade. (2006). Estomatología Forense. México: Editorial Trillas.
3. Muñiz Garibay, R. (2014). Odontología Forense. En J. Grandini González, C. Carriedo Rico, M. Gómez García, R. Muñiz Garibay, H. Nicolini Sanchez, & F. Takajashi Medina, Medicina Forense (págs. 167-180). Mexico: Editorial El Manual Moderno.
4. Fonseca, Gabriel Mario, Sánchez, María Candelaria. (2008). Autopsia Bucal Máxilo Facial: alcances e inserción en protocolo



- de Autopsia
Medicolegal. *Ciencia
Odontológica*; 5(1):34-43.
Disponible en línea
en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=205216618005>.
5. Vázquez Fanego H. Autopsia Médico Legal. Buenos Aires: De Palma; 2000.
6. Osorio Isaza LC, Duque Piedrahita MA, Idalid Carreño M, Arias Gómez LF, Morales ML. Guía de Procedimientos para la realización de Necropsias Medicolegales. 2° Ed. Colombia: Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses; 2004.
7. Hill AJ, Hewson I, Lain R. (2011). The role of the forensic odontologist in disaster victim identification: Lessons for management. *Forensic Sci Int*; 205:44-7. Disponible en línea en: DOI: [10.1016/j.forsciint.2010.08.013](https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2010.08.013)
8. Briem Stamm, A.; Palmieri, J. & Carriego M. (2016). Procedimientos de autopsia de la cavidad oral: revisión de la literatura. *Revista Skopein*, XIII, 6-13. Disponible en línea en: www.skopein.org.
9. Pramod JB, Marya A, Sharma V. (2012). Role of forensic odontologist in post mortem person identification. *Dent Res J (Isfahan)*;9(5):522-30. Disponible en línea en: DOI: 10.4103/1735-3327.104868.
10. García G.I. 2012 Procedimiento pericial médico-forense. Normas que lo rigen y los derechos humanos. Cap. 3: "Procedimiento de investigación, detección y dictamen médico-legal por supuesta mala práctica médica". México: Ed. Porrúa.
11. Socorro C, Roque L, Garcés B, Oliver M. Consideraciones sobre autopsia desde una perspectiva ciencia, tecnología y sociedad. *Medisur [Internet]*. 2017 [citado 03 Sep 2020];15(5):666-675. Disponible en línea en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/medisur/msu-2017/msu175l.pdf>
12. Nogué-Navarro, L. Bardalet Viñals, N y Adserias Garriga, MI. (2016). Técnicas de apertura del cadáver. *Medicina Legal de Costa Rica*, 33 (1), 3-14. Disponible en línea en: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-00152016000100003&lng=en&tlng=es.
13. Smitha T, Sheethal HS, Hema KN, Franklin R.J Oral. Forensic odontology as a humanitarian tool. *Maxillofac Pathol*. 2019 Jan-Apr;23(1):164. Disponible en línea en: DOI: 10.4103/jomfp.JOMFP_249_18.



14. Tiol-Carrillo, Agustín. (2016). El peritaje odontológico forense. *Revista odontológica mexicana*, 20(3), 154-158. Disponible en línea en: <https://doi.org/10.1016/j.rodex.2016.08.001>.
15. Sandra B. Faría S. (2012). La autopsia: presente... ¿y futuro? *Rev Hosp Niños B Aires*; 54(244). Disponible en línea en: <http://revistapediatria.com.ar/wp-content/uploads/2012/04/04-14.Autopsia-1.pdf>
16. Piamo-Morales, Alberto José, Ferrer-Marrero, Daisy, Chávez-Jiménez, Digna, Arzuaga-Anderson, Isnerio, & Palma-Machado, Lourdes. (2020). La autopsia y la correlación clínico patológica: un ejercicio que fortalece a la medicina. *Revista Archivo Médico de Camagüey*, 24(5), Disponible en línea en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-02552020000500013&lng=es&tlng=es.



**RITIDOREVERSIÓN.
PARÁMETROS DIAGNÓSTICOS COMO ESTIMADORES DEL TRATAMIENTO
CUTÁNEO.**

**Miller-Kobisher Blanca¹, Suárez-Vega Dubraska², Velazco de Maldonado Gladys²
Víctor Garcia-Guevara³.**

- 1. Instituto Panamericano de Profesionales Científicos (IPPC). CD de México-México.**
- 2. Facultad de Odontología. Magister en Ciencias Médicas. Doctorando en Facultad de Medicina ULA-Mérida, Venezuela.**
- 3. Innoaesthetics Laboratory provides Skin Experts and end-users with medical aesthetic solutions and skincare products to improve skin health. Barcelona España**

Autor Corresponsal: Facultad de Odontología. Edificio del Rectorado. Calle 23, entre Avenidas 2 y 3, Centro de Investigaciones Odontológicas, Universidad de Los Andes, Mérida (5101), Venezuela. Tel/Fax. 00(58) 274-2402378. **E-mail:** dubraskasuarez.ula@gmail.com.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1648-417X>

RESUMEN:

Este artículo pretende plantear la incorporación práctica a la armonización orofacial de un nuevo concepto: la ritidoreversión. También se proponen las pautas diagnósticas que permitirán calcular una



dosificación de relleno dérmico más cercana a las necesidades reales de las rítidés, según su tipo y ubicación topográfica en el rostro. Se partió de un análisis epidemiológico del grosor cutáneo y de la epidemiología de las principales rítidés, precisando su profundidad promedio. Se plantea una fórmula de ritidoreversión que implica que el volumen perdido de la rítide o arruga es equivalente al volumen a reposicionar mediante relleno dérmico. El análisis revela que el máximo de volumen de material de relleno dérmico que debería recibir la piel en los casos más severos de verdadera ritidosis cutánea (no surcos cuyo origen es la deflación y la lipomatosis facial) es de 0.055cc por cada centímetro de extensión, facilitando la diagramación de la dosis por área en los pacientes.

Palabras Clave: ritidoreversión, perfilometría, envejecimiento facial, diagnóstico estético facial, relleno dérmico.

RHYTIDOREVERSION. DIAGNOSTIC PARAMETERS AS ESTIMATORS OF SKIN TREATMENT.

ABSTRACT:

This article tries to propose the practical incorporation to the orofacial harmonization of a new concept *the wrinkles-reversion or Rhytids-reversion*. Diagnostic guidelines also proposed that would allow the calculation of a dermal filler dosage closer to the real needs of the rhytids, according to their type and topographic location on the face. It based on epidemiological analysis of the skin thickness and the epidemiology of the main rhythms, specifying their average depth. A *Rhytids-reversion* formula proposed that implies that the lost volume of the rhytid or wrinkle is equivalent to the volume to tissue repositioned by dermal filler. The analysis reveals that the maximum volume of dermal filler material that the skin should receive in the most severe cases of true cutaneous rhytidosis (not furrows whose origin is deflation and facial lipomatosis) is 0.055cc per centimeter of extension, facilitating the diagramming of the dose by area in patients.



KEYWORDS: ritidoreversion, profilometry, facial aging, facial aesthetic diagnosis, dermal filler.

INTRODUCCIÓN

La reversión no quirúrgica de las ríides y surcos cutáneos propios del envejecimiento es posible gracias a los nuevos protocolos de reposición de tejidos del rostro a expensa de materiales de relleno y de técnicas de sustentación; pero aun así restan por restituir las ríides que permanecen en la piel producto del envejecimiento cutáneo y que pueden ser abordadas de diferentes formas para lograr su involución.

Si bien es cierto que existen novedosas alternativas tecnológicas para tratar dicho envejecimiento cutáneo, la intradermoterapia con biomateriales de relleno dérmico y con activos cosmeceúticos sigue siendo un abordaje gold estándar en los procedimientos de restitución y de regeneración dermoepidérmica.

Por otra parte, un hecho que marca pauta ampliamente conocido, es que el espesor

de la dermis y la epidermis varían en el rostro topográficamente, lo cual condiciona varias situaciones. Una de ellas es que la aparición de arrugas o ríides y su profundidad varían también en función de este grosor; su mayor o menor profundidad estaría en relación con ese variado espesor cutáneo, por lo que habrán partes del rostro con un predominio de un tipo de ríides, ya sean líneas más fina como las primarias o profundas y marcadas como las terciarias, pero a su vez no estará indicando que la forma de administrar intradermoterapia para cutaneoestructuración debe cambiar.

En cuanto a ello, ha de tenerse en cuenta que para pretender una ritidoreversión de las líneas de expresión, los protocolos terapéuticos con activos intradérmicos deberían considerar que si el grosor dermoepidérmico no es el mismo en todo el rostro, la profundidad de las inyecciones tampoco deber ser la misma para albergar oportunamente sustancias dentro de la piel; no debería penetrarse la misma



distancia con la aguja para no inocular ni por encima ni muy por debajo de la dermis, pues resultaría inefectiva la administración por no alcanzar directamente el entorno celular donde la bioestimulación suele tener lugar.

También, este grosor cutáneo diferente en varias regiones del rostro condicionaría la dosis a administrar, puesto que un determinado grosor estaría en relación con la capacidad física de la piel de albergar volúmenes, es decir con su módulo elástico funcional. Del análisis de estas premisas se deriva que no deben infiltrarse los mismos volúmenes en todas las regiones de la piel del rostro, contrario a lo que se ha venido estableciendo por años de acuerdo con los protocolos convencionales de intradermoterapia.

De cara a estas reflexiones iniciales, el presente artículo pretende un análisis documental basado en la evidencia que permita ofrecer soluciones a estas inquietudes, con el objetivo de proponer

un protocolo de ritidoreversión, que estandarice dosis de intradermoterapia acordes a los diferentes grados de profundidad de las rítidés o arrugas, que se manifiestan frecuentemente en la piel de la frente, glabelar y periocular, las principales áreas del rostro más afectadas por la ritidosis con el envejecimiento cutáneo.

A continuación se señalan las medidas del grosor dermoepidérmico del rostro, las diferentes profundidades de las rítidés en las principales zonas de aparición, estableciéndose una relación entre dicha profundidad de rítidés, el cálculo del volumen dermoepidérmico a revertir, planteándose a partir de estos datos una fórmula que permita predecir el volumen mínimo de sustancia de relleno requerido para lograr dicha ritidoreversión, logrando plantear un protocolo diagnóstico que servirá de estimador del éxito de la intradermoterapia para las revertir las rítidés por envejecimiento.



DESARROLLO

a) Grosor dermoepidérmico de las diferentes zonas del rostro y sus implicaciones.

El espesor de la piel humana en recientes investigaciones ha sido medido con precisión empleando diversos sistemas de imagen, los cuales realizan un escaneo tridimensional de la piel facial antes y después de ser diseccionada. Los datos fueron obtenidos de múltiples mediciones empleando los principales puntos antropométricos del rostro como pilares

para establecer planos y dividir por zonas dichos grosores¹. Las medidas derivadas en diversos individuos y en especímenes de disección se correlacionaron estadísticamente para precisar su coincidencia y promediar medidas, resultando un mapa del grosor dermoepidérmico en varias zonas del rostro^{1,2}.

De acuerdo con estas medidas la piel de la región infraorbitaria es la de mayor grosor dermoepidérmico con 1.97mm \pm 0,84 y la de menor grosor se halla en el dorso nasal midiendo aproximadamente 1.51mm \pm 0.55 de profundidad (Tabla 1, figura 1).

Tabla 1. Medias promedio del grosor de la piel facial

REGIONES	MEDIA	DESVIACIÓN ESTÁNDAR
Radix y dorso nasal	1.51mm	\pm 0.55
Infraorbitaria	1.97mm	\pm 0.84
Temporal	1.65mm	\pm 0.91
Frontal	1.70mm	\pm 0.71
Supraorbitaria	1.67mm	\pm 0.83
Peribucal	1.82mm	\pm 0.83

Mejilla	1.85mm	+/- 1.03
---------	--------	----------

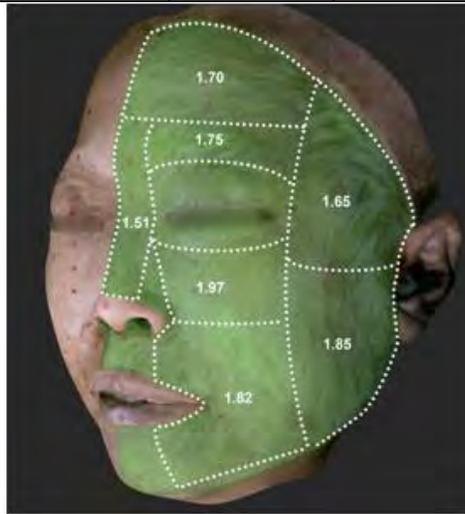


Figura 1. Medidas y mapa de zonas según grosor dermoepidérmico. Modificado de Kim et al 2019 ¹

Otros autores³ dividen estas zonas, en subsectores más pequeños, agrupadas según las medidas promedio que obtuvieron, pero además separan el grosor epidérmico del dérmico, señalando que el grosor epidérmico más delgado es el de la zona postero-auricular y la epidermis más gruesa, la del labio superior. En tanto que el mayor grosor de la dermis facial se encuentra en la pared latero-inferior nasal y el menor grosor de la dermis

se halla en la zona medial del párpado superior (tabla 2).

Estas medidas son útiles a la hora de planear la profundidad de la inyección de intradermoterapia para situarse verdaderamente en el plano dérmico, el cual debe ser el receptor de las sustancias de relleno cutáneo como el ácido hialurónico.

Tabla 2. Grosor epidérmico y dérmico del rostro. Modificado y adaptado de Chopra et al³.

ZONA DEL ROSTRO	GROSOR EPIDÉRMICO (MM)	GROSOR DÉRMICO (MM)
Frente	0.03986mm -0.04576mm	1.17611mm -1.2525mm
Párpados	0.03858mm-0.4239mm	0.75885mm-1.08858mm

Glabela	0.04659mm	1.33952mm
Dorso nasal	0.0616mm	1.19861mm
Columela, philtrum y punta nasal	0.04807mm-0.04977mm	1.16076mm-1.288mm
Malar y mejilla	0.4573mm	1.29126mm
Labio superior	0.06262mm	1.43349mm
Nasolabial y labiomentoniana	0.04891mm	0.98941mm- 1.25018mm
Preauricular y Auricular posterior	0.03753mm-0.02957mm	1.254577mm- 1.72421mm
Cuello	0.03536mm- 0.04069mm	1.23768mm- 1.44071mm

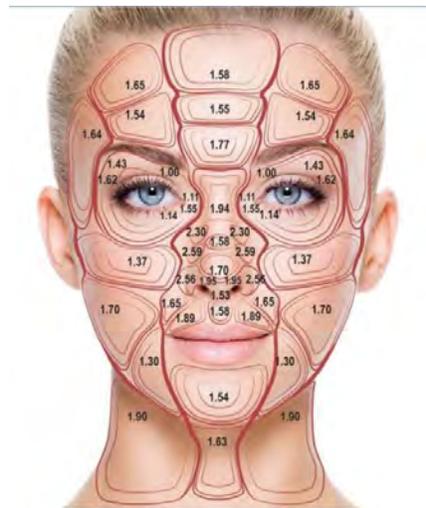


Figura 2. Mapa de las zonas de mediciones dermoepidérmico propuesto por el Chopra et al³. Las medidas dermoepidérmicas del mapa propuesto están expresadas en promedio de micrómetros por área a diferencia de las presentadas en el actual artículo.

b) La profundidad de la aguja para intradermoterapia según el grosor dérmico del área de la rítide a revertir

Comúnmente las agujas para inyección vía intradérmica suelen tener un bisel de longitud de 10 a 16mm y un calibre de 0.5mm (25 a

26G). Las agujas más cortas tienen longitud mínima que ronda los 4mm, lo cual significa que aún es mucho más extensa que las medidas dermoepidérmicas de la piel del rostro registrada por señalados estudios recientes, implicando que deba ajustarse la profundidad de inyección para evitar la descarga de sustancias en tejidos más profundos que la



dermis. La tabla 3 a continuación propone la longitud de inyección intradérmica según el grosor de diversas zonas del rostro reseñado.

Tabla 3. Profundidad máxima de aguja propuesta según grosor dermoepidérmico

ZONA DEL ROSTRO	PROFUNDIDAD MÁXIMA DE LA AGUJA
Frente	1.2 mm
Párpados	1 mm
Glabela	1.3 mm
Dorso nasal	1 mm
Columela, philtrum y punta nasal	1.2 mm
Malar y mejilla	1.2 mm
Labio superior	1.4 mm
Nasolabial y labiomentoniana	1.2 mm
Preauricular y Auricular posterior	1.2 mm
Cuello	1.4 mm

La incorporación de las microagujas, fabricadas con calibre 31 y solo de 1 a 3mm de longitud, sumado a la posibilidad de estandarizar la profundidad de penetración en dermis según el área anatómica del rostro podría facilitar el suministro de sustancias en la dermis y principalmente permitiendo la ubicación adecuada de microdepósitos de rellenos dérmicos como el ácido hialurónico. Un aspecto de notable interés a considerar es que a medida que la longitud y calibre de las microagujas se acerca más a las

dimensiones de la topografía de la piel, la deformación mecánica a la inserción de la agujas se incrementa, pudiendo requerirse en algunos casos de dispositivos de inserción asistidos mecánicamente o de forma automática para la correcta aplicación⁴.

c) La profundidad de las ríides y el grado de envejecimiento cutáneo

El variado grosor dermoepidérmico facial anteriormente señalado, también resulta



determinante en una mayor susceptibilidad de algunas zonas del rostro a la aparición de líneas permanentes de expresión. Además, las rítidés suelen aparecer en ciertas áreas del rostro donde el SMAS está ausente o es muy delgado y en aquellas zonas donde los panículos adiposos son más susceptibles a hipotrofia o bien a desflazarse. Estos factores determinan que las rítidés sean más profundas en unas zonas más que en otras, reconociéndose al menos 3 tipos de rítidés, primarias, secundarias y terciarias.

Las primarias son depresiones lineales que suelen aparecer en las regiones del rostro donde la piel es más delgada. Las secundarias, una evolución de las primarias muestran mayor profundidad especialmente apreciadas en regiones nasogeniana y comisura labial y las terciarias como avance de las secundarias representan casos de elastosis avanzada

manifestándose principalmente en la frente, mentón periocular o perilabialmente⁵.

A su vez estas rítidés en las áreas periocular, frente, y glabella han sido clasificadas en escalas fotonuméricas validadas que establecen severidad de la ritidosis del 0 al 5. Las calificaciones de las escalas de calificación son 0 para sin arrugas, 1 para arrugas muy finas, 2 para arrugas finas, 3 para arrugas moderadas y 4 para arrugas severas (6,7,8).

Ahora bien, en el presente artículo proponemos que el grado de envejecimiento cutáneo sea clasificado tomando en cuenta una modificación de la escala de ritidosis basándose en el predominio del tipo de rítidés en reposo según su profundidad. De manera que la propuesta considera los siguientes parámetros:

Tabla 4. Escala de envejecimiento cutáneo según severidad de la ritidosis

Grado 1:	(leve)	rítidés primarias
Grado 2:	(moderado)	rítidés primarias, secundarias o ambas



Grado 3:	(severo)	rítides terciarias (puede incluir secundarias)
Grado 4:	(avanzado)	rítides y surcos por deflación de los tejidos adiposos profundos

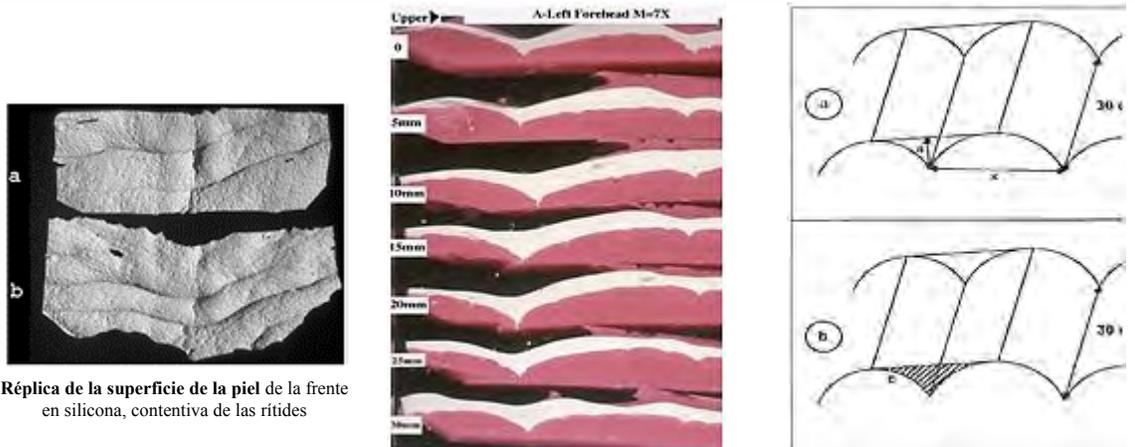
d) El volumen de las rítides como estimador del volumen para ritidoreversión.

Existen consensos que palantean parámetros para evaluar la efectividad de los productos para la revesión de las arrugas o rítides. Entre ellos, evaluar la profundidad, área y volumen de las rítides es fundamental⁹.

El volumen de la intradermoterapia con ácido hialurónico de baja y mediana reticulación para la reversión de la ritidosis podría estimarse indirectamente por la profundidad del valle de las rítides mismas, pues esta medida es la

representación más simple del grosor perdido por la atrofia y elastosis dérmica.

Algunos estudios actuales han precisado la medida exacta de la profundidad de las rítides en las principales áreas donde suelen manifestarse. Así tenemos que a través de perfilometría clínica de réplicas de la piel obtenidas por impresiones faciales con silicona, se ha logrado copiar la forma, longitud y profundidad de las rítides de los rostros de gran cantidad de individuos, a los fines de hacer una detección laser de la medida de la profundidad de las rítides en reposo (Figura 3).



Réplica de la superficie de la piel de la frente en silicona, contentiva de las rítdes

Cortes longitudinales de réplica en positivo del perfil de la superficie de la piel, obtenida vaciando material de impresión de silicona de diferente color (blanco) en el molde negativo para dibujar el trayecto y profundidad de la rítide

Parámetros de interés para medir el tamaño de las rítdes:

- a) profundidad de la rítide,
 - b) área de la rítide en mm²,
 - x) distancia entre los valles de rítdes contiguas.
- (Mediciones en una sección de 30mm de longitud de rítide)

Figura 3. Modificado de Hatzis J¹⁰.

Partiendo de este método, se ha podido precisar por ejemplo que las líneas o rítdes de la región de la frente, uno de los tipos de rítdes más extensas del rostro, medida en segmentos

de 30mm de largo, la rítide suele tener una profundidad media de 2mm, con 1,58mm mínimo-2,68mm máximo de profundidad y un ancho de 2,75mm (flechas de altura a, en la figura).

Área de la rítide=
Ancho del valle x Altura o profundidad

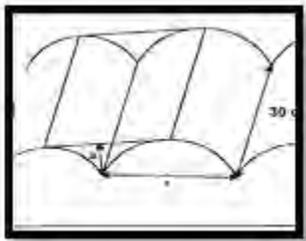
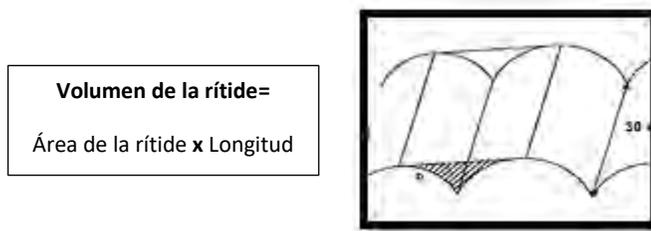


Figura 4. Modificado de Hatzis J¹⁰

Pero esa misma rílide tiene un área (ancho por altura del valle de la rílide) de aproximadamente $5,5\text{mm}^2$ ($2\text{mm} \times 2,75\text{mm}$), lo cual se denomina “volumen de la rílide” (b, en la figura) y es la medida de especial interés

que planteamos podría tomarse en cuenta como un estimador del volumen a reponer mediante intradermoterapia con ácido hialurónico.

**Figura 5. Modificado de Hatzis J¹⁰**

Para estimar volumen de la rílide, que corresponde al espacio abierto en forma de cuña que se forma al colapsar la infraestructura de colágeno y otros elementos estructurales de la dermis, se podría multiplicar el área de la rílide por la extensión de la misma.

En este caso, tomando el mismo ejemplo de un segmento de 30mm de longitud en una rílide de la frente, el volumen de la arruga en todo el segmento será resultado de multiplicar $5,5\text{mm}^2$ (área) x 30mm (longitud).

$$\text{Volumen de la rílide} = 5,5\text{mm}^2 \times 30\text{mm} = 165\text{mm}^3$$

**d) Volumen de rítidés según área del rostro, edad y género.**

De acuerdo con algunos estudios epidemiológicos de perfilometría, las principales rítidés aparecen en el área periorbital, glabellar y en la frente. El volumen mínimamente perceptible de estas rítidés registrado usando lectura por píxeles en

fotografías clínicas, varía entre mujeres y hombres, incrementándose cada 10 años, por ello, dichos valores se han establecido en 5 grupos etáreos que van desde los 20 años hasta los 70 años de edad de acuerdo con los estudios de Luebberding et al ¹¹. Los valores modificados a milímetros cúbicos y agrupados en 3 rangos etáreos se proponen en las tablas 5 y 6.

Tabla 5. Volumen mínimo de las arrugas mujeres (mm³)

Edad	periorbital	glabellar	frente
20–39	0.30 mm ³ a 0.88 mm ³	0.61 mm ³ a 0.38 mm ³	1.51 mm ³ a 0.81 mm ³
40–59	1.32 mm ³ a 2.86 mm ³	5.63 mm ³ a 10.93 mm ³	4.37 mm ³ a 6.66 mm ³
60–70	4.01 mm ³ a 9,87 mm ³	13.70 mm ³ a 25,45 mm ³	4.40 mm ³ a 8,11 mm ³

Modificado de Luebberding et al ¹¹**Tabla 6. Volumen mínimo de las arrugas Hombres (mm³)**

Edad	mm periorbital	mm glabellar	mm frente
20–39	0.85 mm ³ a 1.69 mm ³	1.76 mm ³ a 3.57 mm ³	2.15 mm ³ a 4.62 mm ³
40–59	5.00 mm ³ a 7.028 mm ³	8.19 mm ³ a 12.41 mm ³	8.94 mm ³ a 12.51 mm ³
60–70	12.63 mm ³ a 20,9 mm ³	15.09 mm ³ a 22,68 mm ³	18.53 mm ³ a 31,43 mm ³

Modificado de Luebberding et al ¹¹



Tomando en consideración las medidas de profundidad de la rílide y el volumen perdido al profundizar la piel en esas áreas, se ha establecido una correlación entre la clasificación de las rítilas en primarias y secundarias en función del volumen perdido

en las mismas(11). A esta clasificación en el presente artículo añadimos un tercer peldaño, correspondiente al volumen estimado para las rítilas terciarias, extrapolando estadísticamente el crecimiento exponencial cada 20 mm^3 entre cada tipo de rítila

Tabla 7. Clasificación de las rítilas de acuerdo con su volumen máximo:

131.1 mm^3 + 48.6	Rítilas primarias
154.2 mm^3 +72.3	Rítilas secundarias
170 mm^3 en adelante	Rítilas terciarias

E) Forma de lograr ritidoreversión con rellenos dérmicos según el área del rostro.

Planteamos como teoría que “*el volumen perdido de la rítila o arruga es equivalente al volumen a reposicionar mediante relleno dérmico*”, por lo cual, al obtener la medida del

volumen de la rítila se obtiene simultáneamente el volumen de ritidoreversión. Así tomando como ejemplo la misma rítila de área de $5,5\text{mm}^2$ y 30mm de longitud en la frente, el cálculo del volumen requerido para revertir la profundidad de la rítila sería de la siguiente forma:

$$\text{Volumen de ritidoreversión} = 5,5\text{mm}^2 \times 30\text{mm} = 165\text{mm}^3$$

No obstante, como la dosificación para rellenos dérmicos viene estipulada en unidades de volumen de centímetros cúbicos o

militros, para estimar el volumen de biomaterial requerido ha de transformarse la unidad de milímetro cúbico a centímetro cúbico (mm^3 a cm^3) dividiendo el valor entre 1000

:

$$1 \text{ mm}^3 = 0,001 \text{ cc.}$$

Así para calcular el volumen a administrar tomando de ejemplo el mismo valor anterior

del volumen de rítide de 165 mm^3 , tenemos que el volumen máximo a inyectar para revertir esa rítide de 3cm de longitud sería de 0.165cc, es decir, a razón de 0.055cc por cada centímetro de longitud.

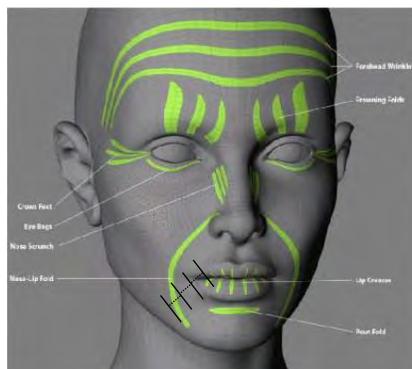


Figura 6. Ejemplo de diagrama de dosificación cada centímetro de longitud de la rítide a razón de un máximo de 0.055cc en cada segmento. Imagen modificada de Softimage wiki¹².



Este valor sería válido para ríides terciarias cuyo volumen parte de aprox. 170mm^3 en adelante, siendo este tipo de rítide el más profundo de los 3 tipos, lo cual nos revela que el máximo de volumen de material de relleno dérmico que debería recibir la piel en los casos más severos de verdadera ritidosis cutánea (no surcos cuyo origen es la deflación y la lipomatosis facial) es de 0.055cc por cada centímetro de extensión, facilitando la diagramación de la dosis por área en los pacientes.

CONCLUSION

Conociendo el valor de la profundidad de las ríides establecido mediante los mencionados estudios de perfilometría de poblaciones o bien trasladando a la práctica clínica cotidiana el método de la réplica en silicona de las ríides para calcular su volumen, es posible lograr una ritidoreversión más cercana a las necesidades reales de tratamiento.

En el presente artículo se infirió que para emplear materiales de relleno dérmico como el ácido hialurónico, conociendo el grosor

dermoepidérmico del rostro y la profundidad de las ríides o líneas de expresión asociadas al envejecimiento cutáneo, es posible calcular el volumen perdido o profundidad en tres dimensiones de la arruga, siendo esta medida directamente proporcional al máximo volumen de relleno dérmico a inyectar, volumen que denominamos de ritidoreversión, que en los casos más severos de ritidosis cutánea equivale a 0.055cc por cada centímetro de extensión, lo cual facilita el cálculo de la distribución del material a lo largo de la rítide en los pacientes.

REFERENCIAS

1. You-soo kim, kang woo lee, ji-soo kim, Young-chun gil, tansatit tanvaa, dong hoon sin, and hee-jin kim. Regional thickness of facial skin and superficial fat: application to the minimally invasive procedures. Clin. Anat. 2019; 32:1008-1018. Doi: 10.1002/ca.23331
2. Lee Kang-Woo, Kim Sang-Hwan, Gil Young-Chun, Hu Kyung-Seok, Kim Hee-Jin. Validity and reliability of a structured-light 3D scanner and an



- ultrasound imaging system for measurements of facial skin thickness. Clin. Anat. 2017; 30 (7): 878-886. <https://doi.org/10.1002/ca.22931>
3. A Comprehensive Examination of Topographic Thickness of Skin in the Human Face. Aesthetic Surgery Journal 2015; 35(8) 1007–1013.
 4. Gill HS, Prausnitz MR. Does needle size matter? J Diabetes Sci Technol 2007; 1 (5): 725-9
 5. Neelam a y cols. Aging differences in ethnic skin. J clin Aesthet dermatol. 2016; 9(1): 31-38.
 6. Carruthers A, Carruthers J, Hardas B, Kaur M, et al. A validated grading scale for crow's feet. Dermatol Surg 2008; 34:S173–8. 17.
 7. Carruthers A, Carruthers J, Hardas B, Kaur M, et al. A validated grading scale for forehead lines. Dermatol Surg 2008; 34:155–60. 18.
 8. Flynn TC, Carruthers A, Carruthers J, Geister TL, et al. Validated assessment scales for the upper face. Dermatol Surg 2012; 38:309–19.
 9. Task Force Committee for Evaluation of Anti-Aging Function. Guidelines for evaluation of anti-wrinkle products. J Jpn Cosmet Sci Soc 2007; 31:423–31.
 10. Hatzis J. The wrinkle and its measurement. A skin surface Profilometric method. Micron 35 2004; 201–219. doi:10.1016/j.micron.2003.11.007
 11. Luebberding S, Krueger N, and Kerscher M. Quantification of Age-Related Facial Wrinkles in Men and Women Using a Three-Dimensional Fringe Projection Method and Validated Assessment Scales. Dermatol Surg 2014;40:22–32 DOI: 10.1111/dsu.12377
 12. Painting Wrinkle Maps [Internet]. Softimage wiki. 2020 [citado 10 noviembre 2020]. Disponible en: <http://softimage.wiki.softimage.com/>



ACTA BIOCLINICA

Original

Miller-Kobisher Blanca y Col

Volumen 11, N° 22, Julio/diciembre 2021

Depósito Legal: PPI201102ME3815

ISSN: 2244-8136

DOI: <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.14200553>

xsidocs/face_tune_PaintingWrinkleM
aps.html



**PERCEPCIÓN DE LA CAPACITACIÓN EN INVESTIGACIÓN DE LOS
ESTUDIANTES DE LA FACULTAD DE ODONTOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD
CENTRAL DE VENEZUELA**

Yurilu González ¹, Yuli González ², Carlos Oberto ², Yuli Moret ³.

- 1. Hospital Militar Universitario “Dr. Carlos Arvelo”. Caracas, Venezuela.**
- 2. Universidad Central de Venezuela (UCV). Caracas, Venezuela.**
- 3. Facultad de Odontología. Universidad Central de Venezuela (UCV). Caracas, Venezuela.**

CORRESPONDENCIA: Av. Principal Country Club, El Bosque, Chacao. Estado Miranda. Venezuela. Teléfono: +584142118125.

Email: yuri3090@gmail.com, yuri3090@hotmail.com

RESUMEN

Determinar la percepción de la capacitación en investigación de los estudiantes de 4to año de la Facultad de Odontología de la Universidad Central de Venezuela (UCV) en el periodo académico 2020. La investigación realizada es de tipo descriptiva y transversal. La muestra evaluada quedó conformada por 83 estudiantes, escogidos por muestreo no probabilístico por conveniencia. Se



diseñó un instrumento para la recolección de los datos de tipo confidencial y auto administrado, el cual se envió en formato digital por la plataforma *Google Forms*®. El instrumento ha sido aplicado en investigaciones previas a estudiantes de medicina en Perú y Chile. se obtuvo que la mayoría de los estudiantes no pertenecían a una sociedad científica (79= 95,2%), no habían presentado resúmenes en congresos (76=91,6%), no tenían trabajos para publicar actualmente (57= 68,7%), y no habían publicado en revistas nacionales (80=96,4%) ni internacionales (82=98,8%). La mayoría manifestó que su capacitación en el proceso de publicación era nula (46=55,5%). Los estudiantes estuvieron de acuerdo con la importancia de publicar artículos científicos durante el pregrado ya que mejora la lectura crítica (80=96,4%). Por último, los estudiantes estuvieron de acuerdo que las principales limitaciones para publicar fueron falta de tiempo (59=71,1%). **Conclusión:** los estudiantes de 4to año de la Facultad de Odontología de la UCV, consideran que existen limitaciones en la capacitación en investigación en el pregrado; a pesar de considerar que el conocimiento en metodología de la investigación, lectura crítica y búsqueda de información son buenas.

PALABRAS CLAVE: Estudiantes de odontología, Investigación, Percepción. (DeCS)



**PERCEPTION OF THE RESEARCH TRAINING OF STUDENTS OF THE DENTAL
SCHOOL OF THE CENTRAL UNIVERSITY OF VENEZUELA**

ABSTRACT

To determine the perception of research training of 4th year students of the School of Dentistry of the Universidad Central de Venezuela (UCV) in the academic period 2020. This research is descriptive and cross-sectional. The selected sample was made up of 83 students, chosen by non-probability sampling for convenience. An instrument for the collection of confidential and self-administered data was designed, which was sent in digital format by the Google Forms® platform. The instrument has been applied in previous research to medical students in Peru and Chile. It was found that most of the students did not belong to a scientific society (79 = 95.2%), they had not presented abstracts at conferences (76 = 91.6%), there were no papers to publish at present (57 = 68, 7%), and had not published in national (80 = 96.4%) or international journals (82 = 98.8%). The majority stated that their training in the publication process was deficient (46 = 55.5%). The majority of students believed that publishing scientific articles during undergraduate studies improved their critical reading t (80 = 96.4%). Finally, the students considered that the main



limitation to publish were lack of time (59 = 71.1%). 4th year students of the UCV School of Dentistry, considered that there are limitations in research training in undergraduate; despite considering that the knowledge in research methodology, critical reading and information search are good.

KEYWORDS: Dental students, Research, Perception. (DeCS)

INTRODUCCIÓN

El método científico es el procedimiento mediante el cual podemos alcanzar un conocimiento objetivo de la realidad, tratando de dar respuesta a las interrogantes acerca del orden de la naturaleza (1); el cual se lleva a cabo mediante una serie de etapas que, observadas y seguidas de forma acuciosa y sistematizada; permiten conducir y concluir cualquier protocolo de investigación (2) Se resalta la importancia de la aplicación del

método científico y la investigación durante la formación académica y asistencial de los profesionales de la salud, ya que con dichas habilidades se generan profesionales con mejores competencias, como la habilidad para la gestión de información o la comunicación científica, las cuales se hacen imprescindibles para el desarrollo del conocimiento clínico y consolidación de un perfil profesional fundamentado en una práctica clínica basada en evidencias en



Ciencias de la Salud (3), además de producir investigaciones originales que supongan un avance en las distintas disciplinas de Ciencias de la Salud.

En la literatura podemos encontrar autores que estudian las distintas dificultades por las cuales los profesionales de la salud sienten recelo por el uso de la investigación, los cuales incluyen, problemas para leer, interpretar y comprender resultados de investigación, así como déficits para aplicar resultados de investigación en la práctica (4).

Cuando un estudiante considera la opción de una profesión enfocada en el área científica, debe considerar su interés por la investigación en tres factores fundamentales: recursos económicos, largo periodo de entrenamiento e inseguridad del éxito. Estos

factores hacen que muchas personas desistan de enfocar su carrera hacia la investigación. Así mismo las universidades pierden gradualmente su competitividad y los profesionales se convierten en meros repetidores de conocimientos generados por los países desarrollados (5).

En el contexto latinoamericano específicamente en Perú Ecuador y Venezuela la capacitación universitaria científica se ve en desventaja por la actividad asistencial, lo que genera grandes dificultades que se ven reflejadas en la disminución de nuevos investigadores y una deficiente cultura investigativa (6). Para el nivel de pregrado se han señalado distintos inconvenientes, destacándose la ansiedad que genera el proceso, la escasa relevancia de la



investigación para el futuro profesional y para la vida cotidiana del estudiante (6,7,8).

En estudio realizado por Mayta et al en el año 2013 se reporta que los estudiantes universitarios de pregrado de universidades como Chile, Bolivia, Venezuela, Perú, Paraguay, México y Honduras perciben, en su mayoría, que la formación universitaria recibida en temas relacionados a la investigación (especialmente en redacción científica y publicación) es deficiente, por lo que se han visto en la necesidad de crear organizaciones llamadas Sociedades Científicas de Estudiantes a través de las cuales se han desplegado diversas estrategias para solventar esta problemática (9)

A nuestro conocimiento no hemos encontrado estudios que evalúen el nivel de percepción

sobre el proceso de investigación que tiene los estudiantes de pregrado la Facultad de Odontología de la UCV.

Esta investigación tiene objetivo determinar la percepción de la capacitación en investigación de los estudiantes de 4to año de la Facultad de Odontología de la Universidad Central de Venezuela (UCV) en el periodo académico 2020.

MATERIAL Y MÉTODOS

De acuerdo al estudio planteado, la investigación realizada es de tipo descriptiva y transversal y de acuerdo al análisis y alcance de los resultados es de nivel descriptivo. Se realizó una recolección de datos directamente del lugar donde ocurren los hechos sin manipular o controlar las



variables. La población del siguiente estudio está representada por 90 estudiantes de 4to año de la Facultad de Odontología de la UCV, en el periodo académico 2020. Estos estudiantes son cursantes de la asignatura seminario de investigación donde participan en todas las etapas del desarrollo de una investigación, hasta la divulgación oral de la misma a través de las Jornadas de Investigación Odontológica Estudiantil. La muestra evaluada quedó conformada por 83 estudiantes, escogidos por muestreo no probabilístico por conveniencia. Se realizó el cálculo de tamaño de muestra, para una población total de 90 estudiantes, tomando un margen de error del 5% y un nivel de confianza de 95%, para un tamaño de muestra de 74 estudiantes. La muestra fue

seleccionada de acuerdo a los siguientes criterios de inclusión y exclusión.

Criterios de inclusión

Ser estudiante de 4to año de la Facultad de Odontología de la UCV.

Estudiantes que desean participar en el estudio.

Criterios de exclusión

Encuestas que hayan sido respondidas de manera incompleta.

Se diseñó un instrumento para la recolección de los datos de tipo confidencial y auto administrado, el cual se envió en formato digital por la plataforma *Google Forms*® a la lista de correos electrónicos de los estudiantes de 4to año suministrado por su respectiva



jefatura. El instrumento ha sido aplicado en investigaciones previas a estudiantes de medicina en Perú y Chile (9,10). El cuestionario Comprende tres secciones: 1) Experiencia en investigación: pertenecer a una sociedad científica, presentación de trabajos en congresos científicos, trabajos listos para publicar y publicaciones en revistas científicas nacionales e internacionales y forma como se inició en el área investigativa: junto a un docente investigador, con un grupo de investigación, solo, no tiene publicaciones. 2) Apreciación sobre el nivel de capacitación en investigación y publicación recibido en su formación universitaria y 3) Aspectos relacionados con la importancia y limitaciones de la publicación en el pregrado.

El nivel de capacitación en investigación se evaluó a través de cinco ítems: búsqueda de información, lectura crítica, metodología de la investigación, redacción de artículos científicos y proceso de publicación, en los que se preguntó sobre la capacitación que recibió durante la formación en pregrado a través de una escala de Likert de cinco alternativas: nula, deficiente, regular, buena y muy buena, la cual tuvo una alfa de Crombach de 0,82. (10). A todos los estudiantes que participaron en el estudio se les explicó los beneficios y riesgos propios de la investigación, y se obtuvo un consentimiento informado, en el que además se hizo énfasis en el carácter confidencial de su aporte, así como que la misma solo tiene fines científicos y académicos.



La información fue analizada mediante tablas en el programa Microsoft Office Excel 2014 y el análisis de las variables en el programa SPSS Versión 24. Se realizó la prueba de Kolmogorov- Smirnov para verificar la distribución normal de las variables. Las variables nominales se describieron como frecuencias absolutas y relativas. La prueba de Chi cuadrado (χ^2) fue calculada para determinar asociación entre variables cualitativas, y a su vez se reportó el valor de V de Cramer para medir la intensidad de asociación entre dos variables nominales. Por su parte, cuando las frecuencias fueron bajas se utilizó la prueba exacta de Fisher. La prueba U de Mann Whitney se utilizó para comparar la apreciación sobre el nivel de capacitación en investigación (medida

mediante la escala de Lieker) con la actividad científica de los estudiantes. Para todas las pruebas inferenciales se consideró el valor de p de dos colas significativas $<0,05$. Se utilizan tablas y figuras según el caso, como elementos de apoyo al análisis y discusión de los resultados.

Con respecto a los aspectos éticos, se cumplieron con las normativas internacionales de la declaración de Helsinki 2000 (autonomía, beneficencia, no maleficencia y justicia), así como las Normas de Buenas Práctica Clínica para Ensayos Clínicos expedidos por el Ministerio del Poder Popular para la Salud de Venezuela año 2014; y previa aprobación por el Comité de Bioética de la facultad respectiva, se procedió



a la aplicación de la metodología antes explicada. Estudio sin ningún tipo de riesgo.

RESULTADOS

La población total de estudiantes de 4to año fue de 90 estudiantes, de los cuales 7 fueron excluidos en vista que no respondieron la totalidad de las preguntas de la encuesta, obteniendo una muestra total (n) de 83 estudiantes encuestados. Con respecto a las características de los sujetos de estudios se evidencio que la mayoría correspondía al género femenino (75= 90,4%). Considerando la variable actividad científica, se obtuvo que la mayoría de los estudiantes no pertenecían a una sociedad científica (79= 95,2%), no habían presentado resúmenes en congresos

(76=91,6%), no tenían trabajos para publicar actualmente (57= 68,7%), y no habían publicado en revistas nacionales (80=96,4%) ni internacionales (82=98,8%). Con respecto a la forma de inicio de las publicaciones, la mayoría refirió no tener publicaciones en la actualidad (55=66,23%) y 15 estudiantes (18,07%) refirieron que lo habían hecho junto a un docente investigador. Pasando a la variable percepción sobre el nivel de capacitación en investigación durante el pregrado, la mayoría de los estudiantes manifestaron que su capacitación en el proceso de publicación era nula (46=55,5%), en cuanto a la redacción de artículos era regular (28=33,7%), y con respecto a metodología de la investigación, lectura crítica y búsqueda de información era buena



(44=53,0%, 34=41,0% y 37=44,6% respectivamente). Por su parte, la mayoría de los estudiantes estuvieron de acuerdo con la importancia de publicar artículos científicos durante el pregrado ya que mejora la lectura crítica (80=96,4%), contribuye a la producción científica nacional (79=95,2%), forma un hábito personal que contribuye al conocimiento de investigación (73=88,0%), permite que otros investigadores conozcan sus resultados (79=95,2%), refleja la valoración por la investigación realizada (73=88,0%), representa una forma de culminar con el proceso de investigación (53=63,9%) y la mayoría estuvo en

desacuerdo que esta era la única forma que se les reconociera como investigador (47=56,7). Por último, los estudiantes estuvieron de acuerdo que las principales limitaciones para publicar fueron falta de tiempo (59=71,1%), no haber sido capacitado en redacción científica (46=55,4%), desconocer el proceso de envío y seguimiento de artículos en una revista (74=89,2%), no manejar el inglés como lengua extranjera (57=68,7%), no tener cultura de publicación (44=53,0%) y desconocer en qué revistas podían publicar (49=59,0%). Todas las variables presentaron una distribución no gaussiana ($p < 0,05$). (Ver anexos Tabla 1).

Tabla 1. Características de los sujetos de estudio

Características	Valores	Valor de p
Muestra evaluada: n (%)	83 (100)	
Género: n (%)		



Femenino			75 (90,4)			<0,05
Masculino			8 (9,6)			
Actividad científica: n (%)	Si			No		
Pertenece a una sociedad científica	4 (4,8)			79 (95,2)		<0,05
Presentacion de resúmenes en congreso	7 (8,4)			76 (91,6)		
Trabajo para publicar actualmente	26 (31,3)			57 (68,7)		
Publicacion en revistas nacionales	3 (3,6)			80 (96,4)		
Publicacion en revistas internacionales	1 (1,2)			82 (98,8)		
Forma de inicio de publicaciones: n (%)						
Junto a un docente investigador			15 (18,07)			<0,05
Con un grupo de investigación			13 (15,07)			
Solo			0 (0)			
No tiene publicaciones			55 (66,23)			
Percepcion sobre capacitacion en pregrado: n (%)	Nulo	Deficiente	Regular	Buena	Muy buena	
Proceso de publicacion	46 (55,4)	16 (19,3)	13 (15,7)	6 (7,2)	2 (2,4)	<0,05
Redaccion de articulos	17 (20,5)	16 (19,3)	28 (33,7)	17 (20,5)	5 (6,0)	
Metodologia de investigacion	3 (3,6)	5 (6,0)	24 (28,9)	44 (53,0)	7 (8,4)	
Lectura critica	12 (14,5)	6 (7,2)	21 (25,3)	34 (41,0)	10 (12,0)	
Busqueda de informacion	3 (3,6)	7 (8,4)	22 (26,5)	37 (44,6)	14 (16,9)	



Importancia de la publicacion en pregrado: n (%)	Acuerdo	Desacuerdo	
Mejoro lectura critica	80 (96,4)	3 (3,6)	<0,05
Contribuyo a la produccion cientifica nacional	79 (95,2)	4 (4,8)	
Unica forma que me reconozcan como investigador	36 (46,4)	47 (56,6)	
Formo un habito personal y contribuyo a la cultura de investigacion	73 (88,0)	10 (12,0)	
Hago posible que otros investigadores conozcan mis resultados	79 (95,2)	4 (4,8)	
Refleja la valoracion que tengo por la investigacion realizada	73 (88,0)	10 (12,0)	
Asi culmino con el proceso de investigacion	53 (63,9)	30 (36,1)	
Limitaciones para publicar: n (%)	Acuerdo	Desacuerdo	
Falta de apoyo docente	36 (43,4)	47 (56,6)	<0,05
No tengo incentivo a nivel academico	38 (45,8)	45 (54,2)	
Por falta de tiempo	59 (71,1)	24 (28,9)	
Tengo problemas para el analisis de datos	27 (32,5)	56 (67,5)	
No se hido capacitado en redaccion cientifica	46 (55,4)	37 (44,6)	
Desconozco el proceso de envio y seguimiento de articulos en una revista	74 (89,2)	9 (10,8)	
No manejo el ingles como para publicar en revistas extranjeras	57 (68,7)	26 (31,3)	



No tengo cultura de publicacion	44 (53,0)	39 (47,0)
Desconozco en que revistas puedo publicar	49 (59,0)	34 (41,0)
La calidad de mis estudios no es para que sean publicados	17 (20,5)	66 (79,5)

Al analizar la asociación entre la percepción de la capacitación en investigación en pregrado y la publicación en revistas internacionales, solamente un estudiante refirió haber publicado en una revista internacional y a su vez especificó que su capacitación en todas las áreas de investigación durante el pregrado era nula. El resto de los estudiantes manifestó no tener publicaciones internacionales, de los cuales la

mayoría dijo que su capacitación en metodología de la investigación, lectura crítica y búsqueda de información era buena (53,7%, 41,5%, 45,1% respectivamente), con una p estadísticamente significativa ($p=0,048$) para los casos de metodología de la investigación y búsqueda de información. Para el resto de las variables no se encontró asociación estadísticamente significativa (Ver anexos Figura 1).

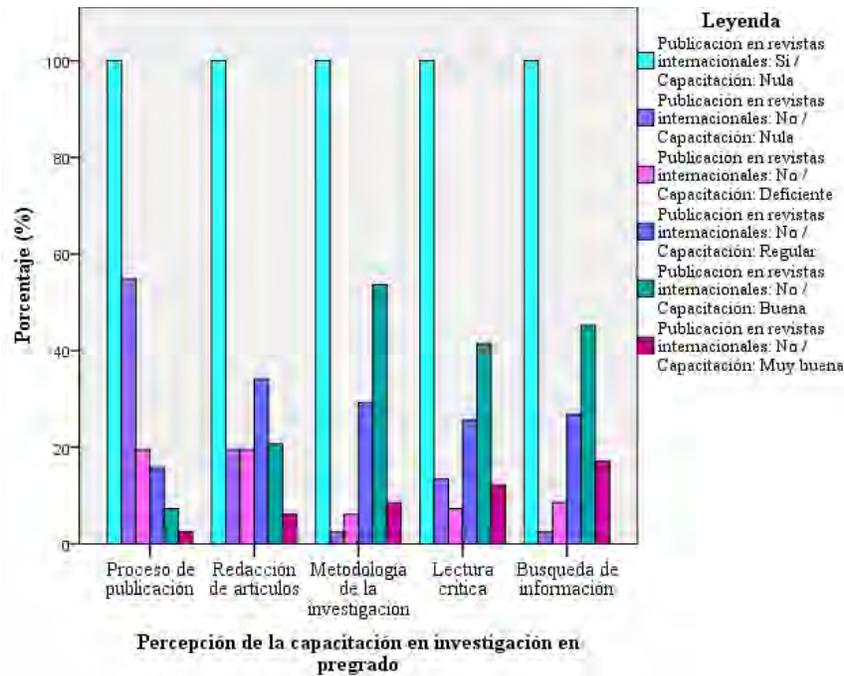


Figura 1. Asociación entre la percepción de la capacitación en investigación en pregrado y publicación en revistas internacionales

Con respecto a la asociación entre la importancia de la publicación en pregrado y la actividad científica realizada, solo 3 de los estudiantes (8,3%) que estuvieron de acuerdo que la publicación era la única forma de que

los reconocieran como investigadores, habían publicado en revistas nacionales ($p= 0,044$). Para el resto de las variables no se encontró asociación estadísticamente significativa. (Ver anexos Figura 2).

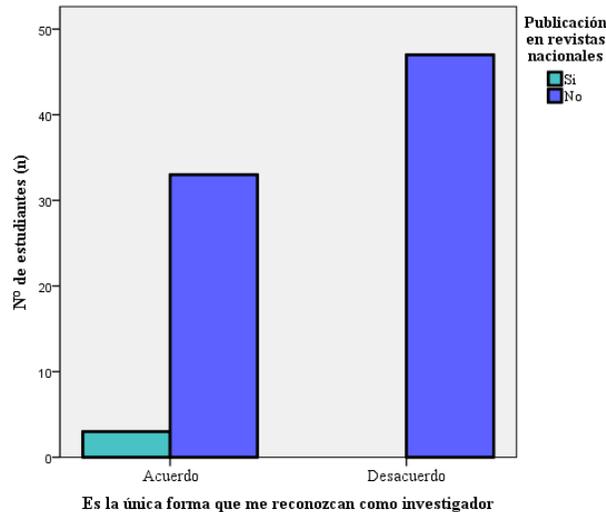


Figura 2. Asociación entre la importancia de publicación en pregrado y actividad científica

Por su parte, al analizar la relación entre las limitaciones para publicar y la actividad científica, la mayoría de los estudiantes

(58=98,3%) que refería falta de tiempo, no pertenecían a una sociedad científica ($p=0,037$). (Ver anexos Figura 3).

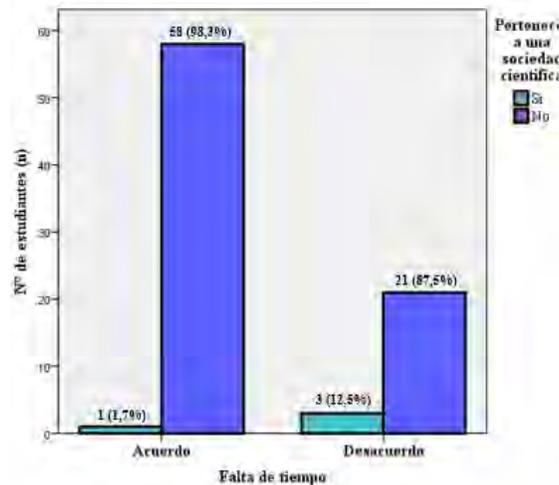


Figura 3. Asociación entre las limitaciones para publicar y actividad científica

A su vez la mayoría de los estudiantes que no manejaban el inglés como lengua extranjera (56= 98,2%) no pertenecían a ninguna sociedad científica (p= 0,049) (Ver anexos Figura 4) y finalmente, la mayoría de los estudiantes que desconocían en que revistas podían publicar (38=77,6%) no tenían

trabajos listos para su publicación en la actualidad ($\chi^2= 4,38$; V de Cramer =0,23 asociación moderada; p=0,036). Para el resto de las variables no se encontró asociación estadísticamente significativa. (Ver anexos Figura 5)

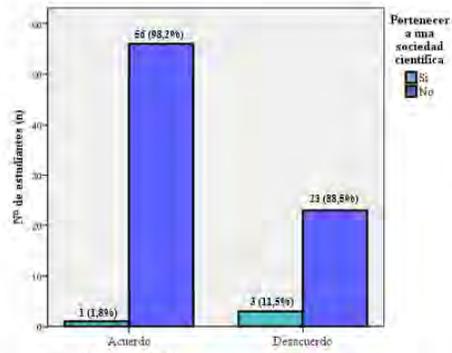


Figura 4. Asociación entre las limitaciones para publicar y actividad científica

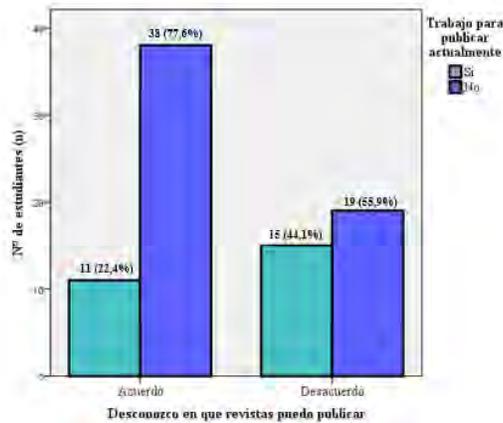


Figura 5. Asociación entre las limitaciones para publicar y actividad científica

DISCUSIÓN

Recibido: 12/06/2021
Aprobado: 30/06/2021



La actividad científica de los estudiantes estuvo evaluada por los siguientes ítems: pertenecer a una sociedad científica (79=95,2%), presentación de resúmenes en congresos (76=91,6%), trabajos publicados actualmente (57=68,7%), y, si habían publicado en revistas nacionales e internacionales (80=96,4%; 82=98,8% respectivamente). Todas las respuestas fueron negativas, estos aspectos reflejan la poca producción científica que existe en la etapa de pregrado, aspecto que se puede explicar por la tendencia a formar profesionales dedicados a actividades asistenciales (11,12). En referencia a como se iniciaron los estudiantes en la redacción de publicaciones, la mayoría refiere no tener publicaciones (55=66,23%). Bobenrieth en el año 2000 explica que los

estudiantes desmerecen su investigación o no se creen capaces de redactar un artículo científico, requiriendo de apoyo docente (13). Con respecto al conocimiento en metodología de la investigación, lectura crítica y búsqueda de información era buena. Esto puede deberse a un sistema de enseñanza en la que se priorizan los temas como metodología de investigación, búsqueda de información y lectura crítica. Al valorar la importancia de la publicación, se resalta que los estudiantes estuvieron de acuerdo que la misma mejora su lectura crítica, contribuye a la producción científica nacional y forma un hábito, además, permite que otros investigadores conozcan sus resultados. En otro orden de ideas, la mayoría estuvo en desacuerdo en que las publicaciones eran la única forma que se



les reconociera como investigador. Peralta y Espinosa en el 2005, consideran que la deficiente información en lectura crítica genera un problema en la adquisición de información de calidad. Con respecto a las limitaciones percibidas por los estudiantes para realizar publicaciones, la mayoría estuvo de acuerdo que la falta de tiempo, la poca capacitación en redacción científica, el desconocimiento del proceso de envío y seguimiento de artículos en una revista, no manejar el inglés como lengua extranjera y la escasa cultura de investigación, fueron las principales (14). Estudios realizados en España reportan (15,16,17,18), que la falta de tiempo y el excesivo trabajo asistencial son los principales obstáculos para dedicarse a la investigación. (19,20). Al analizar la

asociación entre la percepción de la capacitación en investigación y la publicación en revistas internacionales, un estudiante refirió haber publicado en una revista internacional y especificó que su capacitación en investigación era nula, hecho que puede ser explicado como una mala interpretación de las preguntas o que el estudiante se inició en la investigación junto a un docente. Existe una asociación estadísticamente significativa ($p=0,048$) entre los estudiantes que publicaron en revistas internacionales y los que refirieron que el conocimiento de metodología de la investigación y búsqueda de información era bueno. Los participantes que respondieron que la publicación era la única forma de que los reconocieran como investigadores, habían publicado en revistas



nacionales ($p= 0,044$) con una relación estadísticamente significativa. Al analizar las limitaciones que se refería a la falta de tiempo para publicar y el desconocimiento del inglés como lengua extranjera, se encontró una asociación estadísticamente significativa con los estudiantes que no pertenecían a una sociedad científica ($p=0,037$; $p= 0,049$ respectivamente) y finalmente, la mayoría de los estudiantes que desconocían en que revistas podían publicar ($38=77,6\%$) no tenían trabajos listos para su publicación en la actualidad ($p=0,036$).

Como conclusión del estudio se puede decir que la mayoría de los estudiantes de 4to año de la Facultad de Odontología de la UCV, consideran que existen limitaciones en la capacitación en investigación en el pregrado;

a pesar de considerar que el conocimiento en metodología de la investigación, lectura crítica y búsqueda de información son buenas. Se recomienda incrementar y fomentar actividades de investigación y publicación científica en estudiantes de pregrado.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Castan Y, editora. Introducción al Método Científico y sus etapas [Internet]. Instituto Aragonés de Ciencias de la salud; 2014 [citado 2020 Jun 6]. Disponible en:<http://www.ics-aragon.com/cursos/salud-publica/2014/pdf/M2T00.pdf>



2. Otzen T, Manterola C, Rodríguez-Núñez, I, García M. La Necesidad de Aplicar el Método Científico en Investigación Clínica: Problemas, Beneficios y Factibilidad del Desarrollo de Protocolos de Investigación. *International Journal of Morphology*. Sociedad Chilena de Anatomía. 2017; 35(3): 1031-1036.
3. Hueso C, Aguilar M, Cambil J, Serrano M, Cañadas G. Efecto de un programa de capacitación en competencias de investigación en estudiantes de ciencias de la Salud. *Enfermería Global*. 2016; 15 (4): 141-161.
4. Larkin M, Griffith C, Capasso V, Cierpial C, Gettings E, Walsh K, et al. Promoting research utilization using a conceptual framework. *J Nurs Adm*. 2007; 37: 510-6.
5. Perales A. La ética y el investigador: Recomendaciones prácticas para jóvenes investigadores. *CIMEL*. 2005; 10(2): 64-68
6. Papanastasiou, E. Factor structure of the “Attitudes toward Research” Scale. *Statistics Education Research Journal*. 2005; 4(1): 16-26.
7. Rojas M, Linares J. Formación universitaria en salud: más calidad, mejor futuro. *Revista UIS Humanidades*. 2011; 39(1): 77-91.
8. Prince M., Felder R., Brent R. Does faculty research improve undergraduate teaching? an analysis



- of existing and potencial synergies. Journal of Engineering Education. 2007; 96 (4): 283-294.
9. Mayta P, Cartagena R, Pereyra R, Portillo A, Alfonso R. Apreciación de estudiantes de medicina latinoamericanos sobre la capacitación universitaria en investigación científica. Rev Med Chile 2013; 141: 716-722
10. Molina J, Huamani Ch, Percy T. Apreciación estudiantil sobre la capacitación universitaria en investigación: Estudio preliminar. Rev Perú Med Exp Salud Publica. 2008; 25 (3): 325-29.
11. Montilla M, Luciano R. La investigación en pregrado diseño de una propuesta para su inserción en su plan de estudios de Odontología. Acta Odontológica Venezolana 2010; 48 (3).
12. Acetituno H, Lanz JR, Lanz JA, Lander G. Interés, conocimientos, recursos y limitaciones de los estudiantes de medicina en la investigación científica. Gac Med Caracas 1998; 106 (1): 40 -46.
13. Bobenrieth M. Mitos y realidades en torno a la publicación científica. Med Clin (Barc) 2000; 114 (3):339-341.
14. Peralta I, Espinosa P. ¿El dominio de la lectura crítica va de la mano con la proximidad a la investigación en salud? Rev Invest Clin. 2005; 57(6): 775-83.



15. Díaz G, Palmeiro G, Portuburo M, Vásquez, Rúas A. Factores que influyen en la producción científica en atención primaria. *CadAten Prim.* 2007; 13(1): 169-172.
16. Llovera J. Reflexionando sobre los obstáculos en la investigación de atención primaria. *Opinión de los investigadores.* FIS, 1996.
17. Jowett S, Macleod J, Wilson S, Hobbs F. Research in primary care: extent of involvement and perceived determinants among practitioners from one English region. *Br JGen Pract.*2000; 50: 387-9.
18. Rosemann T, Szecsenyi J. General practitioners' attitudes towards research in primary care: qualitative results of a cross-sectional study. *BMC Fam Pract.*2004; 5:31.
19. Gavilán E, Pérula L, Jiménez L. Actitud hacia la investigación de residentes y tutores de medicina de familia en una unidad docente. *Med fam Andal.* 2006; 1: 10-1.
20. Fernández, I. ¿Investigación en atención primaria? *SemFYC.* 2003;31(5): 281-284. (Citado el 20 de junio del 2020) Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-atencion-primaria-27-articulo-investigacion-atencion-primaria-13045699>.



ACTA BIOCLINICA

Volumen 11, N° 22, Julio/diciembre 2021

Original

Depósito Legal: PPI201102ME3815

González, G y col.

ISSN: 2244-8136

DOI: <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.14200553>



CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LECHE PASTEURIZADA COMERCIALIZADA EN SUPERMERCADOS DE MÉRIDA-VENEZUELA

Gutiérrez María Gabriela¹; Salah Tarek²; Andueza Félix^{1,3}, Lugo Ángela¹

1. Departamento de Bioanálisis Clínico. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.
2. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.
3. Escuela de Ingeniería Ambiental. Facultad de Ingeniería en Geología, Minas, Petróleo y Ambiental. Universidad Central del Ecuador. Quito, Ecuador.

CORRESPONDENCIA: María Gabriela Gutiérrez. Departamento de Bioanálisis Clínico. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes. Teléfono: 58-274-240.3494
Email: mggutierrez239@gmail.com

RESUMEN

Evaluar la calidad microbiológica de leche pasteurizada y leche UHT (ultra high temperature) saborizada comercializada en supermercados de la ciudad de Mérida, situada en la cordillera de Los Andes, al noroeste de Venezuela, en Julio del 2017. Métodos: El presente estudio es de enfoque cuantitativo, tipo descriptivo y diseño experimental transversal. Se realizó un muestreo aleatorio estratificado en supermercados seleccionados del municipio Libertador. Los recuentos de bacterias aerobias mesófilas, coliformes, mohos, determinación presuntiva de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* se hizo en medios de cultivo específicos para cada grupo microbiano. La identificación de las cepas bacterianas aisladas se realizó acorde a lo indicado por MacFaddin (2003), complementadas con sistemas API[®]. Los recuentos promedio de los indicadores de calidad sanitaria en leche pasteurizada entera indican bacterias aerobias mesófilas $7,4 \times 10^2$ UFC/mL, coliformes totales $4,9 \times 10^1$ UFC/mL y mohos $0,5 \times 10^1$ UFC/mL. En leche pasteurizada desnatada los valores promedio fueron bacterias aerobias



mesófilas $7,2 \times 10^4$ UFC/mL, coliformes totales $8,1 \times 10^2$ UFC/mL, coliformes fecales $7,5 \times 10$ UFC/mL y mohos $0,8 \times 10$ UFC/mL. En leche UHT saborizada sólo se detectaron bacterias aerobias mesófilas $3,8 \times 10$ UFC/mL y mohos $0,1 \times 10$ UFC/mL. No se detectó presencia de *S. aureus* ni *P. aeruginosa* en ninguna de las muestras de leche analizadas. En leche pasteurizada se identificaron 3 cepas Gram negativas correspondientes a *Citrobacter freundii*, *Enterobacter* spp. y *Escherichia coli*. Se evidenció que la leche pasteurizada entera y leche UHT saborizada cumplen con los requisitos de calidad microbiológica, mientras que la leche pasteurizada desnatada se considera inaceptable para su consumo.

PALABRAS CLAVE: Análisis de los alimentos, bacterias, control de calidad.

MICROBIOLOGICAL QUALITY OF PASTEURIZED MILK SOLD IN SUPERMARKETS IN MERIDA-VENEZUELA

ABSTRACT

The purpose of the work was to evaluate the microbiological quality of pasteurized milk and flavored UHT (ultra high temperature) milk commercialized in supermarkets in Merida city, located on the Andes mountain range, northwest of Venezuela, in July 2017. Methods: The present study is quantitative approach, descriptive type, and experimental cross-sectional design. A stratified random sampling was carried out in selected supermarkets in the Libertador municipality. The counts of mesophilic aerobic bacteria, coliforms, molds, presumptive determination of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* were made in specific culture media for each microbial group. The identification of the isolated bacterial strains was carried out according to that indicated by MacFaddin (2003), supplemented with API® systems. The average counts of the sanitary quality indicators in whole pasteurized milk indicate mesophilic aerobic bacteria 7.4×10^2 CFU/mL, total coliforms 4.9×10 CFU/mL and molds 0.5×10 CFU/mL. In pasteurized skimmed milk the average values were mesophilic aerobic bacteria 7.2×10^4 CFU/mL, total coliforms 8.1×10^2 CFU/mL, fecal coliforms 7.5×10 CFU/mL



and molds 0.8×10^6 CFU/mL. In flavored UHT milk, only 3.8×10^6 CFU/mL aerobic mesophilic bacteria and 0.1×10^6 CFU/mL mold were detected. No presence of *S. aureus* or *P. aeruginosa* was detected in any of the milk samples analyzed. It was possible to identify from pasteurized milk, 3 Gram negative strains corresponding to *Citrobacter freundii*, *Enterobacter* spp. and *Escherichia coli*. Show that pasteurized whole milk and flavored UHT milk meet the microbiological quality requirements, while pasteurized skim milk is considered unacceptable for consumption.

KEYWORDS: Food analysis, bacteria, quality control.

INTRODUCCIÓN

La leche de vaca es un alimento ampliamente consumido debido a su gran valor nutricional y versatilidad culinaria. Su contenido de nutrientes, aminoácidos esenciales, vitaminas, minerales y su elevado contenido de agua hacen de este producto un excelente medio para el crecimiento de microorganismos, incluyendo patógenos bacterianos que pueden causar enfermedades en los consumidores. Este alimento, desde el momento de su síntesis en las glándulas mamarias del ganado vacuno, su recolección, transporte, almacenamiento y hasta el momento de su llegada al consumidor final, se encuentra expuesto a numerosos riesgos biológicos y fisico-químicos que pueden alterar no solamente

su calidad nutricional original, sino también sus características organolépticas y la inocuidad esperada durante su consumo (1, 2, 3, 6, 30).

El consumo de derivados lácteos de calidad microbiológica inadecuada se ha asociado a la ocurrencia de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) en diversos países del Mediterráneo, el subcontinente indio, regiones de África, América Latina y Central. Algunos microorganismos causantes de diarrea y transmitidos por el consumo de alimentos contaminados son *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella* sp., *Shigella* spp. y *Staphylococcus aureus*. Además de esto, los psicrotrofos, especialmente del género



Pseudomonas, constituyen un importante grupo microbiano causante de alteración de los productos lácteos debido a su capacidad de producir enzimas proteolíticas y lipolíticas termoestables (1, 2, 3, 4, 5).

En Venezuela, los principales centros productores de leche se localizan geográficamente en los estados del occidente del país, tales como Zulia, Trujillo y Mérida, que en conjunto aportan diariamente un estimado de 490.000 Litros destinados a la industria láctea (6). El procesamiento tecnológico industrial de este alimento prolonga su vida útil y da lugar a derivados con distinto porcentaje de grasa, que pueden contener aditivos alimentarios y otros ingredientes funcionales necesarios para su elaboración.

Algunos de los productos lácteos más ampliamente comercializados son la leche pasteurizada entera, desnatada y leche saborizada. Esta última clase de leche es una variedad comercial resultante de la pasteurización de la leche entera o semidesnatada, seguida de la adición de edulcorantes y esencias tales como canela,

cacao, fresa y vainilla (7, 8, 9). Se ha demostrado que a pesar del tratamiento térmico al que se someten estos productos, algunos microorganismos y sus enzimas pueden estar presentes después del complejo proceso de pasteurización, razón por la cual diversas investigaciones destacan la importancia de garantizar la calidad sanitaria de productos lácteos de venta al público (10, 11, 12, 13, 14, 15).

La Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN) se encarga de regular la calidad de la leche pasteurizada según lo establecido en la norma técnica 798:94 (8), mientras que la leche esterilizada o UHT es regulada por la norma 1205:2001 (16). Considerando la importancia del estado Mérida como productor de leche, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar la calidad microbiológica de leche pasteurizada y leche UHT saborizada en supermercados seleccionados, a fin de constatar que estos productos conservan sus atributos microbiológicos durante la cadena de comercialización y su consumo no

representa un riesgo potencial para la salud humana.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Descripción de investigación y recolección de las muestras

Se planteó una investigación con enfoque cuantitativo, tipo descriptivo y diseño experimental transversal. Para efectuar este estudio se seleccionaron cuatro supermercados que comercializan leche

pasteurizada, ubicados en la avenida Las Américas, municipio Libertador del estado Mérida, Venezuela (Figura 1). Para la selección de las muestras se utilizó la técnica de muestreo aleatorio estratificado, considerando tres marcas comerciales (A, B, C). En cada supermercado (identificados como S1, S2, S3, S4), se escogieron aleatoriamente las muestras abarcando todas las fechas de expiración disponibles en el refrigerador.

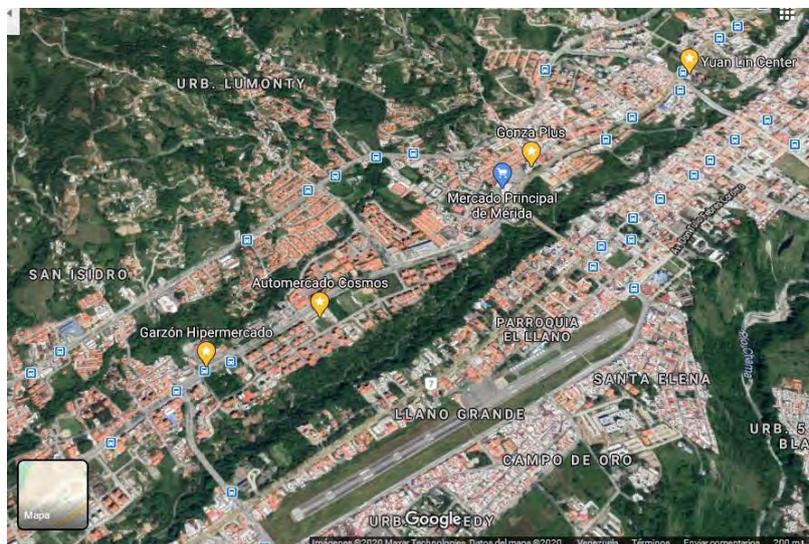


Figura 1. Ubicación de los supermercados seleccionados en Mérida, Venezuela (Google Earth)

Se recolectaron cuatro muestras de: leche entera de la marca A, leche desnatada de la marca B y leche UHT saborizada de la

marca C. Durante el muestreo se registró la temperatura promedio de las neveras (Figura 2) en las que se efectuó la

recolección utilizando un termohigrómetro (Extech, Estados Unidos) y se tomó nota de la fecha de vencimiento.



Figura 2. Fotografía de las neveras horizontales encontradas en los supermercados de Mérida, Venezuela.

Las muestras fueron recolectadas en el mes de julio 2017 en horas de la mañana y se transportaron al Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida-Venezuela, en cavas con hielo. Seguidamente se almacenaron en un refrigerador a 4°C hasta el momento de su

análisis, realizado dentro de las 24 horas posteriores a la recolección.

2. Determinación de indicadores de calidad sanitaria:

Se realizó utilizando el método de recuento en placa. Para cada muestra se hicieron diluciones decimales sucesivas con agua peptonada estéril en tubos identificados



como: sin diluir (SD), 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4} . De cada dilución se sembró por triplicado 1mL en medios de cultivo específicos para determinar los indicadores de calidad sanitaria.

El conteo de colonias características se realizó según lo establecido por APHA (17) considerando aquellas diluciones cuyo recuento se encontraba entre 30-300 colonias. El número promedio de colonias en las tres placas de una misma dilución se multiplicó por la dilución correspondiente y el volumen del inóculo para obtener el recuento total expresando el resultado en unidades formadoras de colonias por mL (UFC/mL).

2.1 Bacterias aerobias mesófilas (BAM):

Se utilizaron placas de agar plate count (Himedia, India) y se incubó en estufa (Mettler, Alemania) a 30°C por 48 horas (17). Las muestras de leche UHT saborizada se incubaron a 32°C acorde a la norma COVENIN 1205:2001 (16). Finalizado el tiempo de incubación se efectuó el conteo en placa de las

colonias características (redondeadas, color beige, bordes enteros).

2.2 Coliformes totales y fecales: Se utilizaron placas de agar eosina azul de metileno (Himedia, India) y se procedió según lo descrito en APHA (17) sembrando dos series de placas por cada muestra e incubando en estufa una de las series a 37°C durante 48 horas para la determinación de coliformes totales y la otra serie a 44,5°C en baño de agua (Mettler, Alemania) para la detección de coliformes fecales. Se realizó el conteo de colonias características puntiformes de color negro con o sin brillo verde metálico.

2.3 Hongos: Se sembraron las muestras en profundidad en placas de agar Sabouraud dextrosa (BBL Becton Dickinson and company, Estados Unidos) y se incubaron a temperatura ambiente durante cinco días (17).

3. Determinación presuntiva de *Staphylococcus aureus*: Se sembraron



las muestras en placas de agar Baird-Parker (Himedia, India) y se incubaron en estufa a 37°C por 48 horas según la metodología establecida en COVENIN 1292:2004 (18). Se consideraron sospechosas de *S. aureus* las colonias pequeñas de color negro, brillantes y rodeadas de un halo opaco.

4. Determinación de *Pseudomonas*

aeruginosa: Se utilizaron placas de agar cetrimide (Himedia, India) e incubación a 37°C por 48 horas para la detección de *P. aeruginosa* en las muestras (17). Se consideraron características las colonias pequeñas de color azul verdoso.

5. Aislamiento e identificación de cepas bacterianas:

Luego del recuento microbiano se realizaron aislamientos bacterianos en agar BHI (Himedia, India) y se incubó en estufa a 37°C por 48 horas. A partir de este crecimiento se realizó la tinción

de Gram y las pruebas bioquímicas establecidas en los esquemas de MacFaddin (19) complementadas utilizando los sistemas miniaturizadas API® (BioMérieux, Francia). Se consideraron aceptables los resultados de identificación cuya probabilidad de correspondencia estuviese por encima del 75% según el sistema Apiweb (20).

RESULTADOS

1. Temperatura de almacenamiento y vida útil

En la tabla 1 se aprecian los valores promedio de temperatura de almacenamiento y tiempo de vida útil de las distintas marcas de leche en los establecimientos muestreados.

Tabla 1. Temperatura de almacenamiento y tiempo de vida útil de leche comercializada en supermercados seleccionados de Mérida

Marca	Temperatura (°C)	Tiempo vida útil(días)
A	5,68 ± 1,14	5,00
B	6,25 ± 1,93	4,00
C	23,55 ± 1,15	68,75

2. Recuento de microorganismos

En la tabla 2 se evidencian las variaciones en los recuentos de microorganismos

indicadores de calidad sanitaria en las tres marcas de leche: entera (A), desnatada (B) y saborizada (C).

Tabla 2. Recuentos de microorganismos indicadores de calidad sanitaria en leche comercializada en supermercados seleccionados de Mérida, Venezuela.

Marca	Aerobios mesófilos (UFC/mL)	Coliformes totales (UFC/mL)	Coliformes fecales (UFC/mL)	Mohos (UFC/mL)
A	7,4x10 ² ± 0,34	4,9x10± 0,16	0	0,5x10± 0,09
B	7,2x10 ⁴ ± 0,27	8,1x10 ² ± 0,12	7,5x10± 0,15	0,8x10 ± 0,11
C	3,8x10 ± 0,21	0	0	0,1x10± 0,14

*Los valores expresados en UFC/mL corresponden al promedio ± desviación estándar de 3 réplicas por cada muestra de leche de 3 marcas distintas, para un total de 12 muestras.

En la tabla 3 se presenta la distribución de frecuencias de cada una de las variables que constituyen los indicadores de calidad sanitaria. El rango de cada variable está conformado por los valores numéricos que

se encuentran por encima y por debajo del límite máximo establecido por la norma COVENIN 798:94 para leche pasteurizada (8), por lo que sólo se consideran las

muestras de leche de las marcas A y B estudiadas.

Tabla 3. Distribución de frecuencia de las variables aerobios mesófilos, coliformes totales, coliformes fecales y hongos

Variable	Rango (UFC/mL)	Marcas					
		A		B		Total	
		F	%	F	%	F	%
Aerobios mesófilos	$\leq 2 \times 10^4$	4	100	1	25	5	62,5
	$> 2 \times 10^4$	0	0	3	75	3	37,5
Coliformes totales	$\leq 1 \times 10^2$	4	100	0	0	4	50
	$> 1 \times 10^2$	0	0	4	100	4	50
Coliformes fecales	$\leq 0,3 \times 10$	4	100	1	25	5	62,5
	$> 0,3 \times 10$	0	0	3	75	3	37,5
Hongos	$\leq 1 \times 10^2$	4	100	4	100	8	100
	$> 1 \times 10^2$	0	0	0	0	0	0

3. Determinación de *S. aureus* presuntivo y *P. aeruginosa*

En las muestras de leche analizadas en este estudio no se encontró presencia de *S. aureus* ni de *P. aeruginosa*, al menos mediante la técnica de recuento en placa.

4. Identificación de las cepas bacterianas aisladas

Los resultados obtenidos en la identificación de cepas bacterianas provenientes de las muestras de leche pasteurizada marcas A y B recolectadas en supermercados de la ciudad de Mérida, Venezuela, se resumen en la Tabla 4.

Tabla 4. Identificación de las cepas aisladas en muestras de leche pasteurizada de marcas distintas



Cepa	Tinción	Especies	% ID
AS4C2	Gram negativa	<i>Citrobacter freundii</i>	98,9
BS3C5	Gram negativa	<i>Enterobacter spp.</i>	85,3
BS4C7	Gram negativa	<i>Escherichia coli</i>	97,9

*El código de las cepas representa los datos de origen:

A: Leche pasteurizada Marca A; B: Leche pasteurizada Marca B; S: Supermercado de recolección (S1, S2, S3, S4) C: número de cepa

DISCUSIÓN

La temperatura promedio de almacenamiento de las distintas marcas de leche pasteurizada en los cuatro supermercados seleccionados resultó de 5,68°C para la marca A y de 6,25°C para la marca B (Tabla 1). Ambos valores se encuentran por encima de la temperatura de conservación definida en la norma COVENIN 798:94 para leche pasteurizada (8), la cual establece que la temperatura máxima debe ser 5°C. El almacenamiento de la leche a temperaturas de refrigeración inadecuadas puede acelerar el proceso de deterioro causado por la presencia de microorganismos y sus enzimas.

Las enzimas proteolíticas producidas por microorganismos psicrótrofos ocasionan la

liberación de péptidos causantes de sabor amargo en la leche. Diversas investigaciones coinciden en que la actividad enzimática se reduce cuando el producto cumple adecuadamente la cadena de frío desde el momento de la producción y transporte hasta la venta a los consumidores (6, 7, 13, 21). A temperaturas inferiores a 7°C la leche puede sufrir alteraciones debido a la contaminación post-pasteurización, especialmente por *Pseudomonas*, mientras que a temperaturas superiores a 12°C existe una mayor influencia de microorganismos termodúricos en la alteración del producto (13).

Estudios realizados por Valbuena y colaboradores en el año 2004 en un total de



216 muestras de leche pasteurizada de 5 marcas comerciales venezolanas (10), evidenciaron que el producto se almacenaba para la venta a temperaturas ampliamente variables, desde 0,72°C hasta 182°C, siendo la temperatura promedio al momento de la recolección de las muestras de 6,02°C, lo que resulta similar a los valores encontrados en este estudio. Es recomendable un monitoreo frecuente por parte de las autoridades sanitarias responsables respecto a este parámetro durante la cadena de comercialización debido a su incidencia en la calidad microbiológica.

En relación a la leche UHT saborizada estudiada, la temperatura promedio al momento de recolección fue de 23,55°C. Por tratarse de un producto UHT se comercializa a temperatura ambiente, según lo dispuesto en la norma COVENIN 1205:2001 leche esterilizada (16). La inspección visual de los envases muestreados evidenció que se encontraban herméticamente sellados y el rótulo indicaba conservar a temperaturas inferiores a 30°C, lo que resultó conforme. Por otra parte, el tiempo de vida útil de la

leche pasteurizada en este estudio resultó en promedio entre 4 a 5 días hasta la fecha de caducidad, mientras que la leche UHT saborizada tenía un promedio de vida útil de 68,75 días hasta la fecha de consumo preferente.

Los resultados de los análisis microbiológicos de la leche pasteurizada entera marca A, demuestran un recuento promedio de bacterias aerobias mesófilas igual a $7,4 \times 10^2$ UFC/mL, coliformes totales $4,9 \times 10$ UFC/mL, coliformes fecales ausentes y mohos $0,5 \times 10$ UFC/mL. Para el caso de las muestras de leche pasteurizada desnatada marca B, los resultados de los recuentos promedio evidenciaron bacterias aerobias mesófilas $7,2 \times 10^4$ UFC/mL, coliformes totales $8,1 \times 10^2$ UFC/mL, coliformes fecales $7,5 \times 10$ UFC/mL y mohos $0,8 \times 10$ UFC/mL (Tabla 2). En las muestras de leche pasteurizada marca B se obtuvieron mayores recuentos en todas las variables estudiadas, e inclusive presencia de coliformes fecales en las muestras, lo que es indicativo de calidad sanitaria deficiente.



En el estudio de calidad sanitaria realizado por Luigi y colaboradores en el año 2015 en muestras de leche pasteurizada entera de una marca venezolana (12), los resultados evidenciaron recuentos promedio de bacterias aerobias mesófilas $1,8 \times 10^4$ UFC/mL, coliformes totales $2,6 \times 10^3$ UFC/mL, coliformes fecales $0,7 \times 10$ UFC/mL y mohos $0,2 \times 10$ UFC/MI (11). Al comparar los resultados obtenidos en el presente trabajo con los de Luigi y colaboradores, se puede afirmar que los valores del contaje microbiano para la leche pasteurizada entera marca A son menores, mientras que para la leche desnatada marca B, los recuentos son en general más elevados, lo que sustenta el hecho de que su calidad sanitaria es inferior.

Con relación a los indicadores de calidad sanitaria obtenidos en este estudio para leche pasteurizada entera respecto a la norma venezolana COVENIN 798:94 (8), se evidencia que el 100% de las muestras se encuentran conformes a los límites permitidos para aerobios mesófilos, coliformes totales y mohos. En contraste, el 75% de las muestras de leche pasteurizada

desnatada sobrepasan el límite de aerobios mesófilos, el 100% posee coliformes totales en recuentos superiores al permitido y un 75% de estas contienen coliformes fecales (Tabla 3). La presencia de coliformes fecales en leche pasteurizada es inaceptable debido a que constituye un riesgo para la salud de los consumidores.

Por tratarse de un alimento de origen animal, la leche es susceptible de contaminación microbiana procedente de diferentes fuentes durante su obtención, tales como ubres de vacas infectadas, piel y heces del animal, polvo del suelo, prácticas de ordeño antihigiénicas, entre otras, lo que contribuye a que sea altamente perecedera. A pesar del tratamiento térmico, la presencia de microorganismos post-pasteurización puede deberse a factores tales como recuentos excesivos de aerobios mesófilos en la materia prima, contacto del producto con la vestimenta de los operarios, utensilios o envases contaminados, incorporación accidental de agua utilizada para enfriamiento entre otras (7, 14, 22, 23). El incumplimiento de las buenas prácticas de manufactura y buenas prácticas de



distribución afectarán la calidad final del producto comercial.

Es importante conocer el número total de microorganismos presentes en la leche que son causantes de enfermedades, a fin de evaluar si el producto es apto para el consumo humano. Los coliformes fecales tales son habitantes normales del intestino grueso, por lo que su presencia podría ser indicativa de contaminación fecal. Considerando los resultados de este estudio y similares (3, 4, 5, 11, 15, 24), es posible afirmar que el hallazgo de estos microorganismos en leche pasteurizada es un indicador de prácticas de manipulación antihigiénicas durante la elaboración, distribución, transporte y almacenamiento del producto. En estas condiciones, es fundamental advertir sobre la fuente causante de la contaminación, mejorar las prácticas de higiene y supervisar adecuadamente los procesos de fabricación.

Por otra parte, en las muestras de leche UHT saborizada marca C, se obtuvo un recuento promedio de aerobios mesófilos de $3,8 \times 10$ UFC/mL y mohos $0,1 \times 10$ UFC/mL, no se

detectaron coliformes totales ni fecales en esta marca (Tabla 2). En este tipo de producto en particular la norma COVENIN 1205:2001 leche esterilizada (16) establece como único requisito microbiológico la presencia de aerobios mesófilos hasta un máximo de 100 UFC/mL, por lo que se considera que el total de estas muestras resultaron conformes. Estos resultados son similares a los obtenidos por Barrera y Velásquez en el año 2011, quienes realizaron un estudio microbiológico en leches saborizadas a fresa y chocolate, comercializadas en los principales supermercados de San Salvador, El Salvador (25). Los investigadores encontraron que la totalidad de las muestras cumplían con los requisitos microbiológicos del reglamento técnico centroamericano RTCA 67.04.50:08 en cuanto al recuento máximo de coliformes < 3 NMP/mL y de *S. aureus* < 10 NMP/mL, por lo que consideraron seguro el consumo de estos productos.

El uso de vainillina, aceites esenciales de canela y clavo como aditivos en la leche pasteurizada posee un efecto



antimicrobiano sobre *L. monocytogenes* y *E. coli* O157:H7, el cual se incrementa cuando el producto se conserva a temperaturas por debajo de los 7°C. Se ha demostrado, que el efecto antimicrobiano de los aceites esenciales es mayor en leche desnatada que en leche entera debido a que la presencia de grasa puede ejercer un efecto protector sobre los microorganismos (9). El consumo de leche saborizada ha gozado de mayor aceptación por los consumidores en años recientes, constituyendo una alternativa segura desde el punto de vista microbiológico cuando se almacena según las indicaciones del fabricante, tal como demuestran los resultados de este estudio y similares (4, 12, 25, 26). Particularmente, la leche UHT saborizada analizada en esta investigación, demostró estabilidad microbiológica bajo almacenamiento a temperatura ambiental.

Por otra parte, los resultados obtenidos en la tinción de Gram de las cepas aisladas de las muestras de leche pasteurizada marcas A y B, evidenciaron la presencia de bacterias Gram negativas representadas por las especies de enterobacterias: *Citrobacter*

freundii, *Enterobacter spp.* y *Escherichia coli* (Tabla 4). Estos hallazgos corroboran la presencia de coliformes en las muestras analizadas en el presente trabajo, reflejados en los recuentos de los indicadores de calidad sanitaria.

Durán y colaboradores en el año 2010, estudiaron la composición microbiológica de quesos elaborados artesanalmente utilizando leche de cabra en una localidad del estado Lara, en Venezuela (27). Dichos investigadores encontraron recuentos de coliformes superiores a la normativa oficial para queso e identificaron las especies *E. coli* y *C. freundii*, lo que es indicativo de calidad sanitaria deficiente. Por su parte, Leyva y colaboradores en el año 2008, reportaron la presencia de *Enterobacter sakazakii* en fórmulas infantiles a base de leche en polvo comercializadas en Cuba (28), alertando el riesgo que supone dicho hallazgo debido a que se trata de productos para alimentación de infantes.

Particularmente, algunas especies de *E. coli* son causantes de patología en el ser humano y pueden contaminar el agua, los alimentos



y el medioambiente. La patogenicidad de *E. coli* es determinada por su genoma, razón por la cual es de gran importancia identificar las enterobacterias que puedan estar presentes en los alimentos debido a que existen especies portadoras de genes de virulencia y de resistencia a antimicrobianos. Alrededor del mundo se estima que anualmente el consumo de alimentos contaminados ocasiona enfermedad en aproximadamente 1 de cada 10 habitantes, e inclusive produce la muerte en casi 420.000 personas por año. La inocuidad de los alimentos es fundamental para la seguridad alimentaria, la salud pública y el desarrollo económico de la población (29, 30, 31).

En un estudio microbiológico realizado por Millán y colaboradores en el año 2017 en muestras de leche cruda provenientes de una granja lechera ubicada en Mérida, Venezuela (30), los autores obtuvieron un recuento de enterobacterias de $1,4 \times 10^5$ UFC/mL, valor que resulta superior al permitido por normativas internacionales. Los resultados de la identificación mediante galerías API20E realizados en dicho

estudio, revelaron al presencia de *E. coli* en un 42% de los aislados. En las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana y PCR múltiple, dicha especie demostró resistencia frente a Ampicilina y además resultó portadora del gen *fimH*, el cual codifica para la fimbria tipo 1, que es un factor de virulencia esencial para la invasión del epitelio urinario en el ser humano.

Debido a que las enterobacterias son destruidas por el calor durante la cocción, un tratamiento térmico controlado es un método efectivo de eliminación (31). La presencia de estos microorganismos en las muestras de leche pasteurizada analizadas en la presente investigación, se considera causa suficiente para rechazar el producto. Es necesario que las autoridades de salud venezolanas incrementen las medidas de control sanitario en las industrias lácteas para evitar la presencia de bacterias potencialmente patógenas.

CONCLUSIONES

La leche pasteurizada entera y le leche UHT saborizada comercializada en supermercados de Mérida, Venezuela, se



consideran aptas para consumo debido a que su calidad microbiológica está conforme a las normativas técnicas. Por el contrario, los recuentos de microorganismos encontrados en leche pasteurizada desnatada estuvieron por encima de las especificaciones, evidenciando la presencia de coliformes fecales, identificados por pruebas bioquímicas como *Enterobacter* spp. y *E. coli*. Los resultados de este estudio coinciden con los encontrados por otros investigadores en leche y derivados lácteos venezolanos.

RECOMENDACIONES

En general, se recomienda a las autoridades competentes en materia de higiene de los alimentos fortalecer las medidas de control sanitario desde las fincas de ordeño hasta las industrias lácteas del país, para evitar la venta y consumo de leche pasteurizada cuya calidad sanitaria puede comprometer la salud de la población debido a la presencia de microorganismos potencialmente patógenos.

AGRADECIMIENTO

Al Consejo de Desarrollo Científico Humanístico y Tecnológico (CDCHT-ULA) y al Programa de Intercambio Científico de la Universidad de Los Andes por la ayuda otorgada.

BIBLIOGRAFÍA

1. Fusco, V., Chieffi, D., Fanelli, F., Logrieco, A., Cho, G., Kabisch, J., Böhnlein, C., Franz, C. Microbial quality and safety of milk and milk products in the 21st century. *Comprehensive Review in Food Science and Food Safety*. 2015; 19(4): 2013-2049. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12568>
2. Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAO. 2020. Portal Lácteo. Disponible en <http://www.fao.org/dairy-production-products/processing/es/>
3. Anderson, M., Hinds, P., Hurditt, S., Miller, P., McGrowder, D., Alexander-Lindo, R. The microbial content of unexpired pasteurized milk from selected supermarkets in a developing



- country. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 2011; 1(3): 205-211.
4. Dai, J., Wu, S., Huang, J., Wu, Q., Zhang, F., Zhang, J., Wang, J., Ding, Y., Zhang, S., Yang, X., Lei, T., Xue, L., Wu, H. Prevalence and characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from pasteurized milk in China. Frontiers in Microbiology. 2019; 10(641): 1-10.
 5. Chatterjee, S.N., Battacharjee, I., Chatterjee, S.K., Chandra, K. Microbiological examination of milk in Tarakeswar, India with special reference to coliforms. African Journal of Biotechnology. 2006; 5(15): 1383-1385.
 6. Román, S., Guerrero, L., Pacheco, L. Evaluación de la calidad fisicoquímica, higiénica y sanitaria de la leche cruda almacenada en frío. Revista Científica FCV-LUZ. 2003; XII(2): 146-152.
 7. Díaz, C. 2009. Microbiología de la leche y productos lácteos. Mérida, Venezuela: Editorial Venezolana.
 8. Comisión Venezolana de Normas Industriales. COVENIN. 1994. Norma venezolana COVENIN 798:94 Leche pasteurizada (2da. Revisión). Caracas: Fondonorma.
 9. Cava, R. Efecto antimicrobiano de vainilla y de aceites esenciales de canela y clavo en leche de vaca pasteurizada. Murcia; Universidad de Murcia; 2013 (Tesis de Doctorado).
 10. Valbuena, E., Castro, G., Lima, K., Acosta, W., Bríñez, W., Tovar, A. Calidad microbiológica de las principales marcas de leche pasteurizada distribuidas en la ciudad de Maracaibo, Venezuela. Revista Científica FCV-LUZ. 2004; XIV(1): 59-67.
 11. Karmaker, A., Das, P.C., Iqbal, A. Quality assessment of different commercial and local milk available in the local markets of selected area of Bangladesh. Journal of Advanced Veterinary and Animal Research. 2020; 7(1): 26-33.
 12. Luigi, T., Rojas, L., Valbuena, O. Evaluación de la calidad higiénico-sanitaria de leche cruda y pasteurizada expendida en el estado Carabobo, Venezuela. Salus. 2013; 17(1): 25-33.



13. Rheinheimer, J., Suarez, V., Haye, M. Microbial and chemical changes in refrigerated pasteurized milk processed in the Santa Fe area (Argentina). *Australian Journal of Dairy Technology*. 1993; 48(1): 5-9.
14. Vásquez-Ojeda, E., Pérez-Morales, E., Hurtado-Ayala, L., Alcántara-Jurado, L. Evaluación de la calidad microbiológica de la leche. *Revista Iberoamericana de Ciencias*. 2014; 1(3): 91-99.
15. Vahedi, M., Nasrolahei, M., Sharif, M., Mirabi, M. Bacteriological study of raw and unexpired pasteurized cow's milk collected at the dairy farms and supermarkets in Sari city in 2011. *Journal of Preventive Medicine and Hygiene*. 2011; 54: 120-123.
16. Comisión Venezolana de Normas Industriales. COVENIN. 2001. Norma venezolana COVENIN 1205:2001 Leche esterilizada (3era. Revisión). Caracas: Fondonorma.
17. American Public Health Association. APHA. 1998. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*, 3th edition. Washington, USA.
18. Comisión Venezolana de Normas Industriales. COVENIN. 2004. Norma venezolana COVENIN 1292: Aislamiento e identificación de *Staphylococcus aureus* en alimentos. Caracas: Fondonorma.
19. MacFaddin, J. 2003. *Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica*. 3ª edición. Buenos Aires: Médica-Panamericana.
20. Apiweb. 2010. *API System* [CD-ROOM]. Marcy l'Etoile, Francia: BioMerièux.
21. Burdová, O., Baranová, M., Lauková, A., Rózánka, H., Rola, J. Hygiene of pasteurized milk depending on psychrotrophic microorganism. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*. 2002; 46: 325-329.
22. Celis, M., Juárez, D. 2009. *Microbiología de la leche*. En: R. Rodríguez, M. Echevarría, (Eds.), *Seminario de procesos fundamentales físico-químicos y microbiológicos* (pp.1-26). Buenos Aires: Editorial Tecnológica Nacional.



23. Cepero, O., Castillo, J., Salado, J., Herrada, N., Aguiar, J., González, R. Valoración de diferentes factores que intervienen en la calidad higiénico-sanitaria de la leche. *Revista Electrónica de Veterinaria*. 2005; VI(3): 1-12.
24. Mora, M., Loria, E. Evaluación bacteriológica de tres marcas de leche pasteurizada distribuida en la ciudad de Guadalajara. Jalisco; Universidad de Guadalajara; 1996 (Tesina de licenciatura).
25. Barrera, S., Velásquez, F. Evaluación de la calidad microbiológica de leches saborizadas comercializadas en los principales supermercados del distrito dos de la zona metropolitana de San Salvador. San Salvador; Universidad de El Salvador; 2011 (Tesina de licenciatura).
26. Barboza, Y. Estimación de la vida útil de una bebida achocolatada mediante pruebas aceleradas por temperatura. Mérida, Venezuela; Universidad de Los Andes; 2016 (Tesina de licenciatura).
27. Durán, L., Sánchez, C., Palmero, J., Chaparro, L., García, T., Sánchez, E. Caracterización fisicoquímica y microbiológica de quesos de cabra en Carora, estado Lara, Venezuela. *Zootecnia Tropical*. 2010; 28(4): 467-475.
28. Leyva, V., Ruíz, H., Machín, M., Tejedor, R., Martino, T., Ferrer, Y. Primer estudio de *Enterobacter sakazakii* en alimentos en Cuba. *Revista Cubana de Salud Pública*. 2008; 34(4): 1-8.
29. Organización Mundial de la Salud. OMS: Inocuidad de los alimentos. Recuperado 13 de julio de 2020. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>
30. Millán, Y., Méndez, A., Burguera, M., Pimentel, P., Araque, M., Ramírez, A. Determinación de enterobacterias y detección de genes de virulencia en *Escherichia coli* aislada en leche cruda. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*. 2018; 38(2): 58-63.
31. Food and Agriculture Organization. FAO: Prevención de la *E. coli* en alimentos. Recuperado 27 de julio de 2020. Disponible en:



ACTA BIOCLINICA

Original

Gutiérrez, M y col.

Volumen 11, N° 22, Julio/diciembre 2021

Depósito Legal: PPI201102ME3815

ISSN: 2244-8136

DOI: <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.14200553>

http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/agns/pdf/Preventing_Ecolies.pdf



**EFFECTOS DE LA MELATONINA SOBRE LOS NIVELES CREVICULARES DE
ÓXIDO NÍTRICO EN PACIENTES CON PERIODONTITIS**

**Yokasta Ramos¹, Ana Campos¹, Lisbeth Sosa², Karla Padrón³ Nuvia Sánchez², Anajulia
González⁴, Elix Izarra²**

1. Universidad de Los Andes. Facultad de Odontología.

2. Cátedra de Periodoncia. Facultad de Odontología de Universidad de Los Andes.

3. Grupo de Investigaciones Biopatológicas de la Universidad de Los Andes

**4. Centro de Investigaciones Odontológicas. Facultad de Odontología. Universidad de
Los Andes.**

CORRESPONDENCIA: Facultad de Odontología, Calle 23 entre avenidas 2 y 3, edificio El Rectorado, Departamento de Medicina Oral. Cátedra de Periodoncia. Universidad de Los Andes (ULA), Mérida-Venezuela. Teléfonos: +58274-2402378; +58424-2594154

Email: lissosa25@gmail.com.

RESUMEN

La enfermedad periodontal se produce luego de la acumulación de la biopelícula dental, que genera una respuesta inmunoinflamatoria produciendo estrés oxidativo y daños en el periodonto, con



sobreproducción de radicales libres y especies reactivas como el óxido nítrico (ON). En este sentido, la melatonina, una indolamina antioxidante, puede ser una alternativa para contrarrestar estos daños y favorecer la cicatrización periodontal. Por ello el objetivo, de este estudio fue evaluar la efectividad de la melatonina subgingival como coadyuvante en el tratamiento de la periodontitis. Se seleccionaron 6 pacientes con periodontitis crónica; la muestra se dividió en lado control donde se realizó raspado y alisado radicular (RAR) y lado experimental (RAR + plasma gel con melatonina). Se tomaron muestras de fluido crevicular gingival (FCG) y mediciones de profundidad de sondaje. Se hicieron evaluaciones posteriores a los 15 y 45 días. Se realizó un análisis descriptivo y se utilizó la prueba *t student*. Encontrándose que los niveles de ON disminuyeron en el grupo experimental de $7,02 \pm 3,29 \mu\text{M}$ a $2,51 \pm 0,84 \mu\text{M}$, con respecto al grupo control $2,28 \pm 0,72 \mu\text{M}$ a $3,05 \pm 1,02 \mu\text{M}$ a los 15 y 45 días respectivamente; la profundidad de sondaje promedio para el grupo experimental fue de 6,13mm a 3,80 mm y para el grupo control de 6,10 mm a 4,50 mm al inicio y final del tratamiento. La melatonina local produce cambios clínicos en los tejidos periodontales con disminución de los niveles de nitritos en el grupo experimental, potenciando así los efectos de la terapia mecánica.

PALABRAS CLAVE: periodontitis, melatonina, antioxidante, óxido nítrico.

EFFECTS OF MELATONIN ON CREVICULAR NITRIC OXIDE LEVELS IN PATIENTS WITH PERIODONTITIS



ABSTRACT

Periodontal disease occurs after the accumulation of dental biofilm, which generates an immunoinflammatory response producing oxidative stress and damage to the periodontium, with overproduction of free radicals and reactive species such as nitric oxide (NO). In this sense, melatonin, an antioxidant indolamine, can be an alternative to counteract these damages and promote periodontal healing. Therefore, the objective of this study was to evaluate the effectiveness of subgingival melatonin as an adjunct in the treatment of periodontitis. 6 patients with chronic periodontitis were selected; The sample was divided into the control side where scaling and root planing (RAR) were performed and the experimental side (RAR + plasma gel with melatonin). Gingival crevicular fluid (FCG) samples and probing depth measurements were taken. Post evaluations were made at 15 and 45 days. A descriptive analysis was carried out and the student's T test was used. Finding that NO levels decreased in the experimental group from $7.02 \pm 3.29 \mu\text{M}$ to $2.51 \pm 0.84 \mu\text{M}$, with respect to the control group $2.28 \pm 0.72 \mu\text{M}$ to $3.05 \pm 1,02 \mu\text{M}$ at 15 and 45 days respectively; the mean probing depth for the experimental group was 6.13mm to 3.80mm and for the control group 6.10mm to 4.50mm at the beginning and end of treatment. Local melatonin produces clinical changes in periodontal tissues with decreased nitrite levels in the experimental group, thus enhancing the effects of mechanical therapy.

KEY WORDS: periodontitis, melatonin, antioxidant, nitric oxide



INTRODUCCIÓN

La enfermedad periodontal comprende un conjunto de procesos patológicos, que afectan a los tejidos de soporte de los dientes de manera agresiva o crónica y si no se trata a tiempo puede conllevar a la pérdida de las piezas dentarias (1,2). Incluye 4 categorías generales: la gingivitis, la periodontitis, trastornos del desarrollo y adquiridos y

manifestaciones periodontales de enfermedades sistémicas y patologías y condiciones periimplantarias. Las lesiones asociadas con periodontitis incluyen pérdida ósea, pérdida de inserción, formación de sacos periodontales, movilidad dental y son irreversibles (3). La etiología de la enfermedad periodontal se ha asociado significativamente con el desbalance de los sistemas oxidantes/antioxidantes por la

sobreproducción de radicales libres (4). Es decir, un aumento en los niveles de radicales libres genera la oxidación y el daño de los tejidos (5). Un radical libre es un átomo o molécula que posee un electrón sin pareja en su orbital de balance, esto lo hace altamente reactivo y con una capacidad de agresión indiscriminada sobre células y tejidos vivientes (6).

El metabolismo del ser humano genera distintos tipos de radicales, uno de ellos es el óxido nítrico (ON), presente en bajas concentraciones en los tejidos periodontales, la saliva y en fluido crevicular gingival (FCG). Estudios han relacionado un aumento del óxido nítrico en fluido crevicular gingival y saliva con la presencia de periodontitis crónica (7,8). Otros han encontrado que existe una relación directamente proporcional entre las concentraciones de ON en saliva y la profundidad de las bolsas periodontales en pacientes con periodontitis



crónica moderada y avanzada; también se determinó que la presencia del óxido nítrico puede actuar como un potencial marcador biológico para la detección o monitoreo de la periodontitis crónica generalizada (9,10).

La melatonina es una indolamina producida principalmente por la glándula pineal (11). Presenta acciones inmunomoduladoras, antiinflamatorias, anticancerígenas, entre otras (12,13,14). Además, se ha planteado que juega un importante rol como protector celular gracias a su función antioxidante, ya que, es el recolector de radicales libres por excelencia (13,14). Debido a que, la patogénesis de la enfermedad periodontal se relaciona íntimamente con un incremento de especies reactivas de oxígeno (ERO) y especies reactivas de nitrógeno (ERN), la acción recolectora de radicales libres de la melatonina, podría reducir el daño de los tejidos involucrados (4). Investigaciones previas sugieren que puede jugar un rol

significativo durante la enfermedad periodontal (15,16,17) ya que, se ha observado que los pacientes que presentan niveles de melatonina salival más bajos de lo normal, pueden tener una mayor probabilidad de desarrollar la patología (14). En este sentido, se ha evidenciado que los niveles de melatonina en el líquido crevicular gingival y la saliva, disminuyen en los tejidos periodontales enfermos, especialmente en la periodontitis (18,19,20).

Por otro lado, la melatonina estimula la síntesis de colágeno tipo I, promueve la diferenciación de osteoblastos y formación de hueso, regula la actividad osteoclástica y actúa como inhibidor natural de enzimas proinflamatorias (15,21). Por ello, el empleo de melatonina puede considerarse como tratamiento coadyuvante para la periodontitis crónica, sin embargo, su acción terapéutica en cavidad bucal se encuentra en estudio, por



lo cual, esta investigación busca relacionar los niveles de óxido nítrico en el fluido crevicular gingival antes y después del tratamiento periodontal con melatonina, con las características clínicas periodontales observadas.

METODOLOGÍA

Participantes

Se seleccionaron 6 pacientes que acudieron a la clínica de Periodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad de Los Andes Mérida-Venezuela, con edades comprendidas entre 22 y 47 años, sistémicamente sanos, con diagnóstico de periodontitis crónica de moderada a severa (tomando en consideración para el momento de la realización de este estudio la clasificación de las enfermedades periodontales publicada por la Academia Americana de Periodoncia en el Workshop de 1999), con presencia de sacos

periodontales con profundidad ≥ 5 mm en dientes posteriores en cada hemiarcada. Cada paciente fue informado de la investigación, según las normas bioéticas derivadas de la declaración de Helsinki, para la investigación médica en seres humanos (22), leyó y firmó de manera voluntaria el consentimiento informado como requisito para participar. Se excluyeron de esta investigación aquellos pacientes con algún tipo de inmunosupresión, compromiso o enfermedad sistémica, fumadores o consumidores de chimó, que hubiesen recibido tratamiento farmacológico o antibiótico en los últimos 3 meses, que hubiesen recibido tratamiento periodontal mecánico en un periodo inferior a 6 meses, pacientes consumidores de sustancias alucinógenas y pacientes gestantes o en periodo de lactancia. En la primera cita se realizó el examen clínico y llenado del instrumento de recolección de datos, dentro



del cual se midió la profundidad del sondaje periodontal y el índice hemorrágico con una sonda periodontal de Williams calibrada marca HuFriede®. Se seleccionaron como dientes indicadores premolares y/o molares, mínimo 1 diente por cuadrante que presentaran sacos periodontales ≥ 5 mm. Los cuadrantes 1 y 4 conformaron el grupo experimental (13 cuadrantes) y los cuadrantes 2 y 3 el grupo control (8 cuadrantes). Luego se procedió a realizar el debridamiento supragingival manual y ultrasónico para reducir la cantidad de irritantes locales presentes.

Toma de muestra de fluido gingivo crevicular (FGC)

La recolección de la muestra de FCG se realizó en la segunda cita (Figura 1), antes de agregar el tratamiento con melatonina, a los 15 días de aplicar el tratamiento y a los 45 días posteriores a la aplicación del gel con

melatonina, en los dientes que fueron seleccionados como indicadores. Habiéndole indicado previamente a los pacientes suspender el consumo de vegetales verdes, frutas, nueces o suplementos vitamínicos y que evitaran realizar ejercicios físicos de intensidad media o alta, 24 horas antes a la toma de muestra.

Para la toma de la muestra se tomó como referencia el protocolo realizado por Sánchez y cols en 2015 (7). Primero se aisló la zona con rollos de algodón con el fin de evitar que se humedeciera el cono de papel con la saliva. Posteriormente se introdujo 1 cono por saco periodontal a 1mm de profundidad del surco, durante 30 segundos, en un solo punto del diente (el que presente mayor profundidad de sondaje) (Figura 1). Luego, las muestras fueron colocadas en tubos Eppendorf de 1,5ml a los que se le agregó 60µl de agua destilada y se almacenaron a -20°C en bolsas

selladas y debidamente etiquetadas para su posterior análisis.

Aplicación del tratamiento

Se tomó una muestra sanguínea del paciente y se realizó un gel a base de plasma pobre en plaquetas (23) donde se diluyeron 50µg de melatonina previamente pulverizada, luego esta preparación se cargó en una jeringa de insulina para proceder con su gelificación a través de cambios de temperatura. Luego se realizó el RAR correspondiente bajo anestesia local (lidocaína 2%). Se aplicó el

gel con melatonina (50µg/1ml gel) en los sacos periodontales del grupo experimental con una aguja corta de extremo plano, calibrada con la sonda periodontal, lo más apical posible, depositando el medicamento lentamente hasta llenar la totalidad del saco. Posteriormente, con una gasa se aplicó una presión suave por fuera a nivel de la encía marginal, para distribuir mejor el medicamento (Figura 1).



Figura 1. Fotografías del procedimiento de toma de muestra, tratamiento y determinación de ON.

Determinación de óxido nítrico

En esta etapa del procedimiento, los niveles de ON se midieron utilizando la reacción de Griess, acoplada a espectrofotometría; para determinar las concentraciones de nitrito en el fluido gingivo crevicular. Primero se realizó el cálculo de las concentraciones de los reactivos: NED 0.1037g/100ml, dapsone 0.345g/100ml, buffer (KCl 0.2N/25ml y HCl

0.2M/20.7ml) y NaNO_3 0.0072g/10ml. Seguidamente se realizó una curva de calibración partiendo de una concentración de nitrito de 10mM con sucesivas diluciones hasta llegar a $0.06\mu\text{M}$, midiendo los correspondientes valores de absorbancia que arrojaron una línea de tendencia con un valor de $R=1$ (Figura 2).



Figura 2. Curva de calibración

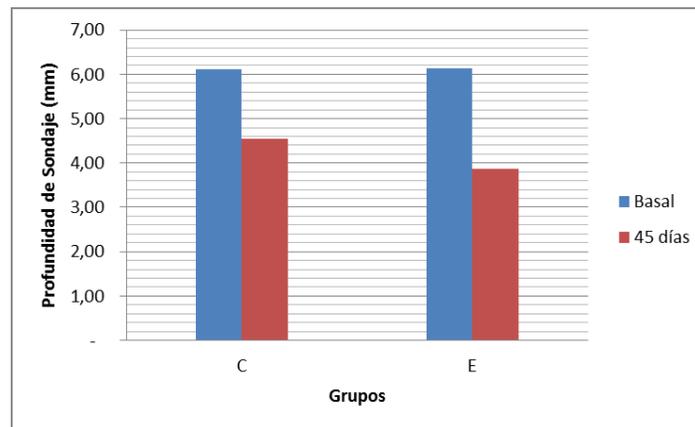


Figura 3. Sondaje por grupos control (C), experimental (E)

Luego se descongelaron las muestras de -20°C a 5°C y se centrifugaron a 4000rpm durante 40 minutos, modificando la técnica de referencia de Sánchez y cols en 2015 (7), en la cual centrifugaban la muestra a 800 rpm por 40 minutos. Para separar el FCG del cono de papel obteniendo un volumen aproximado de $50\mu\text{l}$. Se determinó el volumen de FCG pesando los conos de papel en una balanza analítica antes y después de la toma de la

muestra; la diferencia de los valores en gramos. Una vez que se extrajo el fluido de cada cono de papel, se retiraron los conos de los tubos Eppendorf, y en otro tubo se agregaron $100\mu\text{l}$ de dapsona aminophenylsulfone [97% FW-248,3 (Aldrich®, Milwaukee, USA) 14nM en 2NHCl], $100\mu\text{l}$ de NED [N-(1Naphthyl) ethylendiminedihydrochloride, FW 259,2 (Sigma®, Milwaukee, USA) 4nm en H_2O],



50µl de la muestra de FCG y 750µl de buffer (KCl-HCl) pH (1,5). Se realizó la agitación por 5 segundos e incubación por 10 min a 37°C. A continuación, se extrajeron 500µL del contenido de cada tubo (muestra + reactivos) en una cubeta de cuarzo para ser analizado en el espectrofotómetro previamente calibrado y con una longitud de onda de 540nm. Finalmente, se registraron las absorbancias obtenidas para calcular posteriormente los valores de ON empleando la fórmula de la ecuación de la recta.

RESULTADOS

Los valores obtenidos de los niveles de los niveles de óxido nítrico (ON) en los pacientes

del grupo control y experimental, se pueden observar en la tabla 1. Para el análisis estadístico de los datos obtenidos se realizó estadística descriptiva y la prueba de *t Student* para muestras independientes. Dando como resultado que, al momento basal, a pesar de que existen en el lado control una variación grande, debido a los datos dispersos; los promedios obtenidos entre los grupos son similares y por ello comparables entre sí. Para este momento el grupo control presenta unos niveles de óxido nítrico ligeramente mayores ($3,61 \pm 2,25$) que el grupo experimental ($0,58 \pm 0,25$).

Tabla 1. Nivel Promedio de Óxido Nítrico en el Grupo Experimental y Grupo Control

Número de Registro	Niveles ON grupo control, µM (media ± DS)	Niveles ON grupo experimental, µM (media ± DS)	p valor
---------------------------	--	---	----------------



Basal	3,61 ± 2,25	0,58 ± 0,25	0,217
15 días	2,28 ± 0,72	7,02 ± 3,29	0,173
45 días	3,05 ± 1,02	2,51 ± 0,84	0,686

A los 15 días se observan cambios en las concentraciones de ON siendo mayores en el grupo experimental (7,02 ± 3,29) con respecto al grupo control (2,28 ± 0,72). En el registro a los 45 días los niveles de óxido nítrico de grupo experimental, disminuyeron con respecto a los 15 días (2,51 ± 0,84) y fueron menores que en el grupo control (3,05 ± 1,02) los cu

ales aumentaron con respecto al registro anterior. Con respecto al sondaje periodontal, como se puede observar la figura 3, luego del tratamiento la profundidad de los sacos periodontales disminuyó en promedio en ambos grupos, sin embargo, su

disminución fue mayor en el grupo experimental (de 6,13mm a 3,80mm) con respecto al gr

upo control (de 6,10 mm a 4,50mm). En la figura 4 se puede observar la correlación entre la profundidad del sondaje presentado por los pacientes y los niveles de óxido nítrico. En el registro basal, se aprecia que las condiciones de sondaje y ON en ambos grupos son similares. Sin embargo, se observan algunos valores dispersos en ambos grupos siendo el menor para el grupo experimental de 5,16 uM y el mayor para el grupo control de 19,05 uM, con sondaje de 5mm y 7mm respectivamente

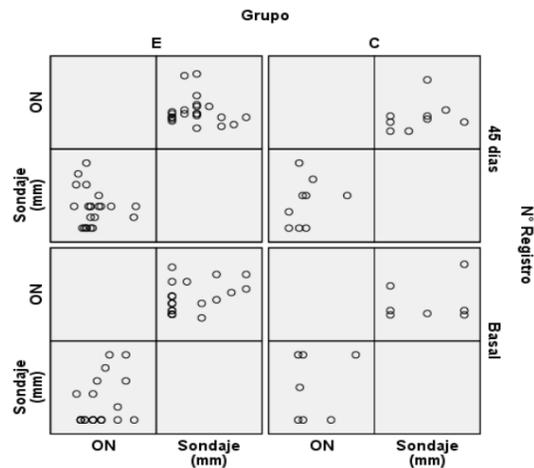


Figura 4. Correlación entre sondaje y niveles de ON

En el registro de los 45 días, luego de haber realizado el tratamiento. Se puede observar que la mayoría de los valores de ON se ubican en los niveles más bajos del eje del mismo, lo que indica que se agrupan en la zona que indica menor concentración. De igual forma, hay una disminución en las profundidades del sondaje periodontal también agrupándose la mayoría de los datos en la zona que se refiere a un mejor sondaje.

En el grupo control se observó que a los 45 días los niveles del óxido nítrico aumentaron y disminuyó la profundidad del sondaje con respecto al grupo experimental.

DISCUSION

Diversos estudios señalan que en la periodontitis crónica ocurre una sobreproducción de radicales libres y especies reactivas, que favorece el proceso de destrucción de los tejidos periodontales,



planteando una relación directamente proporcional entre las concentraciones de ON en FCG y la profundidad de las bolsas periodontales, probablemente por un desbalance entre el sistema antioxidante y oxidante (6, 8, 9).

La melatonina podría intervenir disminuyendo el ataque oxidativo de los tejidos periodontales, reduciendo los niveles de peroxidación lipídica y otros marcadores oxidativos a nivel de la cavidad bucal (21,24). Su acción antioxidante y barredora de radicales libres puede reducir el daño tisular, atrapando ERO y sus metabolitos en el área inflamada (13,19). Sin embargo, es importante considerar que no se hallaron trabajos sobre la valoración de la actividad de la melatonina frente al ON en periodontitis crónica. En tal sentido, los resultados de esta investigación se cotejarán con los resultados de investigaciones sobre ON medido en la periodontitis crónica, así como los efectos de

la melatonina, como tratamiento coadyuvante en la periodontitis crónica.

En cuanto a los resultados obtenidos en este estudio se evidencia que al momento basal los niveles de óxido nítrico (ON) en el grupo control son ligeramente mayores ($3,61 \pm 2,25 \mu\text{M}$) que el grupo experimental ($0,58 \pm 0,25 \mu\text{M}$). Se infiere que esto pudo ocurrir por la presencia de datos dispersos de mayor magnitud en el lado control. Sin embargo, los grupos se encuentran en condiciones similares y son comparables entre sí, al momento inicial del experimento. No obstante, el promedio en ambos grupos es de $2,095 \mu\text{M}$ similar a los resultados basales $2,530 \pm 0,265 \mu\text{M}$ obtenidos en otro estudio (7).

De igual forma los valores de óxido nítrico mostraron un aumento a los 15 días de observación para el grupo experimental de $0,58 \pm 0,25$ a $7,02 \pm 3,29 \mu\text{M}$ y



posteriormente un descenso de $2,51 \pm 0,84$ μM a los 45 días. Por lo que se podría inferir que la melatonina tuvo un efecto tardío y a largo plazo, debido a la fijación del medicamento dentro del saco periodontal (14,19, 25). Para el grupo control, ocurrió lo opuesto, es decir, se observó que los valores de óxido nítrico aumentaron en el tiempo de $2,28 \pm 0,72$ a $3,05 \pm 1,02$ μM , a los 15 y 45 días respectivamente, aún con la realización de RAR y control de higiene bucal. Sin embargo, los cambios registrados en ambos grupos, no resultaron estadísticamente significativos ($p= 0,173$) a los 15 días y ($p=0,686$) a los 45 días, esto pudo deberse a la baja cantidad de la muestra.

En cuanto a la profundidad de los sacos periodontales disminuyó en promedio en ambos grupos luego del tratamiento, sin embargo, su disminución fue mayor en el grupo experimental con respecto al grupo

control. En nuestro estudio se logró observar a los 45 días, que aunque en ambos grupos hubo una disminución del sondaje, fue mayor en el grupo experimental (de 6,13 mm a 3,80 mm) con respecto al grupo control (de 6,10 mm a 4,50 mm), esto puede asociarse al efecto coadyuvante de la melatonina en la periodontitis crónica. Estos resultados concuerdan, con otro estudio realizado en 50 pacientes con diabetes y periodontitis, en el cual aplicaron melatonina por vía oral, los resultados plantean disminución en la profundidad de sondaje de 4.45 ± 0.96 mm a 2.59 ± 1.04 mm ($P<0.001$) en el grupo experimental después de 8 semanas de tratamiento, con respecto al grupo control cuyos valores fueron de 4.54 ± 1.01 mm a 4.36 ± 1.04 mm (26). Así mismo, Cutando y col., (27) aplicaron melatonina tópica al 1% en 30 pacientes con enfermedad periodontal, reportando cambios en la profundidad del sondaje, mediante mediciones



computarizadas de 28.3 ± 19.48 vs 11.9 ± 9.01 ($P < 0.001$) luego de 20 días de tratamiento.

Otra investigación realizada en 38 pacientes con periodontitis y tratados con melatonina por vía oral, arrojó en el grupo experimental, disminución en la profundidad de sondaje de 4.3 ± 0.8 mm a 2.4 ± 1.0 mm a los 3 meses y 2.3 ± 0.9 mm a los 6 meses ($P < 0.001$), con respecto al grupo control cuyos resultados fueron de 4.4 ± 0.7 mm, 3.1 ± 0.9 mm a los 3 meses y 3.0 ± 0.8 mm a los 6 meses ($P < 0.001$) (24). Los estudios mencionados, coinciden con lo que se observó en el grupo experimental, que presentó mayor disminución en la profundidad de sondaje luego de la terapia periodontal convencional empleando como coadyuvante la melatonina. En cuanto a la correlación entre los niveles de óxido nítrico y profundidad de sondaje basales del grupo experimental y grupo control, ambos grupos estadísticamente

presentan condiciones de igualdad, aunque se observan algunos valores dispersos en las concentraciones de ON en el grupo experimental.

En lo que respecta a los niveles de ON en el grupo experimental a los 45 días, sus niveles disminuyeron con respecto al registro de los 15 días, junto con la profundidad del sondaje, lo cual coincide con un estudio realizado en animales de experimentación con periodontitis inducida, donde el grupo tratado con melatonina, presentó menor de daño de los tejidos periodontales, al igual que la concentración de marcadores oxidativos, entre ellos el óxido nítrico (25). En contraposición, en el grupo control se observó que los niveles del óxido nítrico aumentaron, con disminución en la profundidad del sondaje este último parámetro, similar que en el grupo experimental. No obstante, los resultados observados en el grupo control se contradicen



con lo encontrado en la literatura, donde al disminuir la profundidad de sondaje también disminuyen los niveles de ON (7, 8,28). Sin embargo, existe pocos hallazgos en los cuales los niveles de ON luego del tratamiento periodontal fueron menores, Ozer y col., (29) evaluaron los niveles de NO, arginasa y ornitina descarboxilasa en muestras de saliva de 9 pacientes con gingivitis, 15 con periodontitis crónica y 11 sujetos sanos, antes y después del tratamiento periodontal. Los valores de nitritos previos al tratamiento fueron de $94,2 \pm 10,1 \mu\text{mol /g}$ en individuos con gingivitis, en periodontitis $23,9 \pm 6,3 \mu\text{mol /g}$ y en sanos $58,5 \pm 13,1 \mu\text{mol /g}$; los autores hallaron luego de la cuarta semana de tratamiento periodontal convencional disminución en los niveles de nitrito en los casos de gingivitis y aumento en los casos de periodontitis. Así como Aurer y col., (30) también, encontraron concentraciones basales menores de NO, en saliva de

pacientes con periodontitis rápidamente progresiva y pacientes con periodontitis del adulto, en comparación con individuos sanos. En el presente estudio, al relacionar los cambios clínicos y nivel de óxido nítrico en los tejidos periodontales, antes y después del tratamiento convencional empleando como coadyuvante la melatonina subgingival, se encontró que existe una relación favorable entre la disminución de nitritos (ON) en el fluido crevicular gingival y disminución en la magnitud de los signos clínicos de enfermedad periodontal, lo cual se ve reflejado en una disminución de la profundidad del sondaje periodontal. Tal y como lo señalan algunos autores quienes demostraron que los niveles de melatonina en GCF, saliva y suero de pacientes que padecen periodontitis crónica se reducen, lo que sugiere que puede desempeñar un papel fundamental en la protección del tejido del daño causado por el estrés oxidativo (31).



Esto podría proporcionar un apoyo no farmacológico para mejorar la cicatrización periodontal de los sitios periodontales después de la terapia de raspado y alisado radicular (32).

De acuerdo a los resultados obtenidos siguiendo las condiciones de este estudio, es posible inferir que el gel de melatonina, aplicado de forma subgingival, como terapia coadyuvante al tratamiento convencional, ejerce un efecto favorable en la periodontitis crónica, por lo que se puede considerar como una alternativa que merece ser investigada de forma exhaustiva, y que puede ser utilizada a nivel terapéutico en la práctica odontológica.

Por lo mencionada anteriormente, se sugiere evaluar en futuras investigaciones el efecto antioxidante de la melatonina aplicada de forma subgingival, como coadyuvante al tratamiento convencional en la periodontitis crónica, tomando en cuenta: mayor número

de individuos, ajustar la dosis y tiempo de aplicación del tratamiento, toma de muestras basales, sin tratamiento convencional previo a los 6 meses; así como la evaluación de otros cambios clínicos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Centro de Investigaciones de la Facultad de Odontología, Laboratorio Integrado de Biología Celular y Molecular de la Universidad de Los Andes, y a la Cátedra de Periodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad de Los Andes por su participación en la realización de este trabajo.

REFERENCIAS

1. Genco RJ, Williams RC. Enfermedad Periodontal y Salud General: Una Guía para el Clínico. Siegel SM, Rizzo Mi, Siegel TS, Downs AE, Allegheny Writing & Publishing Services L, editores. Yardley, Pennsylvania,



USA: Professional Audience Communications Inc; 2011. 321 p.

2. AAP. Glossary of Periodontal Terms. 4th edición. Chicago; 2001. 56 p.

3. Herrera D, Figuero E, Shapira L, Jin L, Sanz M. La nueva clasificación de las enfermedades periodontales y periimplantarias. Revista científica de la Sociedad Española de Periodoncia. 2018; 11: 93-110.

4. Maldonado O, Jiménez E, Guapillo M, Ceballos G, Méndez E. Radicales libres y su papel en las enfermedades crónicas degenerativas. Rev Med UV. 2010;(272):8.

5. Avello, Marcia, & Suwalsky, Mario. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. Atenea (Concepción), (494), 161-172. Nuevo

6- Silva D, Rico J, Partata E, Rivas J, Corrêa B, Spolidorio L, et al. El papel del óxido nítrico en la modulación del proceso inflamatorio de la enfermedad periodontal. Acta Odontológica Venez. 2011;49 (4):1-9.

7.- Sánchez N, Ortiz R, González A, Quiñonez B, Solórzano E. Efecto del Propóleo sobre los niveles de óxido nítrico en la periodontitis crónica. Acta Bioclínica. 2015;2(10):22. 25.

8.- Reher VGS, Zenóbio EG, Costa FO, Reher P, Soares R V. Nitric oxide levels in saliva increase with severity of chronic periodontitis. J Oral Sci. 2007;49(4):271-6.

9 -Batista, A., Silva, T., Chun, J. and Lara, V. Nitric oxide synthesis and severity of human periodontal disease. Oral Diseases. 2002; 8: 254-260. 19

10.-Menaka K, Ramesh A, Thomas B, Kumari NS. Estimation of nitric oxide as an



inflammatory marker in periodontitis. J Indian Soc Periodontol. 2009;13: 75-78.

11.-Domínguez-Rodríguez A, Samimi-Fard S, Abreu-González P, Carlos Kaski J. Melatonina y aterosclerosis coronaria. Clin e Investig en Arterioscler. 2009;21(5):247-56

12. Chava VK, Sirisha K. Melatonin: A novel indolamine in oral health and disease. Int J Dent. 2012;2012: 9

13. Vielma JR, Bonilla E, Chacín-Bonilla L, Mora M, Medina-Leendertz S, Bravo Y. Effects of melatonin on oxidative stress, and resistance to bacterial, parasitic, and viral infections: A review. Acta Trop. Elsevier B.V.; 2014;137:31-8.

14.- Cutando A, Gómez-Moreno G, Arana C, Acuña-Castroviejo D, Reiter RJ. Melatonin: potential functions in the oral cavity. J Periodontol. 2007;78(6):1094-102.

15.-14. Reiter RJ, Rosales-Corral S a., Liu XY, Acuna-Castroviejo D, Escames G, Tan DX. Melatonin in the oral cavity: Physiological and pathological implications. J Periodontal Res. 2014; 50:9-17. 12

16. Cengiz Mİ, Cengiz S, Wang H-L. Melatonin and Oral Cavity. Int J Dent. 2012;2012:1-9.

17. Cutando A, Aneiros-Fernández J, López-Valverde A, Arias-Santiago S, Aneiros-Cachaza J, Reiter RJ. A new perspective in Oral health: Potential importance and actions of melatonin receptors MT1, MT2, MT3, and RZR/ROR in the oral cavity. Arch Oral Biol. 2011;56 (10):944-50. 14

18. Srinath R, Acharya AB, Thakur SL. Salivary and Gingival Crevicular Fluid Melatonin in Periodontal Health and Disease. J Periodontol. 2010;81(2):277-83



19 Siu AW, Maldonado M, Sanchez-Hidalgo M, Tan DX, Reiter RJ. Protective effects of melatonin in experimental free radical-related ocular diseases. *J Pineal Res.* 2006;40(2):101-9. 21.

20.- Almughrabi O, Marzouk K, Hasanato R, Shafik S (2013) Melatonin levels in periodontal health and disease. *J Periodontal Res* 48(3):315–321.

21.- Arana C. Melatonina, estrés oxidativo y osteointegración en la cavidad oral. Universidad de Granada. Facultad de odontología y medicina; 2006 22.

22.- Manzini J. Declaración de Helsinki: Principios éticos para la investigación médica sobre sujetos humanos. *Acta Bioethica* 2000; 6(2):321-334.

23.- Rodríguez J, Palomar M, García T. Plasma rico en plaquetas: fundamentos biológicos y aplicaciones en cirugía

maxilofacial y estética facial. *Rev Esp Cir OralMaxilofac*; 2012; 3 4(1); 8-17.

24.-El-Sharkawy H, Elmeadawy S, Elshinnawi U, Anees M. Is dietary melatonin supplementation a viable adjunctive therapy for chronic periodontitis? A randomized controlled clinical trial. *J Periodontal Res.* 2019; 54(2):190-197.

25.- Kara A, Akman S, Ozkanlar S, Tozoglu U, Kalkan Y, Canakci CF, et al. Immune modulatory and antioxidant effects of melatonin in experimental periodontitis in rats. *Free Radic Biol Med* [Internet]. Elsevier; 2013;55:21-6. (4)

26.- Bazyar H, Gholinezhad H, Moradi L, Salehi P, Abadi F, Ravanbakhsh M, Javid A. The effects of melatonin supplementation in adjunct with non-surgical periodontal therapy on periodontal status, serum melatonin and inflammatory markers in type



2 diabetes mellitus patients with chronic periodontitis: a double-blind, placebo-controlled trial. *Inflammopharmacology*. 2019; 27(1):67-76.

27.- Cutando A, Montero J, Gómez-de Diego R, Ferrera MJ, Lopez-Valverde A. Effect of topical application of melatonin on serum levels of C-reactive protein (CRP), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) in patients with type 1 or type 2 diabetes and periodontal disease. *J Clin Exp Dent*. 2015; 1;7(5):e628-633.

28.- Parwani S, Chitnis P, Parwani R. Salivary nitric oxide levels in inflammatory periodontal disease - A case-control and interventional study. *Int J Dent Hyg* 2012; 10: 67-73.

29.- Ozer L, Elgun S, Ozdemir B, Pervane B, Ozmeric N. Arginine-nitric oxide-polyamine

metabolism in periodontal disease. *J Periodontol* 2011; 82(2): 320-328.

30.- Aurer, A., Aleksić, J., Ivić-Kardum, M., Aurer, J. and Čulo, F. Nitric oxide synthesis is decreased in periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 2001; 28: 565-568.

31.- Meenakshi SS, Malaiappan S. Role of melatonin in periodontal disease - A systematic review. *Indian J Dent Res*. 2020;31(4):593-600

32.- Tinto M, Sartori M, Pizzi I, Verga A, Longoni S. Melatonin as host modulating agent supporting nonsurgical periodontal therapy in patients affected by untreated severe periodontitis: A preliminary randomized, triple-blind, placebo-controlled study. *J Periodontal Res*. 2020;55(1):61-67.



**CONCENTRACIONES INTRAERITROCITARIAS DE GLUTATIÓN
REDUCIDO Y OXIDADO EN UNA MUESTRA DE SUJETOS SANOS DE LA
HABANA.**

**Gretel Riverón Forment¹, Jiovana Contreras Roura², Jacqueline Pérez Rodríguez³,
Lilia C. Marín Padrón⁴, Alina Concepción Álvarez⁵, Yáima Zúñiga Rosales⁶.**

- 1. Laboratorio de Genética Bioquímica. Centro Nacional de Genética Médica. ICBP"Victoria de Girón. Correo electrónico: ID ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6332-7113>.**
- 2. Laboratorio de Control de Calidad Químico-Físico y Mecánica. Empresa Laboratorios Farmacéuticos AICA. ID ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5299-798X>.**
- 3. Laboratorio de Genética Bioquímica. Centro Nacional de Genética Médica. ID ORCID <https://orcid.org/0000-0001-8291-0822>.**
- 4. Laboratorio Clínico. Laboratorio de Genética Bioquímica. Centro Nacional de Genética Médica. ID ORCID <https://orcid.org/0000-0001-9819-4648>**
- 5. Laboratorio de Genética Bioquímica. Centro Nacional de Genética Médica. ICBP" Victoria de Girón". ID ORCID <https://orcid.org/0000-0001-6161-5998>**
- 6. Centro Nacional de Genética Médica. ICBP "Victoria de Girón". Correo ID ORCI: <https://orcid.org/0000-0001-9483-9971>**

CORRESPONDENCIA: Laboratorio de Genética Bioquímica. Centro Nacional de Genética Médica. ICBP Victoria de Girón. Universidad Médica de la Habana. Ave 31 No. 3102 esq. 146. Cubanacán, Playa. La Habana. Teléfono: 537-2089991.

Email: gretel.riveron@infomed.sld.cu



RESUMEN

El glutatión reducido (GSH) participa en aspectos esenciales de la homeostasis celular. Las concentraciones de GSH y su forma oxidada (GSSG) son indicadores de la funcionalidad celular. Son pocos los estudios que determinan los niveles de estos compuestos en sujetos sanos. Determinar los concentraciones eritrocitarias de GSH y GSSG en una muestra de sujetos sanos de La Habana. Materiales y Métodos: Las concentraciones de GSH y GSSG fueron determinadas en 71 muestras de sangre periférica procedentes de individuos aparentemente sanos de ambos géneros, en edades comprendidas entre 7 y 72 años. Se empleó un método de HPLC-UV para la cuantificación de estos compuestos. Las concentraciones obtenidas fueron de $1257,8 \pm 668 \mu\text{M}$ y $336 \pm 162,1 \mu\text{M}$ para el GSH y GSSG, respectivamente. La relación GSH/GSSG promedio fue de $5,4 \pm 4,9$. Los niveles de ambos compuestos no difieren entre los géneros. En el rango de edades estudiado no varían los niveles de GSH pero si se incrementan los de GSSG a medida que se incrementa la edad. Se determinaron las concentraciones intraeritrocitarias de GSH y GSSG así como el estado redox celular en sujetos sanos.

PALABRAS CLAVE: Glutatión, Glutatión oxidado, estado redox, individuos sanos, GSH/GSSG, HPLC.

INTRAERYTHROCYTE CONCENTRATIONS OF REDUCED AND OXIDIZED GLUTATHIONE IN A SAMPLE OF HEALTHY SUBJECTS FROM HAVANA.

ABSTRACT

Reduced glutathione (GSH) participates in essential aspects of cellular homeostasis. The concentrations of GSH and its oxidized form (GSSG) are indicators of cellular functionality. Few studies determine the concentrations of these compounds in healthy subjects. To determine the erythrocyte levels of GSH and GSSG in a sample of healthy



subjects from Havana. GSH and GSSG concentrations were determined in 71 peripheral blood samples from apparently healthy individuals of both sexes, aged between 7 and 72 years. A HPLC-UV method was used for the quantification of these compounds. Results: The concentrations obtained were $1257.8 \pm 668 \mu\text{M}$ and $336 \pm 162.1 \mu\text{M}$ for GSH and GSSG, respectively. The average GSH / GSSG ratio was 5.4 ± 4.9 . The levels of both compounds do not differ between the sexes. In the age range studied, GSH levels do not vary but GSSG levels do increase with age. Conclusions: The intraerythrocyte levels of GSH, GSSG and cellular redox status were determined in healthy subjects.

KEY WORDS: Glutathione, oxidized Glutathione, redox state, healthy individuals, GSH/GSSG, HPLC

INTRODUCCIÓN

El glutatión reducido (GSH) participa en aspectos esenciales de la homeostasis celular, teniendo un papel central en la defensa contra el daño oxidativo. Cuando se produce la oxidación se forma el glutatión oxidado (GSSG), el que está conformado por dos moléculas de GSH unidas por un puente disulfuro. El GSH está presente mayormente en su forma reducida, por lo que, un aumento de la forma oxidada en las células y tejidos puede ser un marcador de afectación del estado redox celular. (1) Además de sus acciones como antioxidante, el GSH, participa en la

destoxificación de xenobióticos y agentes carcinógenos. Este tripéptido funciona como fuente y transportador de las cisteínas. Además, de servir como almacenamiento de este aminoácido en el compartimiento extracelular. Por otra parte, participa en la regulación de eventos celulares, tales como, la expresión y la síntesis de ADN, la síntesis de proteínas, en la proliferación celular y la apoptosis, la producción de citoquinas y en la respuesta inmune (2).

Las concentraciones de GSH, GSSG y su relación molar son indicadores de la funcionalidad celular y su alteración



está relacionada con varios procesos patológicos en el humano. La deficiencia de glutatión contribuye al estrés oxidativo (EO) el cual se describe que contribuye en la patogénesis de múltiples enfermedades, tales como, las neurodegenerativas entre las que se incluyen el Alzheimer y el Parkinson, el cáncer, las enfermedades cardiovasculares, la diabetes mellitus, enfermedades del hígado, la fibrosis quística, la anemia falciforme y el VIH/SIDA. (3)

Son pocos los estudios acerca de los niveles de estos compuestos en sujetos sanos, de ahí que el objetivo de la presente investigación fue determinar las concentraciones intraeritrocitarias del GSH, el GSSG, su relación molar y el estado redox celular en una muestra de individuos aparentemente sanos de la provincia Habana. Este constituiría el primer reporte en el país sobre los niveles de estos compuestos en sujetos sanos.

METODOLOGÍA

Recibido: 10/06/2021

Aprobado: 30/06/2021

Selección de la muestra

La muestra en estudio fue seleccionada a partir de 107 participantes en un proyecto de investigación aprobado por el Comité de Ética del Centro Nacional de Genética Médica (CNGM), llevado a cabo por el Laboratorio de Genética Bioquímica en el período comprendido entre Febrero de 2017 a Octubre de 2018.

Una vez comprobado el estado de salud de todos los sujetos incluidos en la investigación, a través de la realización de estudios hematológicos (hemograma completo), de bioquímica sanguínea (pruebas de función hepática, glicemia y lipidograma) y marcadores de inflamación (proteína C reactiva y velocidad de eritrosedimentación). Teniendo en cuenta que estos parámetros fueran normales fueron seleccionados 71 sujetos. Este grupo de personas aparentemente sanas, estaba conformado por 44 féminas y 27 hombres, en edades comprendidas entre los 7 años y 72 años de edad.

Métodos



Para la realización del estudio se emplearon 2 ml de sangre periférica con EDTA como anticoagulante. A partir de la cual se obtuvo el lisado de eritrocitos el que se preparó de acuerdo a lo reportado por Vilar y cols (4). Posteriormente, se realizó el pre-tratamiento del lisado celular, el que consistió en la desproteización con ácido perclórico al 10% (5:1, v/v). Estos procedimientos se llevaron a cabo dentro de las dos horas posteriores a la extracción.

Condiciones cromatográficas

Las concentraciones intraeritrocitarias de GSH y GSSG fueron medidas simultáneamente empleando el método cromatográfico descrito por Lipsa y colaboradores en el 2015. (5) Al que se le introdujeron ligeras modificaciones para la determinación intraeritrocitaria de estos compuestos. La técnica consiste en un método isocrático de HPLC-UV en fase reversa con detección ultravioleta a 215 nm. El programa *LabSolution* (Shimadzu, Japón) fue utilizado para la adquisición

y procesamiento de los datos cromatográficos.

Para la separación cromatográfica de los compuestos se utilizó columna de fase reversa LiChrospher® RP-18 (5 µm, 125 x 4 mm) y una pre-columna 4x4 mm (LiChroCART®), se trabajó a un flujo de 1 mL/min y a 30 °C de temperatura. La fase móvil consistió en agua/acetonitrilo (96/4, v/v), ácido trifluoroacético (TFA) al 0,1% y 12 mg/ml de perclorato de sodio. El volumen de inyección fue de 20 µl de la muestra desproteizada. El tiempo de corrida fue de 5,5 minutos. Los tiempos de retención fueron de 2,2 min y de 3,4 min para el GSH y el GSSG, respectivamente.

Las concentraciones del GSH y el GSSG se estimaron mediante curvas de calibración en el rango de concentraciones de 62,5 a 1000 µM para el GSH y de 25 a 1000 µM para el GSSG. Posteriormente a partir de los niveles de estos compuestos se calculó la relación GSH/GSSG y se determinó el estado redox celular mediante la



ecuación de Nerst, modificada por Jones y col, 2002 (6):

$$E_{\text{GSH/GSSG}} = E_{\text{GSH/GSSG}}^0 + 0,013 \ln \frac{c(\text{GSSG})}{c^2(\text{GSH})}$$

, donde el $E_{\text{GSH/GSSG}}^0 = -264 \text{ mV}$

Análisis estadísticos

Para determinar la distribución de las variables se utilizó la prueba de normalidad Kolmogorov-Smirnov y para la homogeneidad de varianzas la prueba de Levene. Los resultados se expresaron como medias +/- desviación estándar y se calcularon los intervalos de confianza del 95% (IC 95%). Se utilizó la prueba paramétrica *t-student* para evaluar si el género influye en los resultados. Para la correlación se empleó la prueba de *Spearman*. La significancia estadística se estableció a

partir de $p < 0,05$. Todos los análisis se realizaron con el paquete estadístico STATISTICA versión 8.0 para Windows.

Aspectos éticos

En el desarrollo de la presente investigación se tuvieron en cuenta los criterios establecidos en la Declaración de Helsinki de 1975, modificada en el 2013.

RESULTADOS

En la muestra de sujetos sanos estudiada las variables, GSH y GSSG, mostraron una distribución normal, según aparece reflejado en la figura 1.

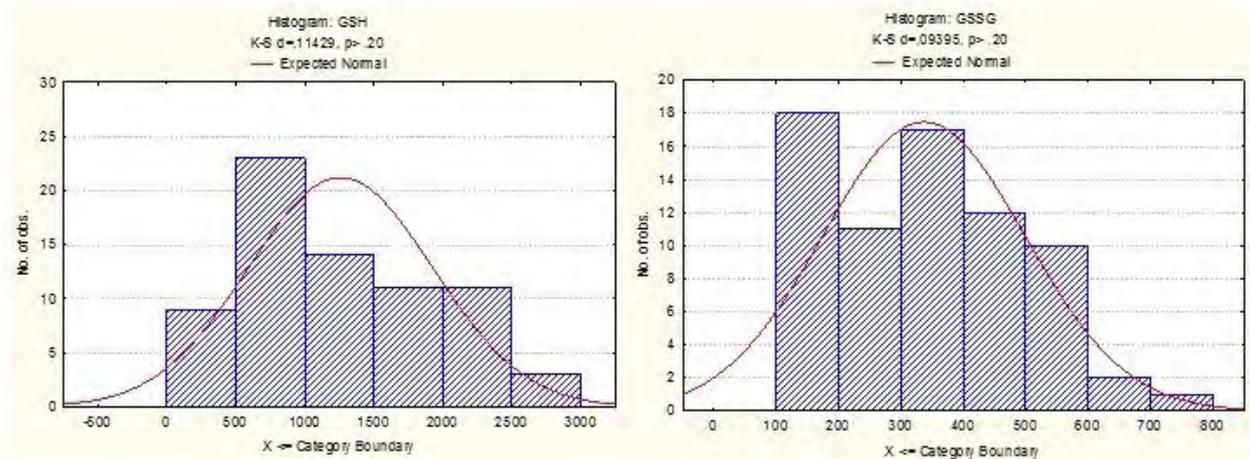


Figura 1. Distribución de las variables GSH y GSSG en la muestra en estudio. Prueba de Normalidad Kolmogorov-Smirnov ($p > 0,05$)

Las concentraciones intraeritrocitarias de GSH, de GSSG, la relación molar GSH/GSSG y el estado redox celular a

nivel del eritrocito se relacionan en la tabla 1.

Tabla 1. Concentraciones intraeritrocitarias de glutatión reducido y oxidado, su relación molar y estado redox celular en una muestra de sujetos sanos (n=71).

<i>Marcadores</i>	<i>Media</i>	<i>Desviación estándar (SD)</i>	<i>Intervalos de Confianza (IC 95%)</i>
GSH (μM)	1257,9	668	1099,7-1416,1
GSSG (μM)	336,7	162	298,3- 375,1
GSH/GSSG	5,4	4,9	4,2- 6,6
Estado redox (mV)	-346,21	-5,22	-350,5 a -341,9

Como se aprecia en la figura 2, los niveles de GSH y GSSG no difieren en

relación con el género ($p=0,410$ y $p=0,640$).

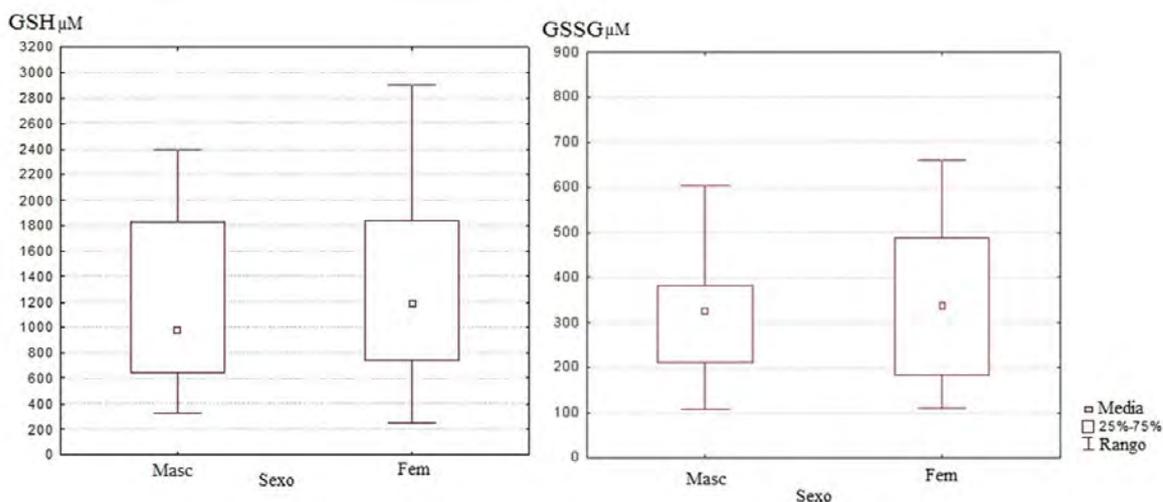


Figura 2. Concentraciones de GSH y GSSG en el grupo de sujetos sanos de acuerdo al género.

Mientras que, en el rango de edades analizado si se observó que los niveles del GSSG se incrementan a medida que avanza la edad ($R=0,24$; $p=0,036$), no

así para el GSH ($R= -0,06$; $p=0,5$) (ver figura 3).

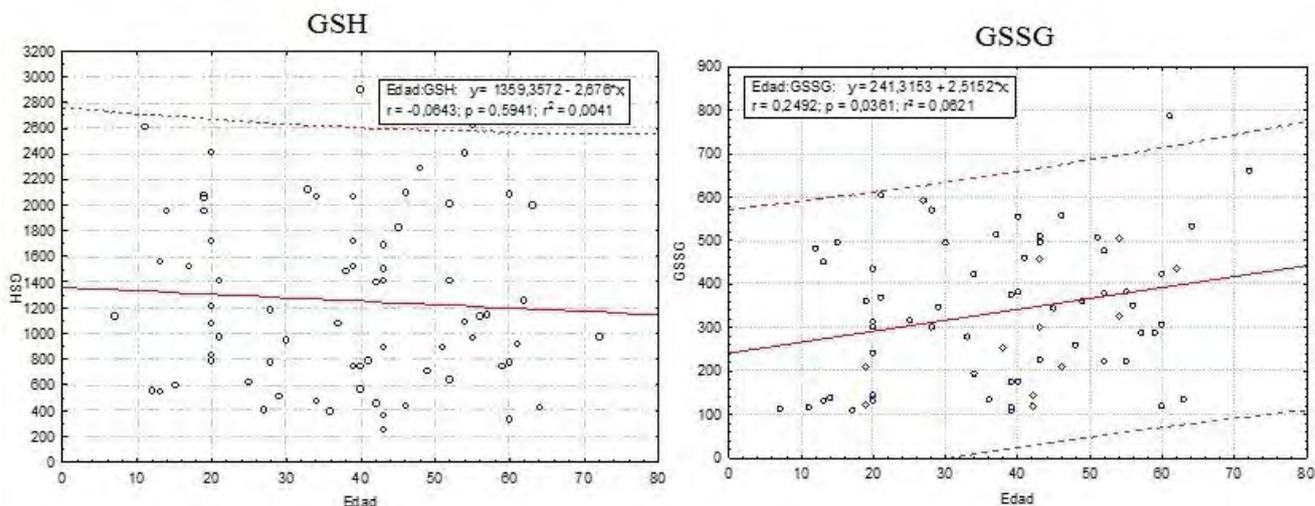


Figura 3. Niveles de GSH y GSSG en el grupo de sujetos sanos en relación con la edad.

DISCUSIÓN

El eritrocito es una célula altamente especializada y dada su función de transportar el oxígeno posee una potente protección antioxidante. (7) El GSH es el principal antioxidante no enzimático en estas células, siendo su principal función eliminar directamente especies reactivas derivadas del oxígeno. En este contexto, los niveles intracelulares de este tripéptido, van a depender de su síntesis, su transporte, su reciclaje y su utilización. (8, 9)

Teniendo en cuenta la importancia del GSH en el mantenimiento del estado redox celular, varios estudios se han enfocado en determinar los niveles de GSH y GSSG en sujetos sanos (8-12). Sin embargo, en relación con las concentraciones reportadas de estos compuestos, diversas son las metodologías empleadas para su medición, así como, las muestras biológicas utilizadas. Lo que unido a las diferentes formas de expresar la concentración y los factores de corrección empleados hace difícil la



comparación entre los diferentes reportes que aparecen en la literatura científica.

Basado en lo anterior, las concentraciones intraeritrocitarias del GSH reportadas en el presente estudio son comparables con las obtenidas por Erden-Inol y col en el 2002 (10) y por van't Erve y col en el 2013 (13). Este último grupo de investigación señala que de manera general los niveles intraeritrocitarios promedios de GSH son de 1,4 mmol/L, tanto en gemelos como en individuos no relacionados, aparentemente sanos. Estos autores plantean que las diferencias intra-individuales que reportan otras investigaciones podrían estar genéticamente determinadas. (13)

En el caso del GSSG, las concentraciones reportadas muestran un amplio rango de variación. (8-12) Los valores reportados en el presente estudio, son comparables con los obtenidos por van't Erve y col (13), estos autores explican el hecho de encontrar valores de concentración

superiores a los reportados en otros estudios a la utilización del ácido perclórico como agente desproteinizante, lo que coincide con el empleado en el presente estudio.

Cuando se analiza la influencia de factores como la edad, se obtuvo que el GSSG se incrementa con la edad, mientras que, no se encontró asociación entre el GSH y la edad en el rango de edades estudiado. Estos hallazgos están en correspondencia con reportes previos donde se señala la relación descrita entre las alteraciones de la homeostasis del GSH con el envejecimiento (10, 14). En este sentido, se describe que estas afectaciones en los niveles de GSH y GSSG con el avance de la edad, puede conducir a alteraciones en las respuestas inmunológicas ante las infecciones virales y a enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo (EO) como el cáncer y los trastornos neurodegenerativos. (10, 15)

En cuanto al género, en la muestra seleccionada, el género femenino fue predominante, sin embargo, no se



encuentran diferencias en los marcadores según el género. En estudios precedentes no se reportan diferencias en estos marcadores atendiendo al género (10, 14), de manera coincidente con lo reportado en este estudio.

El par redox GSH/GSSG es el más abundante en el eritrocito. Se plantea que en los individuos sanos aproximadamente el 90% del GSH esté en su estado reducido. (16) Por lo que, una disminución en los valores de esta razón, podría ser indicativo de la depleción del GSH ya sea por su utilización para contrarrestar el aumento de procesos oxidativos o en la detoxificación de xenobióticos. En condiciones de EO aumenta el consumo de GSH, aumenta la salida de GSSG y por tanto esta razón disminuye. (16) De ahí la importancia de conocer la relación molar en sujetos aparentemente sanos, valores que podrían ser utilizados para contrastarlos con los de pacientes con posibles alteraciones en el estado redox celular. Sobre todo porque es

muy amplia la variación de los valores reportados, tanto para la relación molar como para el estado redox celular. Lo cual está dado por la dependencia que tienen estos valores a las concentraciones determinadas para cada uno de los componentes de este par redox y de la expresión utilizada en cada investigación, la que adicionalmente puede variar entre los diferentes estudios donde se reporta. (10, 13)

Finalmente, fueron determinadas las concentraciones intraeritrocitarias del GSH y GSSG así como el estado redox celular eritrocitario. A partir de estos datos, en futuras investigaciones se podrán utilizar estos resultados para contrastarlos con los obtenidos en pacientes con diversas patologías, así como, para la evaluación de la respuesta de las opciones terapéuticas que sean utilizadas en la atención de los mismos, lo que redundará en el incremento de la calidad de la atención médica ofrecida a los pacientes cubanos.



REFERENCIAS

1. Ezgu F. Inborn Errors of Metabolism. *Adv Clin Chem* 2016;73:195-250. doi: 10.1016/bs.acc.2015.12.001. Epub 2016 Jan 23. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26975974/>
2. Ferguson GD, Bridge WJ. The glutathione system and the related thiol network in *Caenorhabditis elegans*. *Redox Biol* 2019 Jun; 24: 101171.
3. Teskey G, Abraham R, Cao R, Gyurjian K, Islamoglu H, Lucero M, Martinez A, Paredes E, Salaiz O, Robinson B, Venketaraman V. Glutathione as a marker for Human disease. *Avances in clinicas Chemistry* 2018; 87 Chapter 5. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30342710/>
4. Vilar E, Martinez Y, Vega H, Riveron G, Arus E, Calzadilla L, Garcia AY, Abreu MR, González L. Antioxidant and immunomodulatory effects of Viusid in patients with chronic hepatitis C. *World J Gastroenterol* 2010;16:2638-47.
5. Lipsa D, Cacho C, Leva P, Barrero-Moreno J, Aguar P. Development of a HPLC-UV metros for simultaneous determination of intracellular glutathione species in human cells. *J Anal Bioanal Tech* 2015;6:259. Doi 10.4172/2155-9872.10000259.
6. Jones DP. Redox potential of GSH/GSSG couple: assay and biological significance. *Method enzymol* 2002;348:93-112.
7. Maurya PK, Kumar P, Chandra P. Biomarker of oxidative stress in erythrocytes as a function of human age. *World J Methodol* 2015 Dec 26;5(4):216-22.



8. Kalpravidh RW, Tangjnidee T, Hatairaktham S, Charoensnki R, Panichkul N, Siritanaratkul N, Fucharoen S. Glutathione redox system in b-thalassemia/HbE patient. *Scien World J* 2013;2013:7. <https://doi.org/10.1155/2013/543973>. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3816076/>
9. Trevisan M, Browne R, Ran M, Muti P, Freudenheim J, Carosella AM. Correlates of markers of oxidative status in the general population. *Am J Epidemiol* 2001;154(4):348-56.
10. Erden-Inal M, Sunal E, Kanbak G. Age-related changes in the glutathione redox system. *Cell Biochem Funct* 2002;Mar 20(1):61-6. doi:10.1002/cbf.937.
11. Veglia F, Cighetti G, De Franceschi M, Zingaro L, Boccotti L, Tremoli E, Cavalca V. Age-and-gender-related oxidative status in healthy subjects by means of OXY-SCORE, a potential new comprehensive index. *Biomarkers* 2006;11(6):563-73. doi:10.1080/13547500600898623.
12. Hernanz A, Fernández-Vivanco C, Montiel JJ, Vázquez F, Arnalich F. Changes in the intracellular homocysteine and glutathione content associated with aging. *Life Sci* 2000;67(11):1317-24.
13. van't Erve TJ, Wagner BA, Ryckman KK, Raife TJ, Beuttner GR. The concentration of glutathione in human erithrocytes is a heritable trait. *Free Radic Biol Med* 2013 Dec 65. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2013.08.002.
14. Weber D, Stuetz W, Toussaint O, Debaq-Chainiaux F, Dolle ME, Jansen E, *et al.* Associations between specific redox biomarkers and age in a



- large european cohort: the MARK-AGE project. *Oxid Med Cell Longev* 2017;2017:1401452. doi:10.1155/2017/1401452.
15. Silvagno F, Vernone A, Pescarmona GP. The role of glutathione in protecting against the severe inflammatory response triggered by COVID-19. *Antioxidants* 2020;9:624. doi:10.3390/antiox9070624.
16. Kuhn V, Diederich L, Stevensen K, Kramer CM, Luckstadt W, Pankain C, *et al.* Red blood cell function and dysfunction: Redox regulation, nitric oxide,



VPA TECHNIQUE: UNA PROPUESTA BIOFÍSICA DE TERAPIA INTRADÉRMICA.

Víctor García-Guevara¹⁻²⁻³, Gladys Velazco³

1. Innoaesthetics Laboratory provides Skin Experts and end-users with medical aesthetic solutions and skincare products to improve skin health. Barcelona España
2. Fundación Centro de Estudios de Medicina Estética. Caracas, Venezuela.
3. Catedra Libre de Estética y Medicina Regenerativa. Facultad de Odontología, Universidad de Los Andes Mérida Venezuela.

ID ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3726-0482>

CORRESPONDENCIA: Carrer del Pont Reixat, 3, 3a planta, 08960 Sant Just Desvern, Barcelona, España

Email: fuceme@gmail.com

RESUMEN

En la actualidad el conocimiento a profundidad de la multifuncionalidad que poseen los distintos elementos celulares y elementos de la matriz extracelular en la piel, nos llevan a comprender qué tipo de actividad debemos establecer en las distintas capas constituyentes de este órgano con el fin de establecer diferentes funciones y características que mantienen la integridad y contribuyen con los procesos que puede contribuir a disminuir los signos de envejecimiento cutáneo. Basados en sus principios y en la reconformación del tejido conectivo constituyente de la fascia, en el tejido superficial

222



“retinacula cutis”, puede ser una gran alternativa para armonizar el equilibrio de fuerzas en los tejidos que confieren como consecuencias mejorías en las alteraciones que se producen como elementos del envejecimiento y constituyen signos visibles del mismo. Valoración prospectiva para la valoración de la técnica para lo cual fueron reclutadas 56 pacientes, 42 femeninos y 14 masculinos, en edades comprendidas entre 45 a 75 años, sin antecedentes importantes de patologías sistémicas ni dermatológicas, los cuales no habían realizado procedimientos estéticos en los últimos 6 meses y no referían antecedentes de aplicación de rellenos no reabsorbibles a nivel facial en ningún momento. La administración bajo un sistema algorítmico busca establecer sistemas de recuperación en las áreas que proporcionan la mayor contracción y sostén del tejido y de esa manera contribuir a los efectos benéficos. Queda una puerta abierta para seguir experimentando con la forma de aplicación propuesta para avanzar en la demostración de los posibles cambios experimentados en esta primera serie de pacientes.

PALABRAS CLAVE: Vectores faciales, Pilares faciales, redensificación dérmica, algoritmos de tratamiento.

VPA TECHNIQUE: A BIOPHYSICAL APPROACH TO INTRADERMAL THERAPY.

ABSTRACT

Nowadays, the in-depth knowledge of the multifunctionality of the different cellular elements and elements of the extracellular matrix in the skin, lead us to understand what kind of activity we must establish in the different constituent layers of this organ in order to restore different functions and characteristics that maintain the integrity and contribute to the processes that can contribute to reduce the signs of skin aging. It bases its principles on reformation of the connective tissue constituent of the fascia, in the superficial tissue "retinacula cutis", can be a great alternative to harmonize the balance of forces in the tissues that confer as consequences improvements in the alterations that



occur as elements of aging and are visible signs of it. A prospective evaluation for the assessment of the technique for which 56 patients were recruited, 42 females and 14 males, aged between 45 and 75 years, without important antecedents of systemic or dermatological pathologies, who had not performed aesthetic procedures in the last 6 months and did not refer antecedents of application of non resorbable fillers at facial level at any time. The administration under an algorithmic system seeks to establish recovery systems in the areas that provide the greatest contraction and support of the tissue and thus contribute to the beneficial effects. An open door remains to continue experimenting with the proposed form of application to advance in the demonstration of the possible changes experienced in this first series of patients.

KEY WORDS: Facial vectors, facial pillars, dermal redensification, treatment algorithms.

INTRODUCCION

Descrita inicialmente por el Dr. Michel Pistor (1), la mesoterapia representa una modalidad terapéutica representada por una técnica que permite la administración de principios activos a nivel intradérmico o del tejido adiposo superficial, con el fin de proporcionar cambios estructurales y con ello beneficios terapéuticos. En el ámbito de su utilización en procedimientos con fines estéticos aunque existen autores que reportan estudios donde ven leves cambios y no una mayor eficacia de la

técnica y sus activos (2) en los casos de rejuvenecimiento facial, por otro lado, otros muchos estudios de investigación (3, 4, 5, 6, 7, 8) muestran la generación de modificaciones importantes desde el punto de vista histológico y clínicos, con beneficios terapéuticos en la liberación transdérmica de sustancias.

En la actualidad el conocimiento a profundidad de la multifuncionalidad que poseen los distintos elementos celulares y elementos de la matriz extracelular en la piel, nos llevan a comprender qué tipo de actividad

224



debemos establecer en las distintas capas constituyentes de este órgano con el fin de restablecer diferentes funciones y características que mantienen la integridad y contribuyen con los procesos que pueden contribuir a aminorar los signos de envejecimiento cutáneo (9). Muchas son las actividades en las cuales mediante la ejecución de mecanismos de acción de activos específicos pueden conseguir la modulación y estimulación de funciones específicas, tales como la interacción célula a célula (10), la comunicación intermolecular, la modulación de componentes químicos que generan cambios positivos en el tejido conectivo, el reforzamiento de las actividades paracrinas, y la reestructuración de los elementos con actividad de sujeción, entre otros (11, 12, 13).

El perfil de seguridad de los procedimientos de inyección cosmética facial de tejidos blandos, en general es bastante bueno, los efectos secundarios a corto plazo, como la aparición de leve

dolor, enrojecimiento, edema o equimosis son comunes y una consecuencia esperada de las inyecciones en sí, pero en general de resolución espontánea sin la aparición de secuelas o daños graves al tejido (8), lo que ha llevado a la popularización de la técnica. Se han descrito diferentes modalidades de aplicación como el nappage, la técnica punto a punto o las micropápulas, que van desde la estimulación tegumentaria con ligera impregnación de producto en el tejido hasta la realización de depósitos de más lenta difusión. Sin embargo, como muchos elementos en el área médica, las técnicas evolucionan bajo la adquisición de mayor conocimiento, experiencia y entendimiento de los mecanismos biofísicos, bioquímicos y biomecánicos, pudiéndose otorgar mejores beneficios en el uso algorítmico de formas y áreas de aplicación, de allí la propuesta que se realiza en el presente estudio.

Fundamentos de la Técnica



La forma en que ha estado ha cambiado algunos años e estudiábamos los tejidos a nivel facial se han transformado en forma muy favorable gracias al conocimiento desarrollado que nos hace entender que las estructuras que conforman la arquitectura funcionan como un sistema integrado, viéndose en la actualidad el modelo de tejido facial con base física en la piel, el tejido adiposo subcutáneo y la base facial músculo-esquelética. Este modelo de tejido está representado por una red de unidades de resorte no lineales con diferentes propiedades viscoelásticas, que confieren los vectores de fuerza se construyen a partir de fibras que se unen rígidamente al hueso en un extremo y se mezclan con la capa de la dermis en el otro (14). La piel humana tiene una estructura en capas que consta de la epidermis, la dermis y el tejido celular subcutáneo. Debido a su estructura en capas, similar a una red, la piel no es homogénea ni isotrópica. Esto nos lleva a comprender que la disposición del tejido conectivo interconectado entre las diferentes capas conforma una disposición en el espacio

que evita que el colapso de formable colapse en ausencia de soporte, ya que garantiza que se constituyan fuerzas que puedan resistir la extensión y compresión pero también las fuerzas de torsión y cortante, lo cual se debe a que las caras de cada elemento tienen puntales cruzados conformando especie de resortes, lo que produce un modelo estructuralmente estable.

Inicialmente Dupuytren en 1834 y posteriormente Langer en 1861, describieron la existencia de una red de tejido de sostén ubicada bajo la superficie cutánea, la cual se encontraba dispuesta como una malla cuya disposición sería romboidal conformando líneas de tensión que coincidirían con la diagonal del rombo en su diámetro mayor. Posteriormente ha habido diferentes aportes y valoraciones de diferentes modalidades de líneas de tensión a nivel cutáneo sobre todo con fines quirúrgicos, sin embargo, para nosotros el valor importante comienza a configurarse en el entendimiento de la



conceptualización de fascia en la actualidad. La fascia “Consiste en el continuo tridimensional de colágeno blando que contiene, tejidos conectivos fibrosos sueltos y densos que impregnan el cuerpo”, representando “cualquier tejido que tiene características capaces de responder a estímulos mecánicos. El continuo fascial es el resultado de la evolución de la sinergia perfecta entre diferentes tejidos, líquidos y sólidos, capaces de soportar, dividir, penetrar, alimentar y conectar todos los distritos del cuerpo” (15). Entonces la fascia crea diferentes capas interdependientes con varias profundidades, desde la piel hasta el periostio, formando una estructura mecano-metabólica tridimensional.

Bajo estos conceptos podemos entender que la adecuación y re conformación del tejido conectivo constituyente de la fascia, en el tejido superficial “retinacula cutis”, puede ser una gran alternativa para armonizar el equilibrio de fuerzas en los tejidos que confieran como consecuencias mejorías en las

alteraciones que se producen como elementos del envejecimiento y constituyen signos visibles de mismo. Se establece entonces la aplicación de los conceptos biomecánicos a diferentes modalidades terapéuticas para conseguir la modificación estructural de los tejidos, y dentro de ellas el esquema terapéutico que se propone.

VPA Technique consiste en la aplicación de activos que contribuyan al reforzamiento y re conformación de un tejido conectivo integral que trabaja específicamente los elementos estatigráficos superficiales. Para ello se utilizan tres disposiciones en la administración de productos, los vectores, los pilares riostras y los anclajes, trabajando desde el punto físico con magnitudes vectoriales que generaran un efecto tensor, y magnitudes escalares, que bajo la conformación de vectores reforzaran las fuerzas antigravitacionales, teniendo en cuenta que el trabajo realizado por varias fuerzas es la suma de trabajo realizado por cada una de ellas. Los

pilares o vigas riostras son elementos estructurales generalmente que unen los dos o más miembros con el fin de absorber las posibles acciones horizontales evitando de esta forma el desplazamiento horizontal relativo de uno respecto a otro. Por su parte, los anclajes permitirán aumentar la resistencia y estabilidad, expandiendo acciones mecánicas ejerciendo presiones laterales que lo fijan, accionando como un soporte.

Con el establecimiento de planos cartesianos se procederá al marcaje de los planos de aplicación tomando siempre como base reparos anatómicos. De esta manera se establecen (Fig 1):

- Ejecución de líneas vectoriales.
- Posicionamiento de magnitudes escalares para la conformación de anclajes.
- Incorporación de riostras para establecimiento de fuerzas de estabilidad.

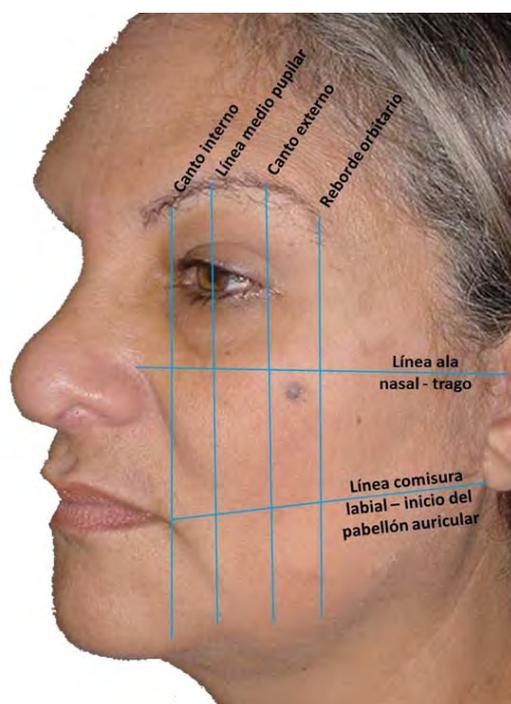


Figura 1. Planificación planimétrica planar.

Una vez establecido los puntos se proyectan magnitudes vectoriales 3 a 4

por campo, con la administración de 0,1 ml por cada línea figura 2

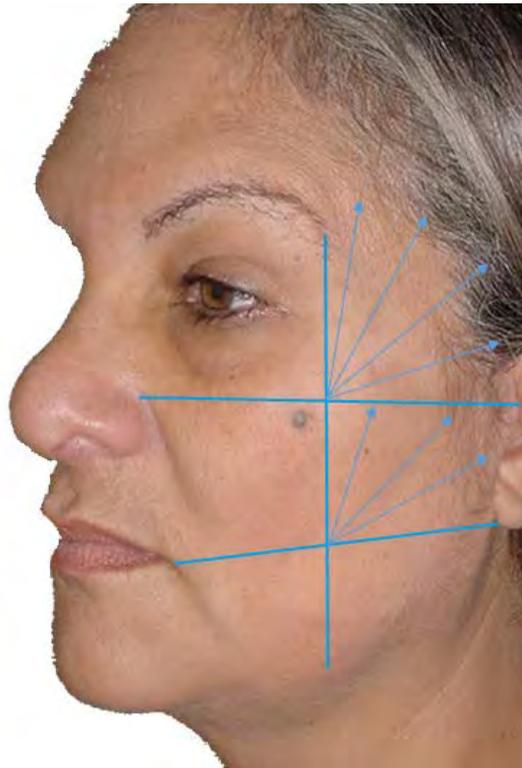


Figura 2. Distribución vectorial facial

Se procede al establecimiento de los puntos de anclaje aplicando el producto a 3 milímetros de profundidad en

magnitud escalar de 0,1 ml en cada punto figura 3.

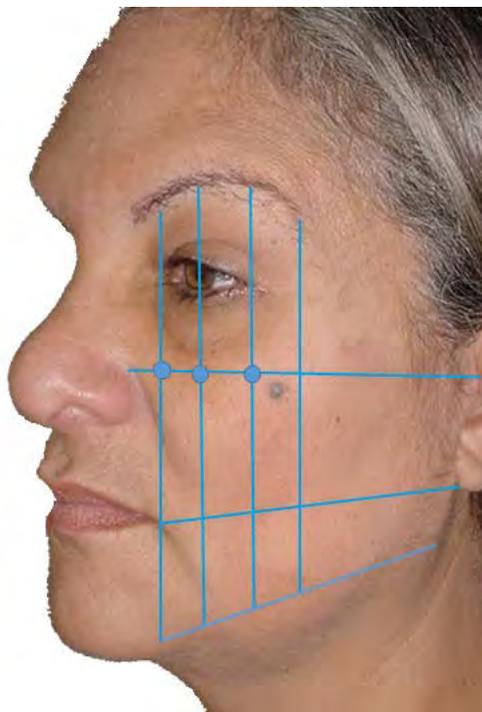


Figura 3. Implantación de los puntos de aclaje.

Por último, se establecen los pilares como líneas opuestas a la estructura conformacional de constitución de

rítidos o surcos, aplicándose a 2 milímetros de profundidad 0,04 ml de la solución figura 4.



Figura 4. Establecimiento de pilares faciales.

De esta manera se establecen fuerzas que contribuyan a aumentar la capacidad de resistencia cutánea, incrementando la síntesis y apropiada disposición de tejido conectivo trabajando en la restauración de la arquitectura conformacional y de interconexión de tejidos.

Este procedimiento se lleva a cabo por 3 a 4 sesiones las cuales se realizan cada 15 días en la constitución de un ciclo terapéutico, el cual puede ser reaplicado cada 6 a 8 meses en relación a las indicaciones que establezca el

profesional y las necesidades de l paciente.

Valoración de Eficacia y Seguridad de la Técnica

Se llevó una valoración prospectiva para la valoración de la técnica para lo cual fueron reclutadas 56 pacientes, 42 femeninos y 14 masculinos, en edades comprendidas entre 45 a 75 años, sin antecedentes importantes de patologías sistémicas ni dermatológicas, los cuales no habían realizado procedimientos estéticos en los últimos 6 meses y no

referían antecedentes de aplicación de rellenos no reabsorbibles a nivel facial en ningún momento de su vida. Se procedió a una evaluación completa física y a la firma del consentimiento informado. El estudio se llevó a cabo de Octubre a Diciembre del 2019. Se evaluó la eficacia del tratamiento a través del establecimiento del GAIS a los 30, 60, 90 y 120 días y se establecieron parámetros de valoración de efectos secundarios de forma

inmediata (primeras 72 horas) y a los tres meses de aplicación.

Se ejecutaron 3 sesiones de aplicación cada 15 días para cada paciente de tal forma de constituir un ciclo terapéutico. Se utilizó un producto constituido por ácido hialurónico de alto peso molecular al 15%, glicerol, manitol y ácido pantoténico. Se establecieron las dosis de aplicación según el esquema establecido anteriormente como observamos en la figura 5.

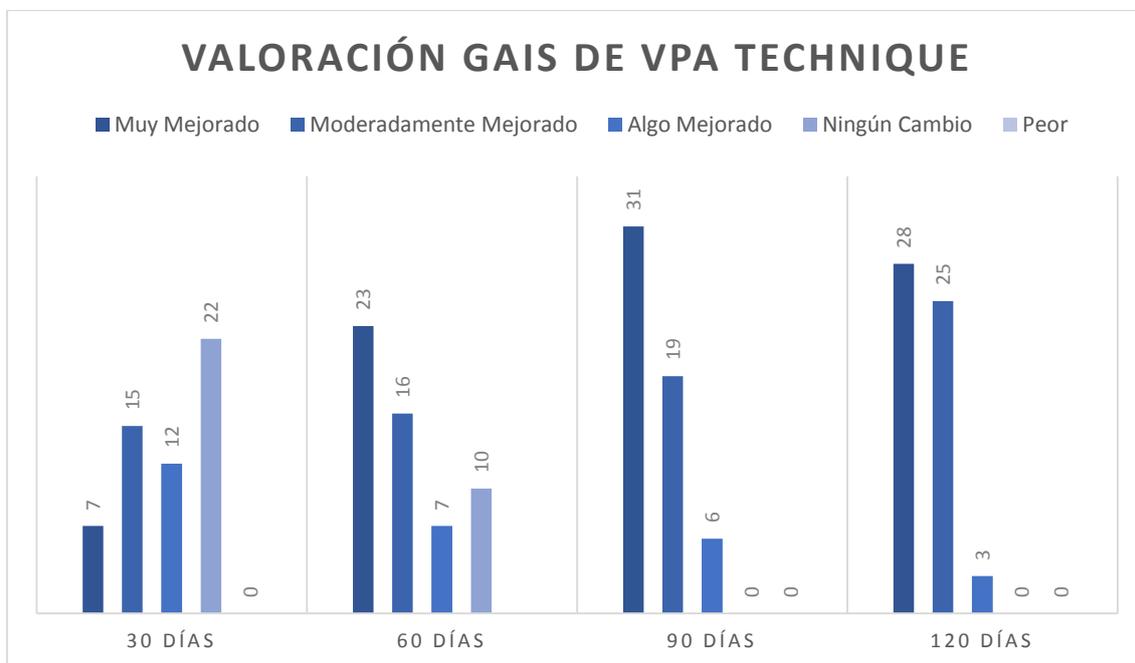


Figura 5. Evaluación de la secuencia de aplicación del VPA.

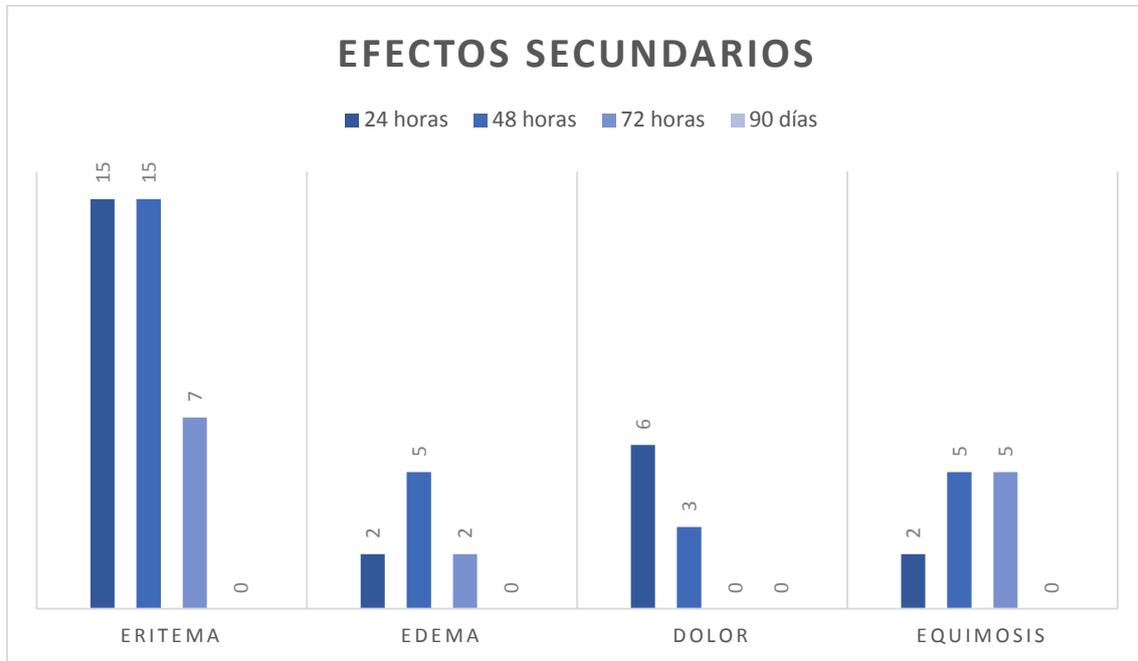


Figura 6. Porcentaje de efectos secundarios

DISCUSIÓN

La mayoría de las alteraciones cutáneas inducidas a consecuencia de los años vividos resultan de una combinación de factores endógenos y exógenos, las cuales suelen afectar el grosor epidérmico (16), la estructura y la pigmentación (17), así como la morfología y microestructura de estructuras más profundas. Se ha informado por ejemplo del agotamiento de la fibrilina y la expresión reducida del colágeno tipo V II en la unión

dermoepidérmica, lo que posiblemente contribuya a la formación de depresiones dérmicas entre otros signos (18). Además, se ha demostrado que en la dermis de la piel envejecida expuesta al sol presenta una acumulación anormal de fibras elásticas (elastosis solar), así como una distribución de colágeno más escasa (19) y un contenido reducido de colágeno tipo I. Por el contrario, la piel envejecida protegida por el sol muestra una matriz extracelular atrófica, celularidad

disminuida (especialmente en términos de fibroblastos) (20), y menos fibras de colágeno y elásticas. Estos cambios dan como resultado características macroscópicas visibles que caracterizan el fenotipo de la piel en vejecida, como un grosor reducido, sequedad, cierta

pérdida de elasticidad (21), y líneas de expresión para áreas protegidas por el sol, así como laxitud, aspereza, pigmentación irregular, mayor fragilidad y ríndes más profundas en el tejido fotodañado.



Figura 7. Efectos comparativos y evaluables clínicamente

La valoración realizada en los pacientes estudiados pone de manifiesto que la técnica y aplicación de un producto adecuado logran tener muy buena efectividad con carencia de efectos indeseables de importancia, lo que permite establecerlo como un

procedimiento seguro. En relación al beneficio terapéutico desde los primeros 30 días se puede observar un efecto de mejoría de signos de envejecimiento cutáneo estableciendo buenos efectos en el 39,29% de la muestra tratada. De igual manera se puede observar que



luego de la tercera aplicación se consigue elevar los valores de eficacia al 89,29% , conservándose efectos similares a los 120 días de valoración.

En relación a los efectos secundarios son leves y no requirieron de ningún tipo de intervención, resolviéndose de manera espontánea.

La ejecución de la técnica permite al profesional aprovechar el mecanismo de acción de los activos con el fin de modular las condiciones biomecánicas de los tejidos integrados de la piel y con ello crear fuerzas que mejoran la tonicidad y firmeza trayendo como consecuencia una disminución de signos presentados.

En el caso particular del producto escogido para la realización de la técnica podríamos decir que el ácido hialurónico ha demostrado a través de análisis cuantitativo de reacción en

cadena de polimerasa con transcriptasa inversa, análisis de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas y corroboración histológica que incrementa la expresión de procolágenos I, III, IV y VII y aumenta los depósitos de colágeno tipo I y Tipo III en la piel. Además este activo tiene igualmente la capacidad de aumentar significativamente la expresión del gen de la elastina y proteínas de la piel, incrementando a sí mismo la expresión del gen de fibrilina-1 y versican, que son fundamentales para el ensamblaje y la integración funcional de las fibras de elastina en la matriz extracelular (22, 23). Por su parte el glicerol, el manitol y el ácido pantoténico permiten estabilizar la molécula de ácido hialurónico y disminuir su degradación por actividad de las especies reactivas de oxígeno, consiguiendo una mayor permanencia en el tejido.

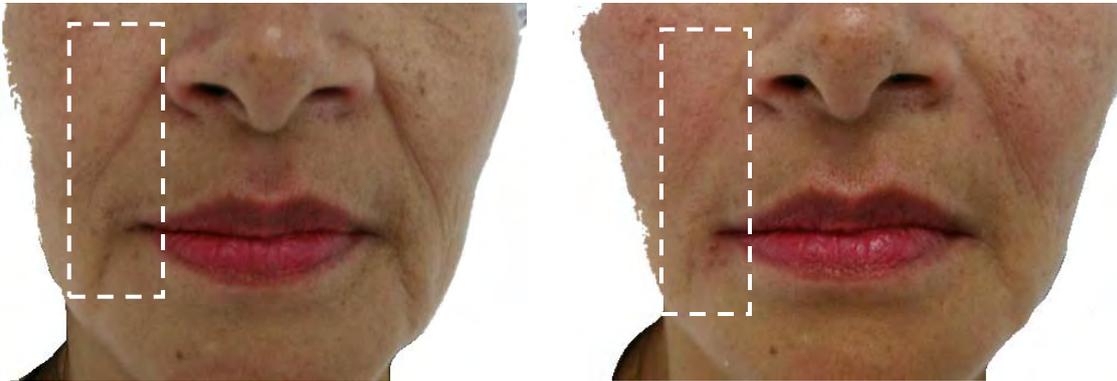


Figura 8. Efectos comparativos y evaluables clínicamente en el tercio inferior.

En relación al sistema integrado es bien conocido los cambios que ocurren a nivel de la piel en sus aspectos biomecánicos, lo que está influenciado de alguna manera por el grosor y la composición del tejido. Oportuna y conferir al tejido conectivo su capacidad de modular y conseguir un efecto de reestructuración y densificación contribuye a cambios físicos que permiten restablecer características importantes de la piel que se van perdiendo en el proceso de envejecer.

La matriz extracelular dérmica (MEC) proporciona fuerza y elasticidad a la piel. La unión de los fibroblastos a las fibrillas de colágeno genera fuerzas mecánicas que regulan la morfología y

función celular. Con el envejecimiento, la fragmentación del colágeno reduce la unión de fibroblastos-ECM y las fuerzas mecánicas, lo que da como resultado la contracción de los fibroblastos y una función reducida, incluida la producción de colágeno. Al mejorar en gran medida al mejorar el soporte estructural de la matriz extracelular podemos revertir los cambios indeseables como consecuencia de la edad. Se ha demostrado que el soporte mecánico mejorado del ECM también estimula la proliferación de fibroblastos, expande la vasculatura y aumenta el grosor epidérmico (24). Se debe tener en cuenta que los fibroblastos en la piel humana envejecida conservan su capacidad de activación funcional, que



se restaura al mejorar el soporte estructural del tejido conectivo.

CONCLUSION

La aplicación de productos que pueden incidir sobre la restitución del tejido conectivo a través de esta técnica demuestra la conformación de estructuras que se relacionan con la restitución de condiciones físicas y mecánicas de la piel. La administración bajo un sistema algorítmico busca establecer sistemas de recuperación en las áreas que proporcionan la mayor contracción y sostén del tejido y de esa manera contribuir a los efectos benéficos. Queda una puerta abierta para seguir experimentando con la forma de aplicación propuesta para avanzar en la demostración de los posibles cambios experimentados en esta primera serie de pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Pistor M. What is mesotherapy? *Chir Dent Fr*. 1976; 46: 59–60. [PubMed: 1076080]
2. El-Domyati M, El-Ammawi TS, Moawad O, El-Fakahany H, Medhat W, Mahoney MG, Uitto J. Efficacy of mesotherapy in facial rejuvenation: a histological and immunohistochemical evaluation. *Int J Dermatol*. 2012 Aug;51(8):913-9.
3. Amin SP, Phelps RG, Goldberg DJ. Mesotherapy for facial skin rejuvenation: a clinical, histologic, and electron microscopic evaluation. *Dermatol Surg*. 2006 Dec;32(12):1467-72.
4. Ahmed NA, Mohammed SS, Fatani MI. Treatment of periorbital dark circles: Comparative study of carboxy therapy vs chemical peeling vs mesotherapy. *J Cosmet Dermatol*. 2019 Feb;18(1):169-175.
5. Deglesne PA, Arroyo R, Ranvea E, Deprez P. In vivo study of RRS HA injectable mesotherapy/biorevitalization



- product on human skin fibroblasts and its clinical utilization. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2016 Feb 23;9:41-53.
6. Kim S, Kye J, Lee M, Park B. Evaluation of mesotherapy as a transdermal drug delivery tool. *Skin Res Technol*. 2016 May;22(2):158-63.
7. Tedeschi A, Lacarrubba F, Micali G. Mesotherapy with an Intradermal Hyaluronic Acid Formulation for Skin Rejuvenation: An Inpatient, Placebo-Controlled, Long-Term Trial Using High-Frequency Ultrasound. *Aesthetic Plast Surg*. 2015 Feb;39(1):129-33.
8. Prikhnenko S. Polycomponent mesotherapy formulations for the treatment of skin aging and improvement of skin quality. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2015 Apr 7;8:151-7.
9. Friedman M, Fiedman B. Cell communication: understanding how information is stored and used in cells. 1st ed. New York: Rosen Publishing Group; 2005.
10. Salomon D, Saurat JH, Meda P. Cell-to-cell communication within intact human skin. *J Clin Invest*. 1988 Jul;82(1):248-54.
11. Tandara AA, Mustoe TA. MMP- and TIMP-secretion by human cutaneous keratinocytes and fibroblasts--impact of coculture and hydration. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2011 Jan;64(1):108-16.
12. Carrasco E, Soto-Herederó G, Mittelbrunn M. The Role of Extracellular Vesicles in Cutaneous Remodeling and Hair Follicle Dynamics. *Int J Mol Sci*. 2019 Jun 5;20(11):2758.
13. Riau AK, Ong HS, Yam GHF, Mehta JS. Sustained Delivery System for Stem Cell-Derived Exosomes. *Front Pharmacol*. 2019 Nov 14;10:1368.
14. Keith Waterst, Demetri Terzopoulos. A Physical Model of Facial Tissue and Muscle Articulation. THO31 1-



- 1/90/0000/0077/\$01.O O O 1990
IEEE.
15. Bordoni B , M ahabadi N ,
Varacallo M. Anatomy, F ascia.
In: *StatPearls*. Treasure Island
(FL): StatPearls Publishing;
August 10, 2020.
16. Makrantonaki E, Zouboulis C C.
Molecular mechanisms of skin
aging: state of the art. *Ann. N. Y.
Acad. Sci.* 1119 (2007) 40–
50.
17. Longo C, Casari A, Beretti F,
Cesinaro AM, Pellacani G. Skin
aging: in vivo microscopic
assessment of epidermal and
dermal changes by means of
confocal microscopy. *J. Am. Acad.
Dermatol.* 68 (2013) e73–e82.
18. Contet-Audonneau JL, Jeanmaire
C, Pauly G. A histological study of
human wrinkle structures:
comparison between sun-exposed
areas of the face, with or without
wrinkles, and sun-protected areas.
Br. J. Dermatol. 140 (1999) 1038–
1047.
19. Bernstein EF, Yue Qiu Chen, Kopp
JB, Fisher L, Brown DB, Hahn PJ,
Robey F A, Lakkakorpi J , Uitto J .
Long-term sun exposure alters the
collagen of the papillary dermis:
comparison of sun-protected and
photoaged skin by Northern
analysis immunohistochemical
staining, and confocal laser
scanning microscopy. *J. Am. Acad.
Dermatol.* 34 (1996) 209–218.
20. Makrantonaki E , Zouboulis C C.
Characteristics and
pathomechanisms of endogenously
aged skin. *Dermatology* 214 (2007)
352–360.
21. Diridollou S, Vabre V, Berson M,
Vaillant L , Black D, Lagarde JM,
Grégoire JM, Gall Y, Patat F. Skin
ageing: changes of physical
properties of human skin in vivo.
Int. J. Cosmet. Sci. 23 (2001) 353–
362.
22. Hinek A , Braun K R, Liu K ,
Wang Y , Wright T N.
Retrovirally mediated
overexpression of vesicular
reverses impaired elastogenesis
and heightened proliferation
exhibited by fibroblasts from
Costello syndrome and Hurler



-
- disease patients. *Am J Pathol.* 2004;164:119–131.
23. Kielty C M, Sherratt M J, Shuttleworth C A. Elastic fibres. *J Cell Sci.* 2002;115:2817–2828.
24. Quan T, Wang F, Shao Y, Rittié L, Xia W, Orringer JS, Voorhees JJ, Fisher G J. Enhancing structural support of the dermal microenvironment activates fibroblasts, endothelial cells, and keratinocytes in aged human skin in vivo. *J Invest Dermatol.* 2013;133(3):658-667.



**¿LA SENESCENCIA CELULAR PROMUEVE EL
ENVEJECIMIENTO BIOLÓGICO?
SCOPING REVIEW**

Irviana Molina¹, Eduvigis Solórzano²

- 1. Facultad de Odontología. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.**
- 2. Grupo de Investigaciones Biopatológicas (GIBFO). Facultad de Odontología. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.**

CORRESPONDENCIA: ORCID iD <https://orcid.org/0000-0002-0147-0456>

Universidad de Los Andes. Facultad de Odontología. 5101. Mérida-Venezuela.

Email: eduvigis@ula.ve

RESUMEN

La senescencia celular es un mecanismo de respuesta frente a elementos nocivos, consiste en la detención de las divisiones celulares; por lo cual la célula permanece viable y el daño sufrido no es transmisible a las siguientes generaciones; sin embargo, la evidencia actual indica que este tipo de células son más predominantes en tejidos de individuos con mayor edad biológica y la presencia de ciertos marcadores que expresan daño molecular plantea como objetivo contestar la siguiente pregunta de investigación: ¿la senescencia celular promueve el envejecimiento biológico? Se llevó a cabo una revisión de alcance “Scoping review” con base a la guía de extensión de la declaración PRISMA y con las pautas del Instituto Joanna Briggs para la realización revisiones sistemáticas de alcance, empleando las bases de datos PubMed, Scopus y Google Scholar, se seleccionaron los artículos publicados en los últimos 5 años, En los criterios de inclusión, se aceptaron todos los tipos de estudios posibles publicados en el idioma inglés con fechas entre el 30 noviembre de 2019 hasta el 01 de enero de 2021, la búsqueda arrojó 579 artículos, que luego de su respectiva revisión fueron seleccionados 52. De



estos artículos seleccionados (42) se identificaron como estudios documentales de los cuales (40) eran artículos de revisión y (2) emplearon bases de datos provenientes de estudios previos; (11) eran estudios experimentales de los cuales (5) eran estudios *in vivo* y (6) *in vitro*. Debido a los múltiples factores celulares y bioquímicos involucrados, se requiere de más datos para inferir una asociación directa de causalidad del envejecimiento sobre los tejidos.

PALABRAS CLAVES: Senescencia Celular, Biomarcadores, Envejecimiento celular, Inmunosenescencia.

DOES CELLULAR SENESENCE PROMOTE BIOLOGICAL AGING? SCOPING REVIEW

ABSTRACT

Cellular senescence is a response mechanism against damage elements, it consists in the arrest of cell divisions; Therefore, the cell remains viable and the damage suffered is not transmissible to subsequent generations, however, current evidence indicates that this kind of cells is more predominant in tissues of individuals with greater biological age and the presence of certain markers that express molecular damage, this aims to answer the following research question: does cellular senescence promote biological aging? A scoping review was carried out based on the extension guide of the PRISMA statement extension guide and with the Joanna Briggs Institute guidelines for systematic scoping review, using the PubMed, Scopus and Google Scholar databases. Articles published in the last 5 years were selected. the inclusion criteria include all types of possible studies published in English with dates between November 30, 2019 and January 1, 2021, the search yielded 579 articles of which 53 were selected after their respective review. These selected articles show that (41) were identified as documentary studies of which (39) were review articles and (2) used databases from previous studies; (11) were experimental studies of which (5) were *in vivo* and (6) *in vitro* studies. Due to the multiple



cellular and biochemical factors involved, more data is required to infer a direct causal association of aging on tissues.

KEYWORDS: Cellular senescent, Biomarkers, Cellular aging, Inmunosenescence.

1. INTRODUCCIÓN

El desarrollo de la vida desde el nacimiento hasta la adultez involucra distintos mecanismos que pueden ser descritos con cierta exactitud en la literatura actual; sin embargo, las bases biológicas del estado de declive del organismo, conocido como envejecimiento, sigue siendo una de las mayores preguntas de la ciencia sin respuesta; pudiendo deberse esto, a la innumerable cantidad de factores, señalizaciones celulares y moleculares involucrados que actúan con cierta sinergia, por lo que, la tarea de identificar y correlacionar resulta compleja(1–4). No es de extrañar entonces; que no exista una, sino varias teorías que tratan de explicar las causas de este fenómeno; desde el equilibrio que puede existir con el gasto energético de una célula, el estado de las células madres, la longitud de los telómeros que puede acortarse con cada división

celular, hasta aquellas que sostienen que la longevidad está condicionada a una expresión genética (1,5).

No obstante, es posible que el envejecimiento esté asociado a una consecuencia de las respuestas celulares ante estímulos del medio, al ser estos nocivos y dependiendo del grado de estrés al que están sometidas, las células tienen tres posibles respuestas: reparación, muerte o senescencia. La senescencia involucra mecanismos que provocan un estado de pérdida estable celular y eventualmente, la detención de las divisiones mitóticas, por lo cual, la célula permanece viable, pero no puede transmitir el daño que ha sufrido a la siguiente generación; en este sentido, lo realmente interesante es que estas células son más predominantes en individuos con mayor edad biológica, ya que suelen



permanecer en los tejidos. Éste último punto abre un debate sobre si los mecanismos asociados a la senescencia están involucrados o no en el envejecimiento(3,6–8).

La senescencia implica diversos cambios morfológicos y bioquímicos en las células; asimismo, se pueden establecer ciertas relaciones con mecanismos asociados a la senescencia como aquellos intervinientes en la longitud de los telómeros, el estrés oxidativo e inclusive la inflamación. En la actualidad la interpretación de estos factores y su papel en el envejecimiento se hace con base a biomarcadores de senescencia, los cuales, para darle validez científica, deben ser utilizados en conjunto, lo que permite identificar dichas células en un tejido (5,9–12).

Se puede notar como distintas áreas del conocimiento suman esfuerzos con el fin de esclarecer los mecanismos asociados a este fenómeno, y es por esto que está disponible una gran cantidad de

información disponible que trata de aportar respuestas desde diversos puntos de vista, por lo tanto, existen diversas teorías e información discordante; por lo tanto, desde un enfoque exploratorio, esta revisión de alcance ofrece un aporte novedoso a la literatura sobre la comprensión de la senescencia celular y su relación con el envejecimiento biológico, con el objetivo de abordar la siguiente pregunta de investigación: ¿la senescencia celular promueve el envejecimiento biológico? Para alcanzar este objetivo, los trabajos seleccionados según criterios de inclusión y exclusión se ordenaron para su análisis siguiendo un enfoque narrativo, que se describe en las siguientes secciones.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Tipo y diseño del estudio

Este estudio según la clasificación dada por Hernández, Fernández y Baptista (13) tuvo un alcance exploratorio con un diseño no experimental; transeccional, descriptivo. El desarrollo de este estudio estuvo basado en la guía de extensión de la declaración



PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Metanalyses*), PRISMS-ScR (14) publicada en 2018 y con la guía del Instituto Joanna Briggs para la realización revisiones sistemáticas de alcance(15)

2.2 Estrategia de búsqueda

La búsqueda fue realizada de manera independiente, el ultima la

búsqueda fue realizada hasta enero 2021. La estrategia de búsqueda estuvo limitada a los últimos 5 años (desde noviembre 2015 hasta enero 2021), utilizando los términos en español para Scholar Google y en inglés para las bases Pubmed/Medline/NCBI y Scopus. En la tabla 1 se observa la estrategia de búsqueda utilizada y operador booleano empleado (“AND” / “Y”).

Tabla 1: Palabras clave empleadas en cada base de datos

Pubmed/Medline/NCBI	cellular senescence AND biological aging AND b galactosidase / celular senescence AND biologicalaging AND Senescent secretory phenotype/ cellular senescence AND biological aging AND DNA Damage/ Cellular senescence AND biological aging AND Telomere attrition/ Cellular senescence AND biological aging AND telomerase/ Cellular senescence AND biological aging AND biomarkers/ Cellular senescence AND biological aging AND stress oxidative/ Cellular senescence AND biological aging AND Immunosenescence
Google scholar	cellular senescence AND biological aging /B galactosidase AND Senescent secretory phenotype/ DNA Damage AND Telomere attrition/ telomerase AND biomarkers AND Immunosenescence
Scopus	cellular senescence AND biological aging AND DNA Damage/ celular senescence AND biological aging AND Telomere attrition/ celular senescence AND biological aging AND telomerase



2.3 Criterios de inclusión y exclusión del estudio

En los criterios de inclusión, se aceptaron:

1. Artículos que evalúen la senescencia celular, 2. Estudios *in vitro*, *in vivo* y revisiones documentales publicados en el idioma inglés, 3. Estudios publicados con fechas entre el 30 noviembre de 2015 hasta el 01 de enero de 2021. Los criterios de exclusión fueron: aquellos artículos duplicados, estudios irrelevantes, manuscritos, cartas al editor, comentarios de especialistas, y artículos no revisados. Es importante destacar que no se encontró una revisión de alcance “Scoping review” en español en los últimos 5 años sobre este tema, por lo que sólo se logró incluir artículos en inglés.

2.4 Tratamiento de los datos

Se creó una planilla para recopilar datos en el software Microsoft Office Excel 2013 (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, EE. UU.) Para la extracción de datos fue clasificado de acuerdo al año de publicación, fuente, tipo y objeto de estudio, principales aportes, además, fueron clasificados de acuerdo a su rigurosidad metodológica y relevancia para el estudio.

3. RESULTADOS

3.1. ESTUDOS SELECCIONADOS

En la figura 1 pueden observarse las diferentes etapas de esta revisión. La búsqueda identificó 7575, fueron eliminados los artículos repetidos, quedando solo 579 artículos que



posteriormente fueron analizados por sus títulos y resúmenes para su selección. Considerando los criterios de inclusión y exclusión se eligieron 52 artículos, las características de estos están la figura 2. Un total de 41 estudios que emplean fuentes secundarias (artículos de revisión y artículos que utilizaron bases de datos provenientes de estudios previos); en

cuanto a estudios experimentales se seleccionaron un total de (11) (estudios *in vivo* e *in vitro*). En las tablas 2, 3 y 4 se presentan los estudios con mayor relevancia, debido a su rigurosidad metodológica, se considera que los resultados y conclusiones representan un aporte importante al desarrollo del tema.

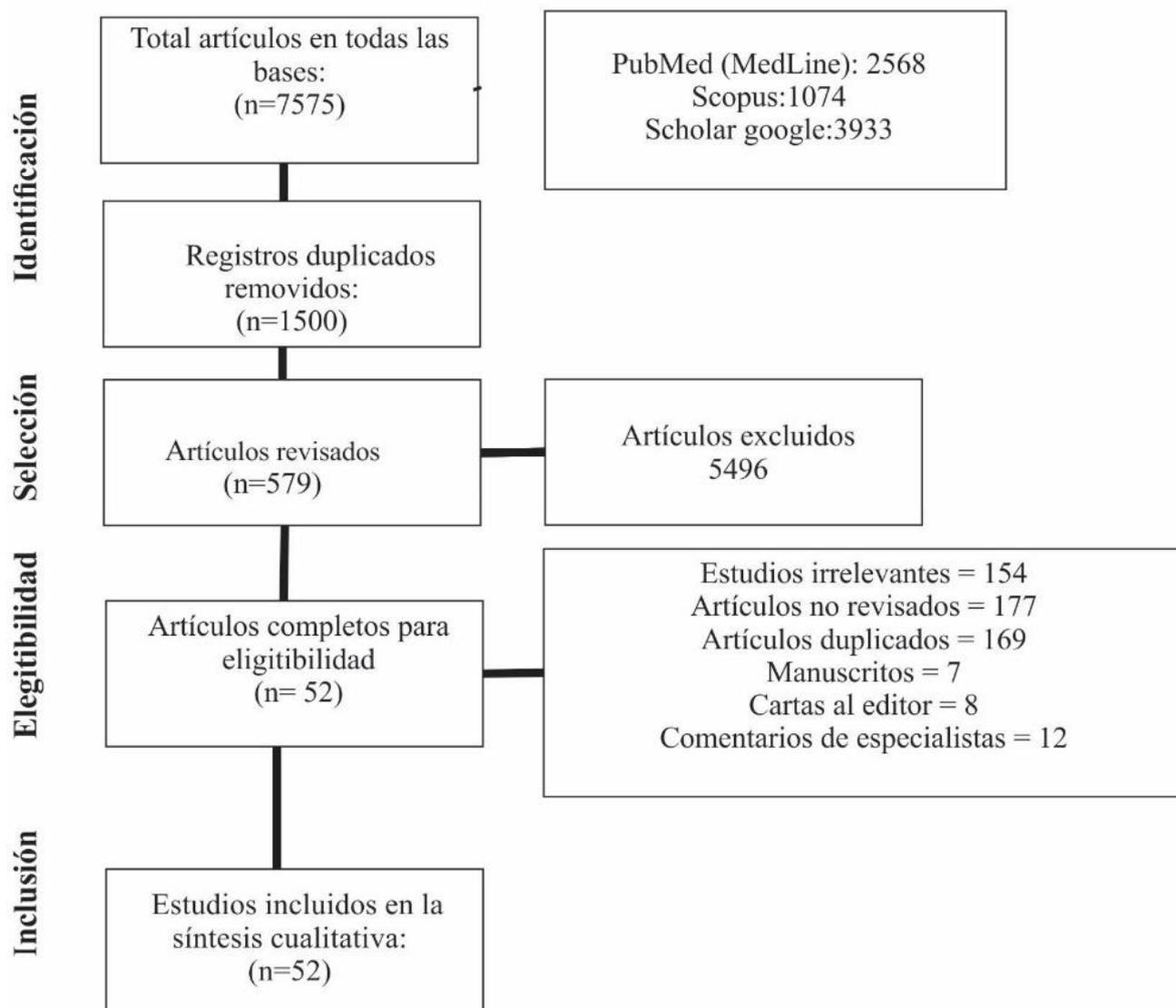


Figura 1. Etapas de la investigación.

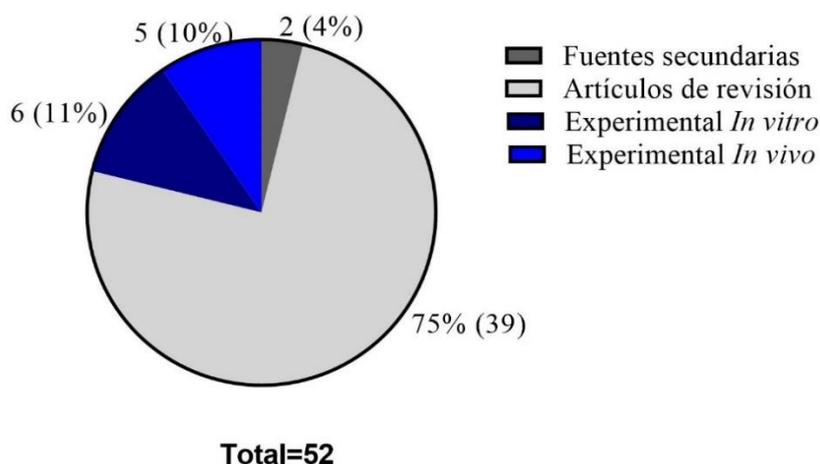


Figura 2 Distribución de los estudios.

Tabla 3. Estudios *in vitro*

Autor	Diseño del estudio	Objetivo	Número de muestra	Principal aporte
Lee S. y cols (18)	Experimental <i>In vitro</i>	Examinar las asociaciones entre el microbioma intestinal y las características del envejecimiento y la inmunidad.	165 muestras fecales recolectadas y una submuestra de 345 muestras de sangre para secuenciar ARN	Las bacterias intestinales pueden influir en los mecanismos fisiológicos subyacentes a una amplia gama de enfermedades relacionadas con la edad y fenotipos biológicos.
Schafer M. y cols (6)	Experimental <i>In vitro</i>	Determinar si el SASP circulante puede ser empleado como un biomarcador de envejecimiento/riesgo médico	Cultivos celulares de fibroblastos, preadipocitos, mioblastos y células epiteliales humanas	El SASP circulante puede servir como un biomarcador candidato clínicamente útil de la salud relacionada con la edad y una poderosa herramienta para estudios intervencionistas en humanos



Alibhai FJ. y cols (9)	Experimental <i>In vitro</i>	Describir los cambios que ocurren en las vesículas extracelulares plasmáticas durante el envejecimiento	Muestras sanguíneas de ratones jóvenes (3 meses) y ancianos (18-21 meses)	Las células senescentes contribuyen a cambios en las vesículas extracelulares plasmáticas con la edad, por lo que se sugiere que las células senescentes pueden afectar de manera general todo el organismo
------------------------------	---------------------------------	---	---	---

Tabla 2 Estudios *in vivo*

Autores	Diseño	Objetivo	Número de muestra	Principal aporte
Rentscher K. y cols (16)	Experimental Estudio clínico longitudinal	Determinar el efecto amortiguador del estrés psicosocial en dos vías biológicas de envejecimiento la señal de senescencia celular p16INK4a (CDKN2A) y las vías de control de la transcripción activadas bajo estrés celular	70 adultos de 40 parejas heterosexuales procedente de Los Ángeles entre el 2009 y el 2012	Los hallazgos identifican la cercanía de la relación como un factor protector que puede amortiguar el impacto del estrés en las vías del estrés celular y la senescencia
Chu X. y cols (17)	Experimental Estudio clínico de una sola intervención	Determinar si un shock hemorrágico conlleva a una respuesta de senescencia aguda	6 ratas de edad madura	La senescencia observada es necesaria para mantener la homeostasis del tejido después de la lesión.



Autor	Diseño del estudio	Objetivo	Número de muestra	Principal aporte
Lee S. y cols (18)	Experimental <i>In vitro</i>	Examinar las asociaciones entre el microbioma intestinal y las características del envejecimiento y la inmunidad.	165 muestras fecales recolectadas y una submuestra de 345 muestras de sangre para secuenciar ARN	Las bacterias intestinales pueden influir en los mecanismos fisiológicos subyacentes a una amplia gama de enfermedades relacionadas con la edad y fenotipos biológicos.
Schafer M. y cols (6)	Experimental <i>In vitro</i>	Determinar si el SASP circulante puede ser empleado como un biomarcador de envejecimiento/riesgo médico	Cultivos celulares de fibroblastos, preadipocitos, mioblastos y células epiteliales humanas	El SASP circulante puede servir como un biomarcador candidato clínicamente útil de la salud relacionada con la edad y una poderosa herramienta para estudios intervencionistas en humanos
Alibhai FJ. y cols (9)	Experimental <i>In vitro</i>	Describir los cambios que ocurren en las vesículas extracelulares plasmáticas durante el envejecimiento	Muestras sanguíneas de ratones jóvenes (3 meses) y ancianos (18-21 meses)	Las células senescentes contribuyen a cambios en las vesículas extracelulares plasmáticas con la edad, por lo que se sugiere que las células senescentes pueden afectar de manera general todo el organismo



Autor	Diseño del estudio	Objetivo	Número de muestra	Principal aporte
Lee S. y cols (18)	Experimental <i>In vitro</i>	Examinar las asociaciones entre el microbioma intestinal y las características del envejecimiento y la inmunidad.	165 muestras fecales recolectadas y una submuestra de 345 muestras de sangre para secuenciar ARN	Las bacterias intestinales pueden influir en los mecanismos fisiológicos subyacentes a una amplia gama de enfermedades relacionadas con la edad y fenotipos biológicos.
Schafer M. y cols (6)	Experimental <i>In vitro</i>	Determinar si el SASP circulante puede ser empleado como un biomarcador de envejecimiento/riesgo médico	Cultivos celulares de fibroblastos, preadipocitos, mioblastos y células epiteliales humanas	El SASP circulante puede servir como un biomarcador candidato clínicamente útil de la salud relacionada con la edad y una poderosa herramienta para estudios intervencionistas en humanos
Alibhai FJ. y cols (9)	Experimental <i>In vitro</i>	Describir los cambios que ocurren en las vesículas extracelulares plasmáticas durante el envejecimiento	Muestras sanguíneas de ratones jóvenes (3 meses) y ancianos (18-21 meses)	Las células senescentes contribuyen a cambios en las vesículas extracelulares plasmáticas con la edad, por lo que se sugiere que las células senescentes pueden afectar de manera general todo el organismo



Autor	Diseño	Objetivo	Número de muestra	Principal aporte
Tuttle C. y cols (19)	Documental, revisión sistemática, metaanálisis	Evaluar la evidencia actual acerca de las células senescentes en muestras de tejido humano envejecido	51 artículos	La magnitud de la senescencia puede variar entre tejidos, dentro de los tejidos y dependiendo del marcador utilizado para detectar la senescencia
Von Z. T. y cols (20)	Documental	Describir la relevancia demostrada y potencial de la senescencia celular como diana de las enfermedades crónicas relacionadas con la edad.	140 artículos	Existe buena evidencia de un fenotipo senescente como respuesta al estrés en células posmitóticas, incluidas las miofibras esqueléticas
Amaya M. y cols (21)	Revisión documental	Describir el estado de desarrollo de terapias contra la senescencia celular para uso humano	128 artículos	las estrategias para reducir o eliminar la carga de las células senescentes o sus productos tienen el potencial de impactar en múltiples resultados clínicos con una sola intervención
Dhalla P. y cols (22)	Revisión documental	Explicar la naturaleza interdependiente de p53, los telómeros y otros mecanismos convencionales del envejecimiento y el cáncer	49 artículos	El "envejecimiento acelerado" puede ser causado por el cáncer y su tratamiento
Lulkiewicz M.(10)	Revisión documental	Describir los factores que afectan la longitud de los telómeros en las células humanas y su relación con variables como el	89 artículos	Es probable que la contaminación, el aumento de los procesos de inflamación y el estrés oxidativo en la edad adulta puedan acelerar el



sexo, variaciones
ambientales y
hormonales

desgaste de la longitud de
los telómeros

3.2. SENESCENCIA Y ENVEJECIMIENTO BIOLÓGICO

El envejecimiento es un proceso universal e intrínseco, que según criterio de algunos autores, comienza después del nacimiento y se mantiene durante el desarrollo de la vida (18, 1-3), se caracteriza por la pérdida progresiva de las capacidades y las funciones de los órganos, tejidos, e inclusive, de las moléculas bioformativas conforme transcurre el tiempo (23-12). Las manifestaciones del proceso de envejecimiento incluyen la disminución del cabello, aumento de la susceptibilidad a las infecciones, mayor riesgo de insolación o hipotermia, cambios músculo-esqueléticos y en la piel, siendo este último el signo más evidente, ya que, se torna flácida, hiperocrómica, con pérdidas de brillo, turgencia y presencia de depresiones

dérmicas (1, 24). Estudios relacionan a este fenómeno con la respuesta al estrés, el aumento del desequilibrio homeostático (22, 6, 6, 24, 25), también se evidencia la relación del envejecimiento con patologías crónicas, cardiovasculares, metabólicas y neurodegenerativas (3, 11, 22), que en última instancia conducen a la insuficiencia de los órganos y a la muerte (5, 25, 26) siendo evidente en todos los seres vivos y especialmente en los humanos (6, 7, 13).

A pesar de presentarse como un proceso natural existe un estado alterado que se denomina envejecimiento acelerado. Dicha alteración puede ser producto de un desequilibrio genético o inducido, ya que, la compilación de pruebas apoya la hipótesis de que el cáncer y sus tratamientos (quimioterapia y radioterapia), además de factores



asociados como disfunción de la enzima telomerasa e isoformas de p53 causan un envejecimiento acelerado, afectando la longitud de los telómeros, especialmente en las células madre hematopoyéticas (8, 9, 27, 28 29), entre otros efectos. El envejecimiento tanto en su patrón normal como el acelerado conduce a un aumento progresivo de los niveles de morbilidad y mortalidad hacia el fin de la vida y ejerce en consecuencia, una importante carga a la sociedad y a la economía mundial (22, 24, 30).

La comprensión de este fenómeno requiere de la intervención de diversas áreas del saber que, en conjunto, logren dilucidar los complejos mecanismos que se encuentran detrás del proceso de envejecimiento basado en la célula (1, 6). Son diversas las teorías que tratan de explicar este fenómeno, siendo una de las primeras la del **soma desechable**, la cual expone que la vida mantiene un equilibrio en la inversión de sus recursos energéticos, entre el mantenimiento de sí misma mediante

procesos de reparación y los que se requieren para la procreación, esta se produce cuando el cuerpo invierte más de su energía para la reparación somática, lo que conduce a la muerte de las células (6); asimismo, la teoría de las mutaciones somáticas, sugiere que la acumulación de mutaciones del ADN puede conducir a la tumorigénesis y a la senescencia (6).

Otras teorías aluden cambios del metabolismo, como lo es **la teoría de los radicales libres y la hipótesis de la tasa de vida**; la cual, trata de que el estrés oxidativo es uno de los factores más importantes del envejecimiento (5). Esto coincidió con la idea de que las especies con una alta tasa metabólica, envejecen más rápido y tienen una vida más corta. Describe a la senescencia como un resultado del consumo de energía. Estas dos hipótesis se basan en la generación de mayor cantidad de radicales de oxígeno, llamados Especies Reactivas de Oxígeno (ROS por sus siglas en inglés), que provocan deterioros importantes en la célula y sus constituyentes, éstos se han relacionado con



daños causados por radiaciones ultravioleta, el impacto de diferentes longitudes de onda, agentes tóxicos ambientales, el fallo inherente y progresivo de las vías de respuesta al daño, por lo cual, se hace evidente que el fracaso de la reparación de estos daños puede conducir al acortamiento de la vida útil de las células involucradas (6, 7, 6, 11, 30).

Se ha tratado también de explicar el envejecimiento a través de los cambios genéticos y de la inestabilidad de las principales biomoléculas formativas (ADN, ARN, proteínas, carbohidratos y lípidos), esta se conoce como **la teoría del daño del envejecimiento (DamAging)**. Se considera que esos daños son los principales factores causantes de las alteraciones y enfermedades relacionadas con la edad, y conducen a una disminución de la esperanza de vida y de la salud (1, 23, 31, 32, 33). Se cree que las alteraciones ocasionadas en la síntesis de estas biomoléculas son la base de algunos de los cambios fisiológicos que se evidencian en los tejidos envejecidos (5, 11).

Otros puntos de vista indican que todas las células están sujetas a desgaste y deben ser reemplazadas periódicamente para mantener la fisiología normal de los tejidos y órganos, por lo tanto, la disminución del número o función de las células madre, es uno de los marcadores claves del envejecimiento, lo que define las bases de la teoría de **agotamiento de las células madre** (23, 5). De esta manera se establece que la autofagia está involucrada en el envejecimiento de las células madre al impactar coordinadamente su metabolismo y los cambios epigenéticos (6, 30). Esta teoría se sustenta debido a la correlación que presenta la población de células madre envejecidas con función disminuida y la evidencia de daño en el ADN relacionado con la edad, exhibiendo un aumento en los niveles de p16INK4a (conocido como p16 - proteína que controla la progresión del ciclo celular), (5, 25).

El envejecimiento se ha tratado de explicar a través de otros mecanismos, como los hormonales (**teoría del ciclo endocrino**),



en los que se establece que dichas sustancias regulan este proceso, al declive del sistema inmune (**teoría inmunológica**), algunas teorías infieren que el envejecimiento sigue un calendario predeterminado donde la longevidad es una expresión genética y está a su vez, mediada por la senescencia y la alteración de la expresión de dichos genes, se establece así **la teoría programada**, mientras que su antítesis, la teoría **cuasi-programada**, sostiene que es un efecto secundario de los programas genéticos que determinan el crecimiento y el desarrollo en los primeros años de vida (6). A pesar de que hay muchas teorías sobre las causas biológicas del envejecimiento se cree que la acumulación de daños moleculares aleatorios no reparados a lo largo del tiempo podría ser la causa principal del envejecimiento celular (34, 31). Debido a que todos los componentes moleculares son susceptibles de sufrir daños, incluidos el ADN, las proteínas, los lípidos y los orgánulos citoplasmáticos (6). Por lo que se infiere que el envejecimiento es un

fenómeno sistémico regulado por múltiples vías (9).

Otros mecanismos a considerar están relacionados con la respuesta celular a los estímulos del medio; las células están constantemente sujetas a varios tipos de estrés y según el tipo de célula, la naturaleza y la intensidad del estrés, la respuesta celular estaría encaminada por una de las tres vías principales: la reparación, apoptosis, o la **senescencia** (3, 6, 7), es por ello que en esta revisión se hará especial énfasis en esta última vía.

La senescencia es un estado celular de pérdida estable a largo plazo de la capacidad proliferativa, pero con la detención de la actividad y viabilidad metabólica normal, se da en las células que están expuestas a un alto estrés, pero aún en el rango subcitotóxico, y que no pueden reparar todos los daños causados por factores estresantes (8).

Este mecanismo implica que el ciclo celular se detenga prematuramente, lo que conduce



a un cese irreversible de la proliferación, evitando así, que el daño se transmita a la siguiente generación, y esto se debe a que se promueve un cese de las divisiones mitóticas, la viabilidad y la actividad metabólica de las células afectadas (1-21, 35). Este proceso contribuye al envejecimiento, en parte, a través de un cambio evidente en su morfología y función, que ha sido caracterizado y denominado Fenotipo Secretor Asociado a la Senescencia (SASP por sus siglas en inglés), (7,20, 26, 36-37, 38).

3.2.1. MECANISMOS ASOCIADOS A LA SENESCENCIA

Hayflick y Moorhead en 1961, descubrieron que a pesar de la accesibilidad de los factores de crecimiento, nutrientes y el espacio adecuados, los fibroblastos tienen un número limitado de divisiones celulares y que luego experimentan una pérdida permanente de proliferación celular y entran en un estado de senescencia replicativa (RS) o dependiente de los telómeros, ya que, se produce por

replicación y por el acortamiento de los telómeros (3, 10, 9, 39, 40, 41); asimismo, se demostró que no solo se produce en los fibroblastos, sino también en todas las células somáticas (22, 6). Mientras que la senescencia inducida (IS) o no telomérica, es producida por daño al ADN, oncogenes, señales mitogénicas o estrés excesivo (3, 6, 5, 42).

Bajo esta premisa, la longitud de los telómeros es considerada como el "reloj molecular" de la senescencia, aunque este es un tema de debate, ya que la longitud telomeral predice de manera inconsistente la esperanza de vida y la muerte, otro punto en contra para la aseveración de "reloj molecular" es que no se ha podido esclarecer si el desgaste telomérico es causa, consecuencia o simplemente una coincidencia con el proceso de envejecimiento. Además, dichas mediciones muchas veces son sesgadas, debido a que los métodos establecidos miden cada parámetro con ligeras diferencias (10, 9, 11).



3.2.3. CAMBIOS MORFOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS DE LAS CÉLULAS SENESCENTES

La senescencia celular en su respuesta al estrés exhibe **cambios morfológicos** y **bioquímicos** (21), las células aumentan de tamaño con múltiples núcleos y el citoplasma se vuelve prominente y vacuolado, además muestran patrones de tinción diferentes (5, 16, 31). Los cambios en la morfología celular se deben al aumento del contenido intracelular de ARN y proteínas, que es el resultado de la disminución de la renovación del ARN, la reducción de la degradación de las proteínas por vías mediadas por el proteosoma, la disociación del crecimiento celular de la división celular y el posible bloqueo de las células senescentes en la etapa G1 tardío (6). Algunas modificaciones exhiben la expresión de marcadores moleculares, como por ejemplo, la expresión del marcador β -galactosidasa asociada a la senescencia (SA- β -Gal, por sus siglas en inglés) y de los inhibidores de la cinasa

dependientes de la ciclina, entre ellos p16 y p21 (8, 16, 39–41).

El ADN mitocondrial (ADNmt), acumula una variedad de mutaciones y deleciones debido al declive de la función de este organelo, que aumentan con la edad (12, 36). Las mutaciones en el ADNmt, la senescencia, el declive relacionado con la edad en la función mitocondrial y el envejecimiento parecen ser el resultado de varias causas (12, 15, 16, 21, 42). El ADN mitocondrial está sujeto a daño oxidativo (15, 16, 43), lo que impide la replicación macromolecular y la renovación de estos organelos (16, 43), por lo tanto, una disminución de la producción de energía celular con aumento de ROS es lo que confiere a las células un fenotipo envejecido, que en última instancia conduce a enfermedades degenerativas relacionadas con la edad (16, 43).

También se debe indicar que, las células senescentes exhiben un secretoma de senescencia específico, que como se ha indicado en párrafos anteriores es



denominado SASP (2, 5, 16, 19, 30, 34, 37). El verdadero impacto microambiental de SASP y su composición varía en función de los tipos de tejidos y células, lo que refuerza la detención del ciclo celular; asimismo, la literatura demuestra que este fenotipo amplifica las respuestas inmunitarias innatas (15, 16, 25, 30, 32, 44).

3.2.4. ACORTAMIENTO DE LOS TELÓMEROS

Los telómeros son secuencias ADN repetitivo no codificante, que cubren el extremo de las cromátides de los cromosomas, con el fin de proteger el ADN de la degradación o recombinación y, por consiguiente, mantener la estabilidad genómica (13, 26, 29, 33, 37). Se puede decir que estos deciden el máximo de vida funcionalmente activa de una célula, porque cada vez que una célula se divide se pierden muchas repeticiones (entre 50 a 200 pb), acortándose los telómeros (2, 20, 23, 24, 26, 29, 45), lo cual conlleva a que este alcance la longitud crítica y sea disfuncional, lo que desencadena la

respuesta del daño del ADN (DDR por sus siglas en inglés) o dando lugar a la muerte de la célula (10, 18, 46, 47).

Este punto se explica mejor debido a la incapacidad de la ADN polimerasa para replicar los extremos del ADN, el telómero se erosiona con cada replicación celular, lo que se denomina "el problema de la replicación final" (13, 22, 23, 26, 28). Este fenómeno hace que los telómeros alcancen la longitud crítica y sean disfuncionales, lo que desencadena un DDR, estas señales permiten a las células identificar daños moleculares como roturas de la doble cadena, y en consecuencia, detener la progresión del ciclo celular e inducir la senescencia; el acortamiento progresivo de los cromosomas ocurre durante la replicación celular y se observa con el envejecimiento (7, 10, 14, 18, 24, 26, 29, 37, 39, 40, 46, 47).

En otro sentido, las lesiones que impiden la replicación de los telómeros pueden causar una acumulación de ADN monocatenario no replicado y se manifiestan como focos



multiteloméricos en los extremos de las cromátides, lo que se denomina telómeros frágiles (5, 6, 18). La fragilidad de los telómeros surge de las lesiones del ADN que colapsan o detienen la progresión de la horquilla de replicación, respectivamente. Cuando la horquilla de replicación del ADN se enfrenta a las SSB – (*single-stranded DNA binding proteins* o proteínas ligantes de ADN de cadena sencilla), puede causar el colapso de la horquilla, resultando en una ruptura de la doble cadena (24). Por lo que su relación con la senectud se produce cuando las células terminan teniendo telómeros críticamente cortos a través de un proceso que puede implicar la pérdida de la estructura del bucle t y al "destape" debido a la pérdida de proteínas protectoras (15, 16, 25). Esos telómeros sin tapar son reconocidos por los puntos de control del ciclo celular como un daño al ADN, lo que causa la detención del ciclo celular (5).

3.2.5. ESTRÉS OXIDATIVO

Distintos autores describen que el daño oxidativo del ADN acelera el acortamiento de los telómeros, lo que desencadena una senescencia prematura (36, 46). Cuando los niveles de ROS superan la capacidad antioxidante de las células, éstas reaccionan con los lípidos, las proteínas y los ácidos nucleicos de las células, lo que da lugar a la oxidación o a la formación de peróxido de hidrógeno. Esto conduce a la destrucción de la estructura de la membrana celular, cambios en la permeabilidad y una reacción citotóxica (10, 20). Los altos niveles de ROS pueden dañar directamente el ADN, las proteínas y los lípidos de las células (6). Con el tiempo, el daño oxidativo se acumula y contribuye al envejecimiento y a una variedad de enfermedades degenerativas propias de la edad (6).

Las mitocondrias son uno de los componentes celulares más afectados por el estrés oxidativo, y esto se explica debido a que la acumulación de mutaciones somáticas en los genes que codifican para las proteínas de la cadena respiratoria



mitocondrial o para las proteínas con función reguladora, esto último conlleva a un deterioro de la fosforilación oxidativa y por ende una disminución de la producción de Adenosin Trifosfato (ATP) y una producción anómala de ROS; lo cual se traduce en un desequilibrio de las defensas antioxidantes que finalmente producirá estrés oxidativo. Esto explica por qué la disfunción mitocondrial se ha considerado como un mecanismo fundamental en el envejecimiento (11).

3.2.6. SENESCENCIA PREMATURA

Hay una serie de estímulos no teloméricos que pueden causar senescencia celular prematura en las células independientemente de la longitud de los telómeros, debido a tensiones causadas por agentes endógenos o exógenos de carácter físico o químico (6, 7, 10, 46, 48). El término "premature" indica que la senescencia se produce antes de llegar al número máximo de duplicaciones de la población celular en que se produce la senescencia replicativa. En otras palabras,

"premature" muestra la aceleración del proceso (7, 48). Existe una asociación a mecanismos epigenéticos y la longitud telomeral, estos influyen debido a regulaciones de las transcripciones causadas por estrés celular; en este punto es interesante acotar que dentro de estas noxas se reportan el estrés psicológico, oxidativo, genotóxico y asociado a hormonas neuroendocrinas. Por lo tanto, el término "senescencia prematura inducida por estrés" se refiere a la senescencia subsiguiente a todos los tipos de estrés celular, excepto el acortamiento de los telómeros (7, 10, 30).

3.2.7. INMUNOSENESCENCIA E INFLAMACIÓN

El envejecimiento conduce a una disminución progresiva de las respuestas inmunitarias, lo que lleva a un estado de función inmunológica desregulada que se puede indicar como inmunosenescencia, actualmente la opinión predominante involucra al envejecimiento como un factor que impide a las células inmunitarias



articular un programa inmunitario innato y adaptativo eficiente en respuesta a antígenos o estímulos ambientales; por lo cual este desequilibrio entre las respuestas pro y antiinflamatorias en reacción a los patógenos conlleva a una inflamación de bajo grado (inflamación crónica) en los tejidos envejecidos que expresan señales moleculares de inflamación (2, 5, 14–16, 18, 29, 39, 49).

Diversos autores expresan que la desregulación de las funciones de las células inmunes tiene un efecto en la inflamación de los tejidos (5, 14, 15, 26, 39). Lo anterior se desarrolla por la interacción del SASP, tomando en cuenta que este fenotipo regula las respuestas antitumorales, anticancerosas, antimicrobianas y a la fagocitosis; por lo tanto, una alteración de estos mecanismos reguladores conllevan al fracaso de los procesos autoreactivos y autoinmunes, así como a una disminución de la capacidad de eliminar las moléculas y organelos dañados (entendiéndose que es producto de una disminución de la inmunovigilancia), y de

esta manera es como se expresa que la senescencia alimenta progresivamente un estado crónico de inflamación a nivel local y sistémico, dando así lugar a una mayor susceptibilidad al envejecimiento (14, 16, 24).

3.2.8. BIOMARCADORES ASOCIADOS A LA SENESCENCIA

Las células senescentes exhiben características diferentes a las células normales (modificación de la morfología, expresión genética y organización cromática), suelen acumularse en los tejidos con la edad, lo cual permite obtener muestras y posteriormente ser identificadas por métodos *in vitro* utilizando biomarcadores específicos (6). Sin embargo, la magnitud puede variar entre los tejidos y en función del marcador utilizado para detectar la senescencia, por lo que; ningún marcador es exclusivo del fenotipo senescente, igualmente, no todas las células senescentes expresan la totalidad de estos marcadores (7, 9, 12, 24). Es por ello, que



se recomienda utilizar más de un marcador para identificar y autenticar la senescencia dentro de una misma muestra de tejido (21). A continuación, se detallan algunos de los más ampliamente conocidos:

3.2.8.1. β -galactosidasa

Uno de los principales biomarcadores es la enzima β -galactosidasa asociada a la senescencia, esta es detectable con métodos histoquímicos a un pH de 6,0 en muestras de células senescentes *In vitro*. El aumento de esta enzima durante la fase senescente se debe en parte al aumento de la galactasa lisosomal (2, 22, 25, 49).

3.2.8.2. p16 y p21

Las proteínas **p16** y **p21** son marcadores bien establecidos asociados a la senescencia que aumentan su expresión durante la senescencia replicativa y la senescencia inducida por el daño del ADN, ambas proteínas forman parte de vías encargadas de la supresión de tumores, y la

disminución de su expresión es un indicador de senescencia (6, 26). La proteína p21 induce una detención del ciclo celular marcando así el inicio del proceso de senescencia, la literatura indica que debe tomarse como indicador de senescencia sólo si está en combinación con otros marcadores. En cuanto a p16 esta se relaciona con la detención del crecimiento, actúa interrumpiendo la traducción y transcripción de proteínas. En conjunto estas dos proteínas son empleadas como marcadores de células senescentes, ya que su expresión indica un fallo en los inhibidores de cinasa dependientes de la ciclina (1-3, 9, 24, 25, 28, 34, 36, 43, 47, 48).

3.2.8.3. p53

Otro marcador de interés es la activación del **p53**, ya que, es un requisito previo a la senescencia celular y un regulador transcripcional que causa apoptosis o detención del ciclo celular, reprime la



movilización de las poblaciones de células madre progenitoras, lo que resulta en un proceso de envejecimiento acelerado (21, 34, 49). Además, el p53 también reprime las vías de proliferación no reguladas, lo que lleva al SASP y a la senescencia celular. Esto genera un entorno tisular degenerativo y proinflamatorio que resulta en la supresión del proceso de envejecimiento potenciándolo y acelerándolo (8, 10). También induce la transcripción del inhibidor de la quinasa dependiente de la ciclina lo que causa la salida de la proteína Rb (Retinoblastoma) inhibiendo la progresión del ciclo celular, cuando la senescencia se desencadena por un estrés transitorio, la inducción de p53 puede promulgar un estado de reposo y activar el proceso de reparación del ADN, la diferenciación celular, el metabolismo, las respuestas inmunitarias, la senescencia replicativa, y la reducción de la apoptosis mediada por el p53 (1, 9).

4. DISCUSIÓN

4.1. DE LOS RESULTADOS

Tuttle y colaboradores (19) en su metaanálisis respaldan la afirmación de la acumulación de células senescentes en tejidos sometidos al proceso de envejecimiento; sin embargo, acotan que la magnitud de senescencia varía según el tipo de tejido y del biomarcador empleado para medir dicha expresión. En la literatura consultada se hace referencia a altos niveles de estrés oxidativo (9, 11, 23, 24, 34), este mecanismo es activado por diversas respuestas asociadas a patologías celulares, tales como: la reparación de tejidos, la cicatrización de heridas, ya que refuerza la proliferación de células dañadas o premalignas, que, con el tiempo se acumulan en los tejidos y pueden causar disfunciones en los órganos, pero sigue siendo objeto de debate si son factores causales del envejecimiento. Chu y colaboradores (17) observaron una respuesta similar a la senescencia luego de inducir un choque hemorrágico como consecuencia de una herida, lo cual es consecuente con lo reportado por varios autores que interpretan esta respuesta como



un mecanismo fisiológico de defensa en respuesta al daño molecular (6, 9, 10, 21). En cuanto al SASP, se puede evidenciar que también conduce a la depuración mediada por el sistema inmunológico de las células que tienen el potencial de causar cáncer (6, 10, 23, 27). Actuando como un efecto compuesto en la patogénesis del cáncer, dado que a una edad temprana, la senescencia podría proteger a las células de la transformación en tumores primarios; sin embargo, a una edad avanzada, las células senescentes generan un microambiente protumoral y proinflamatorio que induce un aumento de los niveles basales de la IL-6 y la IL-1 séricas, así como de las metaloproteinasas de matriz (3, 5, 9, 10, 18, 37), a este fenómeno se le llama antagonismo pleiotrópico; es decir, a edades tempranas tiene un efecto benéfico; sin embargo, a edades avanzadas, la acumulación de células senescentes contribuye al deterioro del tejido asociado al envejecimiento.

La longitud telomeral y la relación con la enzima telomerasa fue estudiada por

Lulkiewicz y colaboradores (10), en su investigación los autores concluyen que aún se requiere de mayor información para poder emplearlo como un marcador específico. Se entiende además que la senescencia puede ser modulada por factores exógenos, siendo afectada por mecanismos epigenéticos, Rentscher y colaboradores (16), determinaron la relación de mayor expresión del marcador de senescencia p16INK4a y el estrés psicosocial, posteriormente identificaron la cercanía de la relación como un factor protector que puede amortiguar el impacto del estrés celular y los mecanismos que conllevan a la senescencia. Así mismo, Lee y colaboradores (18) presentan evidencia de que el microbioma influye también en aspectos fisiológicos ligados a la senescencia.

4.2. FORTALEZAS Y LIMITACIONES

El avance del conocimiento en esta área ha permitido tener una idea clara en la actualidad acerca de cómo se establecen y



relacionan los factores desencadenantes del inicio de la senescencia celular, el cual, corresponde a un daño molecular acumulativo que si bien su estudio requiere la consideración de múltiples variables como la edad en que se inicia el cambio celular, el lugar del daño, tipo de células afectadas, la especie estudiada y los mecanismos del daño, se ha logrado obtener una idea clara de este proceso. Sin embargo, el vacío actual del conocimiento está centrado en los mecanismos celulares que intervienen en procesos dirigidos a bloquear o reiniciar la proliferación celular (se ha reportado que estos procesos pueden inducirse artificialmente y pueden ser reversibles), (13); estos son identificados como una segunda fase en la relación con el envejecimiento y la senescencia celular, no obstante, el nexo causal para producir un modelo integrado no ha sido logrado hasta los momentos, debido a la gran cantidad de variables a considerar.

Los biomarcadores de envejecimiento representan un punto importante en este tema, es posible realizar análisis

cualitativos y cuantitativos de células *in vivo* e *in vitro* y es posible guiarse con base a estos para establecer relaciones entre variables, como se expuso anteriormente no existe un biomarcador preciso y estable para las células senescentes, por lo tanto, es necesario la utilización de varios biomarcadores con el fin de obtener resultados confiables, con el fin de promover la intervención celular en edades tempranas.

Claramente un objetivo a futuro en el estudio de este campo es la materialización de terapias anti envejecimiento verdaderamente efectivas, las investigaciones demuestran que se han dado grandes pasos en este tema; sin embargo, siguen observándose debilidades, en tanto no se logren esclarecer completamente los mecanismos de regulación entre la senescencia y el envejecimiento.

4.3 IMPLICACIONES PARA FUTURAS INVESTIGACIONES



La información recopilada en esta investigación describe a la senescencia como un mecanismo biológico asociado a la protección del daño celular; pese a esto, debido a los múltiples factores celulares y bioquímicos involucrados se requiere de más datos para contemplar una asociación directa de causalidad sobre el envejecimiento de los tejidos, por lo tanto se recomienda la realización de más estudios con el fin de lograr establecer y esclarecer cuales son las interacciones específicas que inducen el envejecimiento en los tejidos.

En otro orden de ideas, es de gran interés la información que puede obtenerse a través de estudios correlacionales entre biomarcadores asociados a senescencia y las variables que podrían estar implicadas en este fenómeno, con el fin de inferir un modelo integrado realista que en un futuro pueda servir de guía para generar una respuesta terapéutica.

5. BIBLIOGRAFÍA

1. Gerasymchuk M, Cherkasova V, Kovalchuk O, Kovalchuk I. The role of micrnas in organismal and skin aging. *Int J Mol Sci*. 2020;21(15):1–36.
2. Idda ML, Mcclusky WG, Lodde V, Munk R, Abdelmohsen K, Rossi M, et al. Senescence Human Tissue. 2020;12(5):4052–66.
3. Zampino M, Ferrucci L, Semba RD. Biomarkers in the path from cellular senescence to frailty. *Exp Gerontol* [Internet]. 2020;129:110750. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.exger.2019.110750>
4. Gu Y, Han J, Jiang C, Zhang Y. Biomarkers, oxidative stress and autophagy in skin aging. *Ageing Res Rev* [Internet]. 2020;59(February):101036. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.arr.2020.101036>



5. Mohamad Kamal NS, Safuan S, Shamsuddin S, Foroozandeh P. Aging of the cells: Insight into cellular senescence and detection Methods. Eur J Cell Biol [Internet]. 2020;99(6):151108. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ejcb.2020.151108>
6. Schafer MJ, Zhang X, Kumar A, Atkinson EJ, Zhu Y, Jachim S, et al. The senescence-associated secretome as an indicator of age and medical risk. JCI Insight. 2020;5(12):1–12.
7. Li T, Luo Z, Lin S, Li C, Dai S, Wang H, et al. MiR-185 targets POT1 to induce telomere dysfunction and cellular senescence. Aging (Albany NY). 2020;12(14):14791–807.
8. Esteves KC, Jones CW, Wade M, Callerame K, Smith AK, Theall KP, et al. Adverse childhood experiences: Implications for offspring telomere length and psychopathology. Am J Psychiatry. 2020;177(1):47–57.
9. Alibhai FJ, Lim F, Yeganeh A, DiStefano P V., Binesh-Marvasti T, Belfiore A, et al. Cellular senescence contributes to age-dependent changes in circulating extracellular vesicle cargo and function. Aging Cell. 2020;19(3):1–14.
10. Lulkiewicz M, Bajsert J, Kopczynski P, Barczak W, Rubis B. Telomere length: how the length makes a difference. Mol Biol Rep [Internet]. 2020;47(9):7181–8. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11033-020-05551-y>
11. Kudryashova KS, Burka K, Kulaga AY, Vorobyeva NS, Kennedy BK. Aging Biomarkers: From Functional Tests to Multi-Omics Approaches [Internet]. Vol. 20, Proteomics. 2020. p. 1900408. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/pmhc.201900408>
12. Thoppil H, Riabowol K. Senolytics: A Translational Bridge Between Cellular Senescence and Organismal Aging. Front Cell Dev Biol. 2020;7(January):1–7.
13. Hernández R, Fernández C, Baptista P, Hernandez Sampieri R, Fernandez Collado C, Baptista Lucio M del P.



- Definición del tipo de investigación a realizar: básicamente exploratoria, descriptiva, correlacional o explicativa [Internet]. Metodología de la investigación. 1991. 57–73 p. Available from:
http://www.casadellibro.com/libro-metodologia-de-la-investigacion-5-ed-incluye-cd-rom/9786071502919/1960006%5Cnhttp://sapp.uv.mx/univirtual/especialidade/smedicas/mi2/modulo1/docs/Met_Invest_a.pdf
14. Tricco AC, Lillie E, Zarin W, O'Brien KK, Colquhoun H, Levac D, et al. PRISMA Extension for Scoping Reviews (PRISMA-ScR): Checklist and Explanation. *Ann Intern Med* [Internet]. 2018 Oct 2;169(7):467–73. Available from:
<http://www.elsevier.com/locate/scp>
15. Peters M, C G, P M, Z M, AC T, Khalil H. 2017 Guidance for the Conduct of JBI Scoping Reviews Chapter 11 : Scoping Reviews Scoping Reviews. Underst scoping Rev Defin Purp Process. 2017;(September).
16. Rentscher KE, Carroll JE, Cole SW, Repetti RL, Robles TF. Relationship closeness buffers the effects of perceived stress on transcriptomic indicators of cellular stress and biological aging marker p16INK4a. *Aging* (Albany NY). 2020;12(16):16476–90.
17. Chu X, Wen J, Raju RP. Rapid senescence-like response after acute injury. *Aging Cell*. 2020;19(9):1–5.
18. Lee S, Persson P, Mathews RD. Early signs of gut microbiome aging: biomarkers of inflammation, metabolism, and macromolecular damage in young adulthood. *Rev Financ Stud*. 2015;29(9):2341–86.
19. Tuttle CSL, Waaijer MEC, Slegers P, Valentijn MS, Stijnen T, Westendorp R, Maier AB. Cellular senescence and chronological age in various human tissues: A systematic review and meta-analysis. *Aging Cell*. 2020;19(2):1–11.
20. Von Zglinicki T, Wan T, Miwa S. Senescence in Post-Mitotic Cells: A Driver of Aging? *Antioxidants Redox Signal*. 2021;34(4):308–23.
21. Amaya-Montoya M, Pérez-Londoño A,



- Guatibonza-García V, Vargas-Villanueva A, Mendivil CO. Cellular Senescence as a Therapeutic Target for Age-Related Diseases: A Review. *Adv Ther.* 2020;37(4):1407–24.
22. Dhalla PS, Kaul A, Garcia J, Bapatla A, Khalid R, Armenta-Quiroga AS, et al. Comparing the Role of the p53 Gene and Telomerase Enzyme in ‘Accelerated Aging Due to Cancer’: A Literature Review. *Cureus.* 2020;12(10):1–11.
23. Tabibzadeh S. Cell-centric hypotheses of aging. Vol. 26, *Frontiers in Bioscience.* 2021. p. 1–49.
24. Salminen A. Activation of immunosuppressive network in the aging process. *Ageing Res Rev* [Internet]. 2020;57:100998. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.arr.2019.100998>
25. Thomas R, Wang W, Su DM. Contributions of Age-Related Thymic Involution to Immunosenescence and Inflammaging. *Immun Ageing.* 2020;17(1):1–17.
26. Bhatia-Dey N, Kanherkar RR, Stair SE, Makarev EO, Csoka AB. Cellular senescence as the causal nexus of aging. *Front Genet.* 2016;7(FEB):1–14.
27. Pańczyszyn A, Boniewska-Bernacka E, Goc A. The role of telomeres and telomerase in the senescence of postmitotic cells. *DNA Repair (Amst).* 2020;95(August):1–7.
28. Mijit M, Caracciolo V, Melillo A, Amicarelli F, Giordano A. Role of p53 in the regulation of cellular senescence. *Biomolecules.* 2020;10(3):1–16.
29. de Magalhães JP, Passos JF. Stress, cell senescence and organismal ageing. *Mech Ageing Dev* [Internet]. 2018;170(July 2017):2–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.mad.2017.07.001>
30. Rajendran P, Alzahrani AM, Hanieh HN, Kumar SA, Ben Ammar R, Rengarajan T, et al. Autophagy and senescence: A new insight in selected human diseases. *J Cell Physiol.* 2019;234(12):21485–92.
31. Barbé-Tuana F, Funchal G, Schmitz



- CRR, Maurmann RM, Bauer ME. The interplay between immunosenescence and age-related diseases. *Semin Immunopathol.* 2020;
32. Shmulevich R, Krizhanovsky V. Cell Senescence, DNA Damage, and Metabolism. Vol. 34, *Antioxidants and Redox Signaling.* 2021. 324–334 p.
33. Da Silva PFL, Schumacher B. DNA damage responses in ageing. *Open Biol.* 2019;9(11).
34. Xu W, Wong G, Hwang YY, Larbi A. The untwining of immunosenescence and aging. *Semin Immunopathol.* 2020;559–72.
35. Beck J, Horikawa I, Harris C. Cellular Senescence: Mechanisms, Morphology, and Mouse Models. *Vet Pathol.* 2020;
36. Kale A, Sharma A, Stolzing A, Stolzing A, Desprez PY, Desprez PY, et al. Role of immune cells in the removal of deleterious senescent cells. *Immun Ageing.* 2020;17(1):1–9.
37. Fulop T. Immunosenescence is both functional / adaptive and dysfunctional / maladaptive. 2020;
38. Rudzińska M, Parodi A, Balakireva A V., Chepikova OE, Venanzi FM, Zamyatnin AA. Cellular aging characteristics and their association with age-related disorders. *Antioxidants.* 2020;9(2):1–18.
39. von Kobbe C. Targeting senescent cells: Approaches, opportunities, challenges. *Aging (Albany NY).* 2019;11(24):12844–61.
40. Stroik S, Hendrickson EA. Telomere replication—When the going gets tough. *DNA Repair (Amst).* 2020;94.
41. Uyar B, Palmer D, Kowald A, Escobar HM, Barrantes I, Möller S, et al. Single-cell analyses of aging, inflammation and senescence. *Ageing Res Rev.* 2020;(January):101156.
42. Saleh T, Bloukh S, Carpenter VJ, Alwohoush E, Bakeer J, Darwish S, et al. Therapy-induced senescence: an “old” friend becomes the enemy. *Cancers (Basel).* 2020;12(4):1–38.
43. Vecoli C, Borghini A, Andreassi MG. The molecular biomarkers of vascular aging and atherosclerosis: telomere length and mitochondrial DNA4977



- common deletion. *Mutat Res - Rev Mutat Res* [Internet]. 2020;784:108309. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2020.108309>
44. Sacco A, Belloni L, Latella L. From Development to Aging: The Path to Cellular Senescence. *Antioxidants Redox Signal*. 2021;34(4):294–307.
45. Di Micco R, Krizhanovsky V, Baker D, d'Adda di Fagagna F. Cellular senescence in ageing: from mechanisms to therapeutic opportunities. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2020;
46. Chatsirisupachai K, Palmer D, Ferreira S, de Magalhães JP. A human tissue-specific transcriptomic analysis reveals a complex relationship between aging, cancer, and cellular senescence. *Aging Cell*. 2019;18(6):1–5.
47. Iglesias J, Comai L. Measurements of Hydrogen Peroxide and Oxidative DNA Damage in a Cell Model of Premature Aging. *Aging Methods Protoc Methods Mol Biol*. 2020;2144:245.
48. Basisty N, Kale A, Jeon OH, Kuehnemann C, Payne T, Rao C, et al. A Proteomic Atlas of Senescence-Associated Secretomes for Aging Biomarker Development. *bioRxiv*. 2019;1–26.
49. Ogrodnik M, Salmonowicz H, Gladyshev VN. Integrating cellular senescence with the concept of damage accumulation in aging: Relevance for clearance of senescent cells. *Aging Cell*. 2019;18(1):1–21.
50. Bonafè M, Sabbatinelli J, Olivieri F. Exploiting the telomere machinery to put the brakes on inflamm-aging. *Ageing Res Rev* [Internet]. 2020;59:101027. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.arr.2020.101027>
51. Razgonova MP, Zakharenko AM, Golokhvast KS, Thanasoula M, Sarandi E, Nikolouzakis K, et al. Telomerase and telomeres in aging theory and chronographic aging theory (Review). *Mol Med Rep*. 2020;22(3):1679–94.
52. Souliotis VL, Vlachogiannis NI, Pappa M, Argyriou A, Ntouros PA, Sfikakis



-
- PP. DNA damage response and oxidative stress in systemic autoimmunity. *Int J Mol Sci.* 2020;21(1):1–24.
53. Prieto LI, Graves SI, Baker DJ. Insights from In Vivo Studies of Cellular Senescence. *Cells.* 2020;9(4):1–13.
54. Song S, Lam EWF, Tchkonja T, Kirkland JL, Sun Y. Senescent Cells: Emerging Targets for Human Aging and Age-Related Diseases. *Trends Biochem Sci [Internet].* 2020;45(7):578–92. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2020.03.008>
55. Attaallah A, Lenzi M, Marchionni S, Bincoletto G, Cocchi V, Croco E, et al. A pro longevity role for cellular senescence. *GeroScience.* 2020;42(3):867–79.



**TELEMEDICINA ORAL: EXPERIENCIA EN MEDICINA ESTOMATOLÓGICA
DURANTE LA PANDEMIA POR COVID-19**

**Flores Mercedes¹, Guzmán Jorge¹, Sánchez Carlos¹, Surmay Valentina¹, Sifontes
Andreina¹, Romero Yulis¹, Avilés Daymar¹, Villarroel-Dorrego Mariana¹.**

1. Maestría de Medicina Estomatológica, Universidad Central de Venezuela.

CORRESPONDENCIA: Maestría de Medicina Estomatológica, Universidad Central de Venezuela. Los Chaguaramos, Caracas 1060.

Email: mariana.villarroel@ucv.ve

RESUMEN

La actual pandemia de la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19), ha causado cambios en los métodos de atención médica de los pacientes. En respuesta al COVID-19, diversos centros médicos y odontológicos han adoptado herramientas y tecnologías digitales como la telemedicina y la atención virtual, que se refieren a la prestación de servicios de atención médica digitales o a distancia mediante el uso de tecnologías de la información y las comunicaciones, para la evaluación, diagnóstico y tratamiento de pacientes. Se espera que la telemedicina brinde atención oportuna al tiempo que minimiza la exposición para proteger a los médicos y pacientes. Teniendo esto en cuenta, los especialistas en medicina oral pueden considerar incorporar la telemedicina en sus prácticas clínicas de rutina para beneficiar a los pacientes que tienen que viajar grandes distancias o que tienen que depender de familiares o transporte para asistir a visitas clínicas en persona. En consecuencia, se realizó una revisión



de la literatura para proporcionar evidencia teórica y práctica sobre la importancia del uso de la telemedicina y la atención virtual para el tratamiento remoto de pacientes; a su vez se describen tres casos de medicina oral llevados vía telemedicina con éxito. El objetivo de este estudio es consolidar soluciones de atención virtual en el tiempo actual, para integrar las tecnologías digitales en la atención del médico bucal a sus pacientes.

PALABRAS CLAVE: Telemedicina, pandemia, COVID-19, medicina oral, pacientes

ORAL TELEMEDICINE: AN EXPERIENCE IN ORAL MEDICINE DURING COVID-19 PANDEMIC

ABSTRACT

The current coronavirus pandemic disease 2019 (COVID-19), has caused changes in patients' healthcare methods. In response to COVID-19, medical and dental centers have adopted digital tools and technologies such as telemedicine and virtual care, refer to the provision of digital or remote health care services through the use of information and communication technologies, for the evaluation, diagnosis and treatment of patients. Telemedicine is expected to provide timely care while minimizing exposure to protect physicians and patients. With this in mind, oral medicine specialists may consider incorporating telemedicine into their routine clinical practices to benefit patients who have to travel long distances or who have to rely on family members or transportation to attend clinical visits in person. Consequently, a literature review was conducted to provide theoretical and practical evidence on the importance of the use of telemedicine and virtual care for the remote treatment of patients; In turn, three cases of oral medicine carried out successfully via



telemedicine are described. The aim of this study is to consolidate virtual care solutions in the current time, to integrate digital technologies in the care of the oral physician to his/her patients.

KEYWORDS: Telemedicine, pandemic, COVID-19, oral medicine, patients.

INTRODUCCIÓN

La telemedicina (TM) significa "curación a distancia" (1), y es definida por La Organización Mundial de la Salud (OMS) como "la prestación de servicios de atención médica por parte de todos los profesionales de la salud que utilizan tecnologías y la comunicación para el intercambio de información válida para el diagnóstico, tratamiento y prevención de lesiones y enfermedades". Por lo tanto, según el medio de comunicación, la TM se puede realizar vía texto (correo electrónico, Facebook Messenger®, WhatsApp®), video (Skype®, Zoom®, Microsoft Teams®, Facetime®, etc.) o audio (teléfono), (2-8).

Las telecomunicaciones han tenido un papel en la atención médica, al menos desde la Guerra Civil, cuando el telégrafo se utilizó para transmitir listas de bajas y pedir suministros. La invención del teléfono y la radio ampliaron las telecomunicaciones médicas. La primera referencia registrada a la TM involucró la telerradiología y la transmisión e interpretación a distancia de imágenes radiográficas (9). A través de la radio, International Radio Medical Center, creada en 1935, asistió a más de 42.000 pacientes en sus primeros 60 años, convirtiéndola en la organización individual más grande del mundo por utilizar la TM brindando atención médica a la gente de mar (10). En 2007, la Asociación Botswana-UPenn colaboró



con el Ministerio de Salud de Botswana para implementar sistemas de TM y colaborar con las especialidades de dermatología, medicina oral y radiología, donde concluyeron que la telemedicina oral (TMO) permitía a los médicos en áreas alejadas de los cirujanos maxilofaciales y especialistas en medicina oral, derivar a pacientes con lesiones orales complicadas para consulta virtual con especialistas (11, 12).

La TMO se promocionó anteriormente como una oportunidad para expandir el acceso a la atención bucal a las poblaciones rurales y desatendidas, pero se ha adoptado con urgencia como un medio más seguro de brindar atención médica durante la pandemia de la enfermedad del nuevo SARS-Cov-2 (COVID-19), (13, 14). Las pautas de "refugio en el lugar" del estado, han restringido el acceso de los pacientes a los servicios dentales (6, 15, 16). En respuesta a esta situación inusual, se cree que a través de la TMO se puede

contribuir a la atención de los pacientes (7, 8, 15, 17- 20).

Modalidades de TMO

La telemedicina oral busca ofrecer la asistencia remota mediante la consulta a distancia de manera ordenada y planificada, la cual puede incluir las siguientes modalidades:

- Video en vivo (sincrónico): interacción bidireccional en vivo entre una persona (paciente o cuidador) y un especialista que utiliza tecnología de telecomunicaciones audiovisuales (3-6, 12).
- Almacenamiento y reenvío (asincrónico): transmisión de información de salud registrada (por ejemplo, radiografías, fotografías, videos, impresiones digitales y fotomicrografías de pacientes) a través de un sistema de comunicaciones electrónico seguro a un médico, que utiliza la información para evaluar o prestar un servicio fuera de una interacción en tiempo real o en vivo (12).



- Monitoreo remoto del paciente: recopilación de datos médicos y de salud personal de un individuo en una ubicación a través de tecnologías de comunicación electrónica, que se transmite a un especialista (a veces a través de un servicio de procesamiento de datos) en una ubicación diferente para su uso en la atención y el apoyo relacionado de cuidado (12).
- Salud móvil: atención médica y práctica y educación de salud pública respaldada por dispositivos de comunicación móvil como teléfonos celulares, tabletas y asistentes digitales personales (12).

Práctica de la TMO

La TMO tiene como finalidad orientar las consultas de medicina oral a través del uso de la tecnología evitando el contacto directo de persona a persona (21,22). Es una herramienta factible, realizable y practicable, siendo rentable tanto para el especialista como para el paciente (23). Es

aceptada por los especialistas como una vía segura y veraz para entregar y compartir información pertinente de salud (24).

Si bien el proceso de entrevista del paciente no se ve afectado en su mayor parte, la preparación del examen clínico implica la necesidad de una fuente de iluminación adecuada y un dispositivo que ayude a la retracción de los tejidos blandos del lado del paciente (Figura 1). Además, los pacientes deben tener acceso a la tecnología requerida (ejm. uso de software de videoconferencia en una computadora, tableta o teléfono inteligente [7], incluida una conexión estable a Internet), así como recibir educación sobre las prácticas adecuadas de control de infecciones, como desinfectar sus manos antes y después de la evaluación, retraer sus labios / mejillas durante la llamada (6, 22, 23, 25, 26).

Brevemente, antes de la teleconsulta, los pacientes reciben instrucciones específicas sobre cómo prepararse (Figura 1). El

personal técnico no médico puede participar en la configuración de una prueba antes de la consulta para ayudar en el enlace de video con el especialista en medicina oral. Cuando se usa Zoom o Google meet, los pacientes se colocan en una sala de espera virtual protegida con contraseña hasta que el médico esté listo para admitirlos en la reunión, lo que evita cualquier riesgo de superposición con la visita de otro paciente y que otros entren

en su sesión. Se les indica que establezcan la visita en un espacio privado donde sea posible un examen de la cavidad bucal (6, 22).

Una vez que se ha obtenido el historial, se le pide al paciente que se desinfeste las manos y retraiga los labios / mejillas con una mano o dispositivo (es decir, un depresor de lengua) mientras se dirige una fuente de luz (preferiblemente LED) para



Figura 1. Guía de recursos necesarios y modo de uso que requiere el paciente para ser evaluado por el Médico Bucal mediante TMO.

examinar los tejidos (Figura 2). En algunos casos, el especialista puede solicitar a los pacientes que envíen fotografías después de la consulta, para que se ingresen en los registros de salud electrónicos junto con las notas de progreso recopiladas durante la teleconsulta (6, 22).

Consentimiento informado en TMO

El consentimiento informado es un requisito médico-legal importante durante el tratamiento de un paciente, no hacerlo es un agravio y un delito. Se debe obtener el consentimiento para cualquier interacción médica, ya sea en persona o a distancia,



Figura 2. Guía para el examen clínico intra y extra bucal durante la consulta vía TMO por parte del paciente y el orden cronológico que debe seguir para enviar las respectivas fotografías y ser anexadas al archivo de la historia clínica.



como la TMO y la consulta virtual. Existe suficiente evidencia de que, en muchas especialidades, la consulta virtual, como la videoconferencia, es clínicamente tan buena como una consulta en persona. Por lo tanto, el consentimiento informado puede tomarse de manera tradicional y

ventajas y desventajas que ofrece la TMO

Debido a la gran utilidad de la telemedicina oral, se tienen que tomar en cuenta las diversas ventajas y desventajas que se pueden suscitar durante su práctica, las cuales encontramos:

Tabla 1. Ventajas y desventajas de las TMO.

VENTAJAS	DESVENTAJAS
Buen sistema de continuidad de la atención (6)	Requiere infraestructura y capacitación técnica (7)
Prioriza las necesidades médicas del paciente (6)	Abarca la escasa o mala resolución de las imágenes y fotografías suministradas por los pacientes (31)
Aliviar la ansiedad del paciente con los retrasos en la programación de su visita al consultorio (6) Útil en pacientes con discapacidades, pacientes en ubicaciones remotas y pacientes reclusos (21)	Aún no está incluida en el plan de estudios médico (6,32)
Reduce la consulta de manera presencial hasta un 45% lo que significa un punto clave en tiempos de pandemia (28)	Existen preocupaciones sobre la privacidad, la confidencialidad, la seguridad de la información y el tratamiento del paciente (6,32)
Permite un ahorro de tiempo al especialista y pacientes (29)	No hay claridad con respecto a temas médico-legales que surgen de la telemedicina (6,32)
Herramienta de gran utilidad y versatilidad para las nuevas consultas digitales (30)	Carece de evaluación táctil (6)
Permite identificar consultas de emergencias, urgencias (22)	

CASOS CLÍNICOS GUIADOS A TRAVÉS DE LA TMO

Aunque en algunos países la cuarentena radical se ha levantado, muchos servicios

documentarse adecuadamente (1, 27).



odontológicos solo atienden emergencias dentales. A pesar de esta situación, los pacientes siguen buscando servicios de urgencia y éstos se están comunicando con profesionales de referencia. Estos últimos meses diferentes pacientes han sido evaluados vía TMO donde su diagnóstico y tratamiento han sido exitosos. A continuación, algunas experiencias:

CASO 1. Paciente femenina de 27 años de edad, natural y procedente de Caracas, quien contacta a través de telefonía WhatsApp el día 21/08/ 2020. Paciente refiere presentar lesión en el labio como consecuencia de haber sufrido accidente en el hogar producto de un desmayo desde hace 2 días, con sintomatología dolorosa. Para el momento de la consulta no ha recibido tratamiento. Paciente diabética tipo I insulino dependiente desde hace 13 años, último control glicémico fue de 165mg/dl, el 15/01/2020. Nos confiere su consentimiento verbal para su evaluación y tratamiento.

El cuadro clínico mostró lesión ulcerativa de aproximadamente 1,5 cm de extensión cubierta por una pseudomembrana amarillenta con zonas hemorrágicas, de forma irregular y bordes definidos, ubicada en lado izquierdo del labio inferior, presentando aumento de volumen y sintomatología dolorosa a la palpación. También se aprecia fractura oblicua del tercio medio e incisal de la estructura dentaria 2.1 (Figura 3.) en ausencia de sintomatología ni cambio de coloración. Se establece como diagnóstico presuntivo: úlcera traumática. Se indica tratamiento tópico analgésico y cicatrizante en la zona, 3 veces al día por 7 días. Se recomienda consulta con médico por el episodio ocurrido.

A los 15 días contacta por la misma vía, observándose buena cicatrización de la zona y mejoría de la lesión (Figura 3). Se remite a medicina interna para evaluación y control, se indica RX periapical en la zona 2.1, se refiere a endodoncista para

pruebas de vitalidad y esteticista para restauración de la estructura dentaria.

CASO 2. Paciente femenina de 72 años de edad, natural de Guárico, procedente de

se había medicado. Indica ser la primera vez que aparecen estas lesiones. La paciente nos otorga su consentimiento verbal para ser evaluada y tratada por esta



Figura. 3. (A) Imagen clínica 2 días después del traumatismo (contacta al Médico Bucal). (B) Estructura del diente fracturado. (C) y (D) Imagen clínica 15 días después del tratamiento.

Maracay, quien acude a través de telefonía WhatsApp el 6/09/2020, manifestando dolor en zona bucal y peribucal durante la ingesta de alimentos. Refería malestar general, cefalea y aumento de temperatura corporal cuantificada en 38°C desde hace 2 días. Para el momento de la consulta no

vía.

Extraoralmente se evidenciaron múltiples lesiones ulcerativas y costrosas, con bordes definidos, parduzcas, de tamaño variable, ubicadas en el borde bermellón del labio inferior del lado derecho e



izquierdo extendiéndose a comisura labial y labio superior izquierdo. A su vez se observa varias vesículas de aproximadamente 1mm de diámetro, translúcidas ubicadas a nivel de la zona peribucal del labio inferior derecho (Figura 4). Intraoralmente se observaron múltiples lesiones ulcerativas rodeadas de un halo eritematoso, de bordes definidos, irregulares, dolorosas a la palpación ubicadas en la zona de paladar duro en el tercio anterior y medio bilateral (Figura 4).

Como diagnóstico de trabajo se plantea gingivostomatitis herpética primaria, indicándose aciclovir en tabletas de 1 gr OD 7 días y aplicación de Aciclovir tópico al 5% en la zona afectada 5 veces al día por 5 días, dieta líquida, alimentos fríos e hidratación. Se refiere a consulta con médico tratante para descartar posible COVID-19.

Se monitorea al paciente 2 días después a través de TMO, cuyo resultado fue negativo para covid-19, clínicamente se

observa mejoría de las lesiones costrosas de labio superior e inferior; sin embargo, persiste la presencia de vesículas. La paciente reaparece 15 días después de haber cumplido el tratamiento observándose resolución de las lesiones extra e intraorales (Figura 4).

CASO 3. Paciente masculino de 24 años de edad, natural de Caracas procedente de Guatire, quien contacta a Médico Bucal por vía WhatsApp el 30/08/2020, por presentar lesión en lengua (Figura 5), después de ingerir comida condimentada desde hace 3 días, manifestando dolor en el borde lateral derecho de la lengua, por lo que aplicaba anti-inflamatorio en la zona. Paciente aparentemente sano, que no refería alergias a ningún medicamento o alimento ni traumatismo en la zona, niega tener hábitos parafuncionales ni enfermedad tabáquica. Otorga su consentimiento verbal para ser evaluado y tratado por esta vía.

Clínicamente se observa lesión ulcerativa, de aproximadamente 0.5 cm de diámetro, eritematosa, redondeada, de bordes definidos, de consistencia blanda según a la palpación del paciente, ubicado en borde lateral de lengua del lado derecho a nivel del tercio medio. Además, se observan las huellas de las indentaciones dentales en zona de premolares y molares. Estableciendo como diagnóstico presuntivo úlcera traumática.

Se indica tratamiento tópico analgésico y cicatrizante, aplicándolo 3 veces al día por una semana en zona lesionada. Se realiza monitoreo al tercer día vía WhatsApp, observándose proceso de cicatrización favorable, con disminución de proceso inflamatorio (Figura 5). Se continúa el monitoreo a los 7 días después del tratamiento observándose zona depresiva en el lugar en donde se encontraba la zona ulcerativa (Figura 5). A los 15 días



Figura 4. (A) (B) Imagen clínica cuando contacta al Médico Bucal. (C) (D) Imagen clínica 15 días después del tratamiento.

después del tratamiento no se evidencia lesión dentro de cavidad bucal (Figura 5). Sin embargo, se siguen apreciando las huellas de las indentaciones dentales por lo que se indica ajuste oclusal de cúspides, confección de férula y monitoreo trimestral (Figura 5).



Figura 5. (A) Imagen clínica cuando contacta al Médico Bucal. (B) Se monitorea al 3er. día después del tratamiento, (C) 15 días después del tratamiento, observándose las huellas de las indentaciones (D).

DISCUSIÓN

El uso de herramientas, tan simples como el correo electrónico y cámaras digitales, en el envío de imágenes de lesiones orales

para que especialistas como el Médico Bucal puedan analizarlas alcanza un acierto diagnóstico combinado de 88% (33). El dictamen a distancia puede ser una alternativa eficaz en el diagnóstico de lesiones bucales y el uso de dos consultores a distancia mejora la precisión

diagnóstica (34), tal como se describe la práctica de la TMO guiada por varios consultores en tiempo real en el que se canalizaron 3 casos con el uso de fotografías y aplicaciones virtuales estableciendo un diagnóstico y tratamiento, llegando a la resolución de las lesiones de manera factible (34).

Bradley *et al* (5), plantea en su estudio de TMO un enfoque alternativo para la gestión de las derivaciones de pacientes en el área de medicina oral y su potencial como herramienta para respaldar el tratamiento local.

Giraudeau *et al* (35), aplicaron TMO de forma experimental en una población de 30 privados de libertad en el sur de



Francia, concluyendo que proporciona beneficios de índole práctico, social y de salud pública, asegurando que su capacidad óptima depende muchísimo del clínico tratante y su experiencia.

Aunque no se utilizaron herramientas imagenológicas para el diagnóstico de los casos presentados, el envío de estos estudios compartidos vía TMO, tales como tomografía computarizada (TC), resonancia magnética (RM) y radiografías convencionales (radiografías panorámicas y periapicales) facilitan el diagnóstico y por consiguiente el tratamiento (31, 36, 37).

Este trabajo demuestra las ventajas de la TMO, entre ellas se destaca la disminución de consultas presenciales reduciendo el riesgo de exposición de contagio en tiempos de pandemia (22, 29, 38-40). Sin embargo, una de las limitantes que se puede presentar es la baja resolución de fotografías suministrada por los pacientes (31) y la evaluación táctil de las lesiones

(6). El desarrollo de la entrevista del paciente no se ve alterado en el uso de consultas virtuales, pero se reconoce que el examen clínico necesita de una preparación minuciosa que se puede ver entorpecida por el paciente (7).

Las úlceras bucales según su etiología pueden ser guiadas con éxito a través de TMO, como se ha documentado en los tres casos antes presentados; sin embargo, la localización en lengua de uno de los casos nos permitió estar alerta, por ser el sitio de elección del Carcinoma de Células Escamosas. Esto demuestra que la TMO es una herramienta ideal, para el cribado y el diagnóstico temprano, de lesiones sospechosas de cáncer oral y desórdenes potencialmente malignos, ella permite el acceso al examen directo y la correlación de factores de riesgo claramente identificables (31,41, 42, 44-46). Existen ejemplos de implementación exitosa de programas de salud móvil en varios escenarios, para la detección del cáncer



oral basados en telefonía móvil guiado por médicos bucales (41-43, 47).

CONCLUSIONES

En la actualidad la TMO ha demostrado ser una herramienta de crecimiento exponencial que se debe adaptar a las nuevas consultas, sin duda evidenció ser un método diagnóstico de manera temprana que presenta una gran utilidad para mantener el seguimiento de aquellos pacientes que se encuentran a distancia con restricciones geográficas.

Es importante la documentación del consentimiento informado para la cita virtual y la facturación, seguidamente de la evaluación del paciente para realizar una canalización / derivación de los mismos a las consultas presenciales.

La TMO nos permite realizar equipo interdisciplinario con varios consultores a distancia mejorando la precisión diagnóstica y la resolución de los casos de manera más factible.

La actual pandemia terminará y debemos asegurarnos que se tomen las medidas para que la TMO siga en uso, ya que se ha demostrado el éxito de esta alternativa en auge no solo para el diagnóstico y canalización de los pacientes sino para el área investigativa de los residentes, docentes y profesionales en el área de la Medicina oral.

ASPECTOS ETICOS

El consentimiento informado ha sido otorgado por los pacientes antes de la TMO.

DECLARACION DE CONFLICTOS DE INTERES

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses con respecto a la publicación de este artículo.

REFERENCIAS

1. Ateriya N, Saraf A, Meshram VP, Setia P. Telemedicine and virtual consultation: The Indian
287



- perspective. *Natl Med J India*. 2018; 31(4): 215-218. doi: 10.4103/0970-258X.258220
- American Dental Association (ADA 1). COVID-19 Coding and Billing Interim Guidance: Virtual Visits. ADA. [Internet]. 2020 [Citado 19 Oct 2020]. Disponible en: https://success.ada.org/~media/CPS/Files/COVID/ADA_COVID_Coding_and_Billing_Guidance.pdf
 - Ena J. Telemedicine for COVID-19. *Rev Clin Esp*. 2020;220(8):501-502. doi:10.1016/j.rce.2020.06.002
 - Estai M, Kanagasingam Y, Tennant M, Bunt S. A systematic review of the research evidence for the benefits of teledentistry. *J Telemed Telecare*. 2018; 24(3):147-156. doi: 10.1177/1357633X16689433
 - Bradley M, Black P, Noble S, Thompson R, Lamey PJ. Application of teledentistry in oral medicine in a community dental service, N. Ireland. *Br Dent J*. 2010; 209(8): 399-404. doi:10.1038/sj.bdj.2010.928
 - Villa A., Sankar V., Shiboski C. Tele(oral)medicine: A new approach during the COVID-19 crisis. *Oral Dis*. 2020; 00: 1–2. doi: 10.1111/odi.13364
 - Calton B, Abedini N, Fratkin M. Telemedicine in the Time of Coronavirus. *J Pain Symptom Manage*. 2020; 60(1): 12-14. doi: 10.1016/j.jpainsymman.2020.03.019
 - Torre AC, Bibiloni N, Sommer J, Plazzotta F, Angles MV, Terrasa SA, Luna D, Mazzuocolo LD. Traducción al español y adaptación transcultural de un cuestionario sobre la usabilidad de la telemedicina [Spanish translation



- and transcultural adaptation of a questionnaire on telemedicine usability]. *Medicina (B Aires)*. 2020; 80(2): 134-137
9. Burke BL Jr, Hall RW; SECTION ON TELEHEALTH CARE. Telemedicine: Pediatric Applications. *Pediatrics*. 2015; 136(1): 293-308. doi: 10.1542/peds.2015-1517
10. Craig J, Patterson V. Introduction to the practice of telemedicine. *J Telemed Telecare*. 2005; 11(1): 3-9. doi: 10.1177/1357633X0501100102
11. Tesfalul M, Littman-Quinn R, Antwi C, Ndlovu S, Motsepe D, Phuthego M, Tau B, Mohutsiwa-Dibe N, Kovarik C. Evaluating the potential impact of a mobile telemedicine system on coordination of specialty care for patients with complicated oral lesions in Botswana. *J Am Med Inform Assoc*. 2016; 23(1): 142-5. doi: 10.1093/jamia/ocv140
12. American Dental Association (ADA 2). D9995 and D9996 – ADA Guide to Understanding and Documenting Teledentistry Events. ADA. [Internet]. 2020 [Citado 19 Oct 2020]; 2: 1-10. Disponible en: https://www.ada.org/~media/ADA/Publications/Files/CDT_D9995-D9996-GuideTo_v1_2017Jul17.pdf?la=en
13. Smith WR, Atala AJ, Terlecki RP, Kelly EE, Matthews CA. Implementation Guide for Rapid Integration of an Outpatient Telemedicine Program During the COVID-19 Pandemic. *J Am Coll Surg*. 2020; 231(2): 216-222.e2. doi: 10.1016/j.jamcollsurg.2020.04.030



14. Barney A, Buckelew S, Mesheriakova V, Raymond-Flesch M. The COVID-19 Pandemic and Rapid Implementation of Adolescent and Young Adult Telemedicine: Challenges and Opportunities for Innovation. *J Adolesc Health*. 2020; 67(2): 164-171. doi: 10.1016/j.jadohealth.2020.05.006
15. Del Rio C, Malani PN. 2019 Novel Coronavirus-Important Information for Clinicians. *JAMA*. 2020; 323(11): 1039-1040. doi: 10.1001/jama.2020.1490.
16. Machado RA, de Souza NL, Oliveira RM, Martelli Júnior H, Bonan PRF. Social media and telemedicine for oral diagnosis and counselling in the COVID-19 era. *Oral Oncol*. 2020; 105: 104685. doi: 10.1016/j.oraloncology.2020.104685
17. Iyengar K, Jain VK, Vaishya R. Pitfalls in telemedicine consultations in the era of COVID 19 and how to avoid them. *Diabetes Metab Syndr*. 2020; 14(5): 797-799. doi: 10.1016/j.dsx.2020.06.007
18. Abdel-Wahab M, Rosenblatt E, Prajogi B, Zubizarretta E, Mikhail M. Opportunities in Telemedicine, Lessons Learned After COVID-19 and the Way Into the Future. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2020; 108(2): 438-443. doi: 10.1016/j.ijrobp.2020.07.006
19. Mann DM, Chen J, Chunara R, Testa PA, Nov O. COVID-19 transforms health care through telemedicine: Evidence from the field. *J Am Med Inform Assoc*. 2020; 27(7): 1132-1135. doi: 10.1093/jamia/ocaa072
20. Pradhan D, Verma P, Sharma L, Khaitan T. Knowledge, awareness, and attitude regarding teledentistry



- among postgraduate dental students of Kanpur city, India: A questionnaire study. *J Educ Health Promot.* 2019; 8: 104. doi: 10.4103/jehp.jehp_363_18
21. Ghai S. Teledentistry during COVID-19 pandemic. *Diabetes Metab Syndr.* 2020; 14(5): 933-935. doi: 10.1016/j.dsx.2020.06.029
22. Chopra SS, Sahoo NK. Protocol for teledentistry during COVID-19 in Armed Forces dental establishments. *Med J Armed Forces India.* 2020; 76(3): 356-359. doi: 10.1016/j.mjafi.2020.05.016
23. Tella AJ, Olanloye OM, Ibiyemi O. Potential of Teledentistry in the Delivery of Oral Health Service in Developing Countries. *Ann Ib Postgrad Med.* 2019 Dec;17(2):115-123
24. Al-Khalifa KS, AlSheikh R. Teledentistry awareness among dental professionals in Saudi Arabia. *PLoS One.* 2020; 15(10): 0240825. doi: 10.1371/journal.pone.0240825
25. Prasad A, Brewster R, Newman JG, Rajasekaran K. Optimizing your telemedicine visit during the COVID-19 pandemic: Practice guidelines for patients with head and neck cancer. *Head Neck.* 2020; 42(6): 1317-1321. doi: 10.1002/hed.26197
26. Moon HS, Wang TT, Rajasekaran K, Brewster R, Shanti RM, Panchal N. Optimizing telemedicine encounters for oral and maxillofacial surgeons during the COVID-19 pandemic. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2020; S2212-4403(20)31164-0. doi: 10.1016/j.oooo.2020.08.015
27. Northridge ME, Littlejohn T, Mohadjeri-Franck N, Gargano S, Troxel AB, Wu Y, Bowe RB, Testa



- PA. Feasibility and acceptability of an oral pathology asynchronous tele-mentoring intervention: A protocol. *J Public Health Res.* 2020; 9(1): 1777. doi: 10.4081/jphr.2020.1777
28. Bavaresco CS, Hauser L, Haddad AE, Harzheim E. Impact of teleconsultations on the conduct of oral health teams in the Telehealth Brazil Networks Programme. *Braz Oral Res.* 2020; 34:011. doi: 10.1590/1807-3107bor-2020
29. Rahman N, Nathwani S, Kandiah T. Teledentistry from a patient perspective during the coronavirus pandemic. *Br Dent J.* 2020: 1–4. doi: 10.1038/s41415-020-1919-6
30. Virdee J, Sharma R, Ponduri S. Spotlight on teledentistry. *Br Dent J.* 2020; 228(11): 815. doi: 10.1038/s41415-020-1750-0
31. Telles-Araujo GT, Caminha RDG, Kallás MS, Santos PSDS. Teledentistry support in COVID-19 oral care. *Clinics (Sao Paulo).* 2020; 75: 2030. doi: 10.6061/clinics/2020/e2030
32. Parmanto B, Saptono A. Telerehabilitation: State-of-the-Art from an Informatics Perspective. *Int J Telerehabil.* 2009; 1(1): 73-84. doi: 10.5195/ijt.2009.6015
33. Cartes-Velasquez R., Bustos-Leal, A. Teleodontología: Conceptos, experiencias y proyecciones. *Odontoestomatología* [online]. 2012, vol.14, n.20 [citado 2020-12-15], pp.17-25. Disponible en: <http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1688-93392012000200003&lng=es&nr_m=iso>. ISSN 1688-9339.
34. Torres-Pereira C, Possebon RS, Simões A, Bortoluzzi MC, Leão JC, Giovanini AF, Piazzetta CM. Email for distance diagnosis of oral diseases: a preliminary study of



- teledentistry. J Telemed Telecare. 2008; 14(8): 435-8. doi: 10.1258/jtt.2008.080510
35. Giraudeau N, Inquimbert C, Delafoy R, Tramini P, Valcarcel J, Meroueh F. Teledentistry, new oral care tool for prisoners. Int J Prison Health. 2017; 13(2): 124-134. doi: 10.1108/IJPH-04-2016-0011
36. Omboni S. Telemedicine During the COVID-19 in Italy: A Missed Opportunity? Telemed J E Health. 2020; 26(8): 973-975. doi: 10.1089/tmj.2020.0106
37. Estai M, Kruger E, Tennant M, Bunt S, Kanagasingam Y. Challenges in the uptake of telemedicine in dentistry. Rural Remote Health. 2016; 16(4): 3915
38. Gilligan GM, Piemonte ED, Lazos JP, Panico RL. In reply to the letter to the editor "Tele(oral)medicine: A new approach during the COVID-19 crisis". Oral Dis. 2020; 10.1111/odi.13454. doi: 10.1111/odi.13454
39. Birur NP, Patrick S, Bajaj S, Raghavan S, Suresh A, Sunny SP, Chigurupati R, Wilder-Smith P, Gurushanth K, Gurudath S, Rao P, Kuriakose MA. A Novel Mobile Health Approach to Early Diagnosis of Oral Cancer. J Contemp Dent Pract. 2018; 19(9): 1122-1128
40. Birur NP, Gurushanth K, Patrick S, Sunny SP, Raghavan SA, Gurudath S, Hegde U, Tiwari V, Jain V, Imran M, Rao P, Kuriakose MA. Role of community health worker in a mobile health program for early detection of oral cancer. Indian J Cancer. 2019; 56(2): 107-113. doi: 10.4103/ijc.IJC_232_18
41. Desai R, Birur P, Bajaj S, Shubhasini AR, Bhanushree R, Shubha G, Keerthi G, Tiwari V, Patrick S, Hegde U, Shetty S, Nagabhushan V, Kankanala S,



- Shah S. Smokeless Tobacco-associated Lesions: A Mobile Health Approach. *J Contemp Dent Pract.* 2015; 16(10): 813-8. doi: 10.5005/jp-journals-10024-1762
42. Giudice A, Barone S, Muraca D, Averta F, Diodati F, Antonelli A, Fortunato L. Can Teledentistry Improve the Monitoring of Patients during the Covid-19 Dissemination? A Descriptive Pilot Study. *Int J Environ Res Public Health.* 2020; 17(10): 3399. doi: 10.3390/ijerph17103399
43. Bhatt S, Isaac R, Finkel M, Evans J, Grant L, Paul B, Weller D. Mobile technology and cancer screening: Lessons from rural India. *J Glob Health.* 2018; 8(2): 020421. doi: 10.7189/jogh.08.020421
44. Al-Maweri SA, Halboub E, Warnakulasuriya S. Impact of COVID-19 on the early detection of oral cancer: A special emphasis on high risk populations. *Oral Oncol.* 2020; 106: 104760. doi: 10.1016/j.oraloncology.2020.104760
45. Barca I, Novembre D, Giofrè E, Caruso D, Cordaro R, Kallaverja E, Ferragina F, Cristofaro MG. Telemedicine in Oral and Maxillo-Facial Surgery: An Effective Alternative in Post COVID-19 Pandemic. *Int J Environ Res Public Health.* 2020; 17(20): 7365. doi: 10.3390/ijerph17207365
46. Capocasale G, Perno G, Nocini R, Albanese M, Zotti F. Role of Telemedicine and Smartphone for Distant Patient Management in Dentistry: The New Way of Triage. *J Int Soc Prev Community Dent.* 2020; 10(3): 376-378. doi: 10.4103/jispcd.JISPCD_6_20
47. Jampani ND, Nutalapati R, Dontula BS, Boyapati R. Applications of teledentistry: A literature review and update. *J Int*



Soc Prev Community Dent. 2011;
1(2): 37-44. doi: 10.4103/2231-
0762.97695



**NANOANTICUERPOS:
PEQUEÑAS MOLÉCULAS, GRANDES POSIBILIDADES**

Adriana Pedreáñez¹, Jesús Mosquera², Nelson Muñoz³, Diego Tene⁴.

- 1. Cátedra de Inmunología, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina,
Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela.**
- 2. Instituto de Investigaciones Clínicas “Dr. Américo Negrette”, Facultad de
Medicina, Universidad del Zulia. Maracaibo. Venezuela.**
- 3. Universidad Nacional del Chimborazo. Facultad de Ciencias de la Salud.
Riobamba. Ecuador.**
- 4. Laboratorio Clínico del Hospital General IESS. Riobamba. Ecuador.**

CORRESPONDENCIA: Dra. Adriana Pedreáñez, PhD

Apartado Postal: 23 Maracaibo 4001-A Zulia, Venezuela

Email: apedreanez@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3937-0469>



RESUMEN

Los camélidos (camellos, dromedarios, alpacas, llamas y vicuñas), contienen en su suero anticuerpos heterodiméricos convencionales, como anticuerpos que no poseen cadenas ligeras (L) en su estructura, compuestos únicamente por cadenas pesadas (H), denominados (HcAbs, por sus siglas en inglés: Heavi chain - Antibodies). Los fragmentos variables derivados de estos anticuerpos, también llamados VHH o nanoanticuerpos (en adelante NAcS). Desde su descubrimiento, los NAcS se han utilizado ampliamente en los campos de la investigación, el diagnóstico y la farmacoterapia. A pesar de tener aproximadamente una décima parte del tamaño de un anticuerpo convencional, conservan una especificidad y afinidad similares a los anticuerpos convencionales, son mucho más fáciles de clonar y manipular. Sus propiedades especiales, como tamaño pequeño, alta estabilidad, fuerte afinidad de unión a antígenos, solubilidad en agua y origen natural, los hacen adecuados para el desarrollo de biofármacos y nanoreactivos. El objetivo de esta revisión, es describir las principales características estructurales y bioquímicas de estos anticuerpos, así como proporcionar una actualización de sus aplicaciones en la investigación, la biotecnología, y la medicina. Para ello se realizó una búsqueda exhaustiva de la literatura biomédica. Para la elaboración del análisis se realizó una búsqueda de artículos publicados en las siguientes bases de datos: Medline (PubMed), Google Scholar y ScienceDirect. Se revisaron meta análisis, estudios observacionales, artículos de revisión y guías clínicas. Para evaluar la calidad de la evidencia solo se tuvieron en cuenta los artículos originales.

PALABRAS CLAVE: Anticuerpos, Camélidos, Nanotecnología



NANOANTIBODIES: SMALL MOLECULES, BIG POSSIBILITIES

ABSTRACT

The camelids (camels, dromedaries, alpacas, llamas and vicunas), contain in their serum conventional heterodimeric antibodies, like antibodies that do not possess light chains (L) in their structure, composed only by heavy chains (H), denominated (HcAbs, for their initials in English: Heavi chain - Antibodies). The variable fragments derived from these antibodies, also called HHV or nanoantibodies (NAcs. Since their discovery, NAcs have been widely used in the fields of research, diagnosis and pharmacotherapy. Despite having approximately one tenth of the size of a conventional antibody, they retain similar specificity and affinity to conventional antibodies, and are much easier to clone and manipulate. Their special properties, such as small size, high stability, strong antigen binding affinity, water solubility and natural origin, make them suitable for the development of biopharmaceuticals and nanoreagents. The objective of this review is to describe the main structural and biochemical characteristics of these antibodies, as well as to provide an update of their applications in research, biotechnology, and medicine. For this purpose, an exhaustive search of biomedical literature was carried out. For the elaboration of the analysis, a search of articles published in the following databases was carried out: Medline (PubMed), Google Scholar and ScienceDirect. Meta-analyses, observational studies, review articles and clinical guidelines were reviewed. Only original articles were considered to assess the quality of evidence.

KEY WORD: Antibodies, Camelids, Nanotechnology

En el año 1993, Hamers-Casterman y colaboradores, descubrieron de manera

INTRODUCCIÓN



casual la presencia de anticuerpos de cadena pesada de origen natural en el suero de un dromedario (1). Seguidamente, varias investigaciones lograron establecer que todos los miembros de la familia de los camélidos, es decir, dromedarios, camellos, llamas, vicuñas y alpacas, además de los anticuerpos convencionales, producen de forma natural anticuerpos compuestos únicamente por cadenas pesadas denominados (HcAbs; por sus siglas en inglés Heavy Chain Antibodies), (1,2). Posteriormente se determinó que algunos peces cartilagosos, incluidos el tiburón y las rayas, también producen inmunoglobulinas funcionales de cadena pesada, denominadas IgNAR (3,4).

En los últimos años, estos anticuerpos han recibido un elevado interés de las industrias farmacéuticas y biotecnológicas debido a sus propiedades peculiares, que incluyen tamaño pequeño, estructura robusta, alta afinidad y especificidad, accesibilidad elevada y alta penetración en

los tejidos (5). Por tal motivo el objetivo de esta revisión, es describir las principales características estructurales y bioquímicas de estos anticuerpos, así como proporcionar una actualización de sus aplicaciones en la investigación, la biotecnología, y la medicina.

Características estructurales y bioquímicas de los nanoanticuerpos

La inmunoglobulina G (IgG), uno de los cinco isotipos presentes en los seres humanos, es la inmunoglobulina que se encuentra en mayor concentración en el suero de los mamíferos y el único que atraviesa la barrera placentaria, proporciona la mayor parte de la inmunidad basada en anticuerpos y se presenta en cuatro formas: IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. Siendo la IgG1; la isoforma que se emplea principalmente en terapéutica, proporcionando una clara ventaja en la mejora de las funciones efectoras y ofreciendo una vida media en el suero más prolongada



(aproximadamente 21 días) (6). La estructura básica de la Inmunoglobulina G convencional, consta de dos cadenas polipeptídicas pesadas idénticas (cadenas H) y dos cadenas polipeptídicas ligeras idénticas (cadenas L) (7). Es decir, es una molécula heterotetramérica. La cadena H posee cuatro dominios: uno variable (VH) y tres constantes (CH1, CH2 y CH3); mientras que la cadena L consta de un dominio variable (VL) y un dominio constante (CL), que están emparejados e interactúan de forma no covalente con los dominios VH y CH1, respectivamente. Estas asociaciones dan como resultado la formación de tres regiones independientes: dos porciones Fab (por sus siglas en inglés Fragment antigen binding) y un fragmento cristizable (Fc), conectados a través de un enlazador flexible en la región bisagra. Las regiones Fab son de estructura idéntica, normalmente planas o cóncavas, en las que cada una expresa un sitio de unión al antígeno específico. La región Fc es importante para ejercer otras funciones

biológicas como la activación del complemento y la opsonización. Los dominios emparejados N-terminales VH-VL constituyen el paratopo o fragmento variable (Fv). Dentro del cual, se forman regiones hipervariables (llamadas regiones determinantes de complementariedad [CDRs; por sus siglas en inglés: Complementarity Determining Region]), y hay tres en cada uno de los dominios variables VL y VH que determinan la especificidad, diversidad y afinidad de la inmunoglobulina; el resto de los dominios VH y VL poseen fragmentos denominados regiones marco que soportan o le dan estructura a los bucles moleculares (8), como se observa en la figura 1.

Una notoria excepción a esta estructura convencional de las IgG de los mamíferos se encuentra en los sueros de los camélidos (1). Estos sueros poseen anticuerpos IgG especiales, conocidos como anticuerpos de cadena pesada (HcAbs), llamados así porque no poseen cadena L y carecen del

primer dominio constante (CH1). Es decir, su estructura es homodimérica. En su región N-terminal, la cadena H de la proteína homodimérica contiene un dominio variable, referido como VHH, que sirve para asociarse con su antígeno específico, seguido por dos dominios constantes. El VHH en un HcAb es el equivalente estructural y funcional del fragmento Fab de los anticuerpos convencionales. Por lo tanto, el sitio de unión al antígeno de HcAbs está formado solo por un único dominio que está unido directamente a través de una región bisagra al dominio Fc (9) Figura 1.

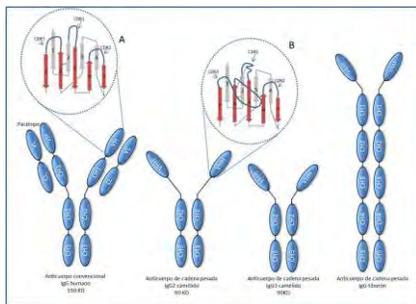


Figura 1. Anticuerpos convencionales y anticuerpos de cadena pesada

De manera similar, los anticuerpos de cadena pesada (IgNAR) descubiertos en el torrente sanguíneo del tiburón también poseen una estructura homodimérica de dos polipéptidos de cadena pesada, cada uno de los cuales comprende un solo dominio variable y cinco dominios constantes (estructura homodimérica). En estos el dominio variable recibe el nombre de VNAR (4), Figura 1.

Estos anticuerpos completamente funcionales exhiben alta especificidad, alta diversidad y capacidades de unión similares a las obtenidas por los anticuerpos convencionales, aunque carecen de la cadena ligera. Por lo tanto, un anticuerpo de cadena pesada tiene aproximadamente sólo la mitad del tamaño (75-90 kDa) de un anticuerpo convencional cuyo peso es aproximadamente (150 kDa). Por consiguiente, su menor tamaño y su arquitectura más compacta podría ser

mejor adaptado para acceder a objetivos ocultos.

La porción variable VHH, derivada de los HcAbs de camélidos o la VNAR de los IgNAR de los peces cartilaginosos, fueron denominadas “nanocuerpos o nanoanticuerpos (NACs)” en el año 2003 (5), debido al pequeño tamaño dimensional de 2,5 nm de diámetro y 4 nm de altura, lo que representa un peso aproximado de (12-15 kDa), con el objeto enfatizar sus tamaños dimensionales más pequeños, en comparación con los tamaños moleculares más grandes de los fragmentos de unión a antígeno (Fabs; ~ 57 kDa) y los fragmentos variables de cadena sencilla (scFvs; ~ 27 kDa). Los HcAbs y los IgNAR se caracterizan por una hipermutación muy alta, aparentemente en respuesta a los antígenos, esto significa una elevada tasa de variabilidad. Por lo tanto, hasta cierto punto de una manera más específica, los nanocuerpos (VHH o VNAR) son las

contrapartes estructurales y funcionales de los Fabs en las IgG convencionales (9,10), Figura 2.

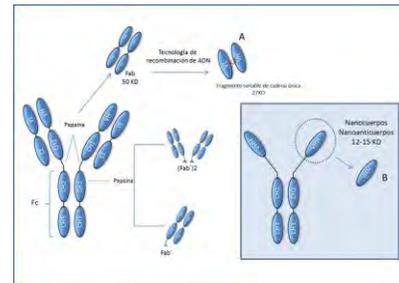


Figura 2. Nanoanticuerpos

Los nanoanticuerpos en general tienen propiedades físicas inesperadas: vida útil prolongada a $>4^{\circ}\text{C}$ y a $<20^{\circ}\text{C}$, tolerancia al aumento de temperatura ($60-80^{\circ}\text{C}$, varias semanas a 37°C), resistencia a la degradación proteolítica, exposición a pH no fisiológico (rango de pH 3.0-9.0), y desnaturalizantes químicos (cloruro de guanidinio 2-3 M, urea 6-8 M), los cuales apenas dañan su capacidad de unión a antígenos (11).



Como se mencionó anteriormente en el suero de los camélidos circulan tanto anticuerpos IgG convencionales como anticuerpos de cadena pesada. La proporción de estos últimos es variable, en camellos podría oscilar entre 50 a 80%, mientras que en las especies sudamericanas podrían estar entre 10 – 25% (13). En relación a los IgNAR de tiburón la proporción es más baja, oscilando en aproximadamente 5% del total de inmunoglobulinas del torrente sanguíneo (3,11).

Aunque también se han identificado anticuerpos de cadena pesada en peces cartilaginosos (tiburones y rayas) (3), la mayoría de las investigaciones se han realizado en camélidos debido a su facilidad de manipulación e inmunización.

Producción de Nanoanticuerpos

El hecho de que los anticuerpos de cadena pesada sean más pequeños que los anticuerpos convencionales, es relevante

debido a que para muchas aplicaciones el tamaño de un anticuerpo completo es incompatible con algunas de las funciones requeridas para ellos, y por esta razón se intenta reducir las moléculas de anticuerpos a la unidad mínima que pueda reconocer al antígeno. Esto puede hacerse mediante digestión proteolítica usando papaína y/o pepsina para obtener fragmentos Fab. Los cuales conservan las propiedades de unión al antígeno, pero requieren un esfuerzo considerable para producirlos de manera adecuada. Los biólogos moleculares pueden reducir aún más estos fragmentos para crear los denominados fragmentos variables de una sola cadena (scFv), en los que las regiones variables de la cadena pesada y la cadena ligera están conectadas por un enlazador peptídico. Figura 2. El problema que a menudo surge con estos fragmentos es que no han pasado por la vía secretora de una célula eucariota y, en consecuencia, tienden a ser propensos a la agregación y pueden requerir una optimización



considerable antes de terminar con un producto estable (12).

Los anticuerpos de cadena pesada producidos por los camélidos no tienen tales desventajas porque pueden reducir el módulo de reconocimiento a sólo la región variable de la cadena pesada, y a diferencia de lo que se aplica a los anticuerpos tradicionales todas las características de la estructura requeridas para el reconocimiento específico del antígeno, se encuentran dentro de las regiones variables de la cadena pesada. Como se mencionó anteriormente, estos fragmentos VHH, también se denominan comúnmente “nanocuerpos o nanoanticuerpos”. Algunas de las propiedades que hacen que estos NAc sean tan atractivos, incluyen el hecho de que se pueden producir en bacterias con alto rendimiento, muchos de ellos no requieren ni glicosilación, ni enlaces disulfuro para su estabilidad y su pequeño tamaño permite aplicaciones para

las que incluso los scFv de una sola cadena tendrían limitaciones (13).

La clonación de un HcAb a partir de un camélido inmunizado es un proceso sencillo que requiere de un esquema de inmunización que comprende de 2 a 6 refuerzos en un periodo de 3 a 6 meses. La mayoría de las aplicaciones del mercado de los NAc dependen de una producción confiable, rentable y de gran volumen; por tanto, la clonación del repertorio de VHH de un camélido inmunizado en un vector de presentación de fagos, así como la selección de clones específicos de antígeno mediante cribado, usualmente son los métodos de elección (14).

Los linfocitos purificados de sangre periférica, ganglio linfático o bazo de un animal inmunizado se obtienen típicamente 4 a 14 días después del refuerzo final, y se utilizan para el aislamiento del ácido ribonucleico mensajero (ARNm) y la síntesis

complementaria del ácido desoxirribonucleico (ADN). Utilizando cebadores adecuados para amplificar de forma única los fragmentos de genes que codifican los VHH, se amplifican específicamente mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (15). Posteriormente, los productos de amplificación por PCR purificados se clonan en un vector fagémido. Luego éstos se transfectan a una cepa de *E. coli*. Después de la infección con un fago auxiliar, se recogen bibliotecas de partículas de fagos recombinantes a partir de sobrenadantes de cultivos bacterianos y se seleccionan los fagos que presentan los NACs de interés mediante cribado en antígeno inmovilizado en una placa. Los fagos unidos se someten a una o más rondas de selección adicionales. De tal manera que, aunque el proceso inicia con animales inmunizados con antígenos diferentes, después de varias etapas, se obtienen NACs de especificidad definida y única que luego se pueden producir en

bacterias con alto rendimiento (15), Figura 3.

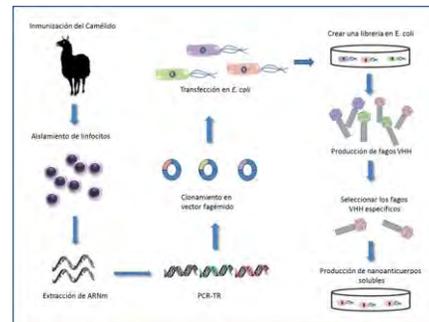


Figura 3. Producción de Nanoanticuerpos solubles

Aplicabilidad de los nanoanticuerpos

Las propiedades físicoquímicas y farmacocinéticas únicas de los NACs, incluyen tamaño a nanoescala, comportamiento estable y soluble en solución acuosa, elevada afinidad específica, así como una fuente sostenible. Lo que los convierten en una herramienta de investigación ideal para el desarrollo de nanobiotecnologías sofisticadas (16,17).



Dichas propiedades coinciden con los requisitos de muchas aplicaciones biomédicas y ofrecen varias ventajas en comparación al uso de anticuerpos convencionales para inmunoterapia y diagnóstico. La rápida y relativamente fácil obtención de los NAcS específicos y de alta afinidad, proporciona un amplio repertorio de moléculas de señalización intracelular, interacciones proteína-proteína y biomarcadores que pueden utilizarse en la terapia contra el cáncer, enfermedades inflamatorias y autoinmunitarias. Además, los NAcS pueden clonarse fácilmente en varios formatos mediante fusión con otras proteínas o péptidos, adaptando así su utilidad para ciertas aplicaciones de diagnóstico y/o terapéuticas. En este sentido, los NAcS se pueden fusionar con proteínas fluorescentes para producir cromocuerpos que se pueden utilizar en la localización de una sola molécula con técnicas de imágenes de superresolución (18).

Por otra parte, dado que pueden diseñarse para inducir cambios en la conformación o para discriminar entre variantes conformacionales, los NAcS pueden resultar una herramienta de investigación beneficiosa para controlar la expresión, translocación y localización subcelular de proteínas (19,20).

Los NAcS pueden personalizarse genéticamente para apuntar a enzimas, proteínas transmembrana o interacciones moleculares. Su capacidad para reconocer sitios antigénicos poco accesibles los hace especialmente interesantes y esta propiedad se ha atribuido a su tamaño más pequeño y a la capacidad del bucle CDR3 extendido para penetrar rápidamente en tales epítopos (21).

Una variedad de formatos derivados de NAcS, incluyen el nanoanticuerpo marcado con radionucleótidos o nanocuerpos marcados con colorante fluorescentes, nanocuerpos de fusión de proteína fluorescente o enzima



cromogénica, nanocuerpos bivalentes, nanocuerpos de autoensamblaje mediado por motivos homo o heteromultímeros, y nanocuerpos enlazados a nanopartículas recubiertas, entre otros, se han demostrado con éxito como potentes kits de herramientas nanobioclonológicas para diversas aplicaciones biomédicas, incluida la administración y terapia de fármacos (22), diagnóstico de enfermedades (23), y bioimagen de altísima resolución (24).

El uso de los anticuerpos con fines terapéuticos no es nuevo. El notable éxito de los anticuerpos neutralizantes convencionales contra el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) en la terapia de la artritis reumatoide y otras enfermedades inflamatorias (25,26) ha impulsado la búsqueda de otras herramientas terapéuticas basadas en anticuerpos. Por lo tanto, se han autorizado muchos reactivos nuevos basados en anticuerpos para el tratamiento de enfermedades autoinmunes y alergias, así como para la terapia

inmunitaria de cánceres (27-32). Por ejemplo, la depleción de células B mediada por un anticuerpo contra CD20 (Rituximab/Rituxan), muestra efectos beneficiosos en la artritis reumatoide, el lupus eritematoso sistémico y otras enfermedades autoinmunes; se ha aprobado un anticuerpo contra IgE para el tratamiento del asma grave (Omalizumab/Xolair) y anticuerpos contra los receptores del factor de crecimiento epidérmico ErbB-1 y ErbB-2 (Cetuximab/Erbitux y Trastuzumab/Herceptin) para el tratamiento de cánceres colorrectales y de mama.

Recientemente se aprobó el uso de un nanoanticuerpo con fines terapéuticos (33). Ablynx, la compañía Sanofi, desarrolló el Nanoanticuerpo® caplacizumab (Cablivi™) un anti-factor von Willebrand (FVW), para el tratamiento de la púrpura trombocitopénica trombótica adquirida



(PTTa). Se trata de un nanoanticuerpo que inhibe la interacción entre las plaquetas y los multímeros de muy alto peso molecular del FVW y, por lo tanto, detiene la formación y acumulación de los microcoágulos que provocan la trombocitopenia, la isquemia tisular y la disfunción orgánica en la PTTa. El tratamiento con caplacizumab se ha asociado con una normalización más rápida del recuento de plaquetas y una menor incidencia de muerte relacionada con la PTTa (34).

Un aspecto prometedor del uso terapéutico de los NAcS, es el hecho de que los mismos pueden superar la barrera hematoencefálica (35). En tal sentido, se descubrió que uno de los NAcS seleccionados de una llama que se inmunizó con células endoteliales vasculares cerebrales, experimentó transcitosis y se liberó en el lado basolateral de las células endoteliales. Los estudios in vivo demostraron que el NAc

se transportó eficazmente a través de la barrera hematoencefálica y que incluso podría utilizarse para transportar cualquier carga al cerebro, incluida la partícula completa del fago M13 (36).

Debido al pequeño tamaño y la alta afinidad de los NAcS contra varios objetivos de interés, por ejemplo, moléculas de señalización intracelular y biomarcadores de cáncer, los NAcS y sus formatos derivados utilizados como nanotrazadores versátiles se han empleado con éxito para la obtención de imágenes biológicas en células vivas, la fusión genética de una proteína fluorescente con un nanocuerpo produce cromocuerpos o fluorocuerpos útiles para rastrear la diana intracelular in vivo en varios compartimentos celulares (37-39).

Los NAcS pueden utilizarse en sistemas de administración de drogas. Pueden estar químicamente adheridos a la superficie de Nanotransportadores (NPS), que



encapsulan fármacos para su entrega activa en el sitio de interés. Este es un aspecto atractivo porque protege el cuerpo contra la toxicidad sistémica. Los fármacos hidrófilos se pueden solubilizar en estructuras, como los liposomas o las micelas y además permite la administración de dosis de drogas más grandes simultáneamente, lo que podría reducir la frecuencia de administración y la inmunogenicidad (40).

Nanoanticuerpos en la terapia contra el cáncer.

Los anticuerpos monoclonales (mAb) y los productos biológicos derivados de anticuerpos son herramientas esenciales para la investigación y la terapia del cáncer (41). Los anticuerpos se pueden usar para inhibir la proliferación de células tumorales y como grupos diana de dominios efectores. Muchos mAb dirigidos contra las proteínas de la superficie de las células tumorales interfieren con la función de sus proteínas

diana, por ejemplo, bloqueando la señalización a través de un receptor de factor de crecimiento o induciendo apoptosis. Al opsonizar la célula tumoral, los anticuerpos también pueden marcar las células tumorales para el ataque del sistema del complemento, las células NK y los macrófagos (42). Sin embargo, ciertas propiedades estructurales inherentes limitan la aplicabilidad de mAbs y productos biológicos derivados de anticuerpos para la terapia de tumores. El gran tamaño de los mAb (cuatro cadenas polipeptídicas, 150 kD) puede dificultar el acceso a las células tumorales. Debido a que los NAc combinan las propiedades beneficiosas de moléculas pequeñas y anticuerpos monoclonales, son agentes atractivos para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas. Su pequeño tamaño los hace útiles para atacar antígenos que residen en tejidos que están débilmente vascularizados y son poco accesibles. Estas moléculas muestran una mejor extravasación y penetración tisular



que los anticuerpos monoclonales clásicos, lo que obviamente es crucial para aplicaciones terapéuticas (43). El crecimiento de tumores sólidos depende de la formación de nuevos vasos sanguíneos (es decir, angiogénesis) y se han generado muchos NAc para interferir con esta vascularización (44,45).

Hasta ahora, los objetivos potenciales para las terapias basadas en NAc son los objetivos extracelulares, como los receptores de ligandos o las proteínas transmembrana con expresión diferencial en las células de interés. Con este fin, se han desarrollado NAc contra los receptores del factor de crecimiento transmembrana tipo 1 y 2 (TGRF1 y TGRF2), Receptor para el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGFR), Receptor de tirosin Kinasa (c-Met) y el receptor de quimiocinas tipo 7 (CXCR7) (46). Estos receptores se han relacionado con diferentes neoplasias. Por ejemplo, se ha encontrado VEGFR expresado en

diferentes cánceres que incluyen cáncer de cerebro, pulmón, mama y colon; c-Met está implicado en cánceres de colon, mama y ovario y neoplasias malignas hematológicas; y la sobreexpresión de CXCR7 se correlaciona con los cánceres de mama y pulmón (47,48). También se han desarrollado NAc contra objetivos extracelulares como el Factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) y las quimiocinas (49).

Uso de nanoanticuerpos en enfermedades virales y perspectivas en la lucha contra el SARS-CoV-2.

Para combatir los virus y prevenir su propagación, los NAc pueden interferir en diferentes niveles del ciclo de multiplicación viral, por ejemplo, al prevenir la unión del virus a las células, la entrada del virus y su posterior replicación (50). Los NAc también pueden utilizarse para ampliar nuestra comprensión de la transmisión de partículas virales. Por



ejemplo, la administración intranasal de NAcS neutralizantes puede proteger contra diferentes tipos de virus de la gripe (por ejemplo, H5N1 o H5N2) al impedir la adhesión del virus a las células del huésped y la subsiguiente replicación viral (51).

En este contexto, el SARS-CoV-2 ingresa a las células huésped a través de una interacción entre la glicoproteína de la espiga y el receptor de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ECA-2). La prevención directa de esta interacción presenta una posibilidad atractiva para suprimir la replicación del virus. En este sentido, Hanke y Colaboradores (52,53) lograron el aislamiento y caracterización de un fragmento VHH de anticuerpo de dominio único derivado de la alpaca, el cual denominaron Ty1, dirigido específicamente contra un dominio globular situado en la superficie distal de la proteína de la espiga de SARS-CoV-2, previniendo directamente su unión a ECA-2. Ty1 es un nanoanticuerpo de 12,8 kDa,

puede expresarse en grandes cantidades en bacterias, lo que representa una gran oportunidad para su fabricación a gran escala y lo convierte en un excelente candidato como intervención contra la COVID-19.

Recientemente se ha informado que los anticuerpos de neutralización amplia, como 47D11, S309 y VHH-72, se dirigen a una región conservada en el dominio de unión al receptor (RBD) de la subunidad S1 de la proteína de la espícula. Debido a su pequeño tamaño y alta estabilidad, los anticuerpos de dominio único podrían tener la capacidad de ser administrados utilizando un inhalador, lo que los convierte en terapias potencialmente atractivas para las infecciones respiratorias (54).

CONCLUSIÓN

Desde el descubrimiento de anticuerpos de cadena pesada de origen natural en sueros de camélidos y el desarrollo de tecnologías



para clonar e identificar sus fragmentos de unión a antígenos, conocidos como NAcS, el número y la gama de posibles aplicaciones con NAcS parecen haberse disparado. Respaldados por propiedades bioquímicas y biofísicas beneficiosas intrínsecas, los NAcS son una entidad de orientación robusta que se ensambla o incorpora fácilmente en construcciones más complejas. Incluso en ausencia de un efecto terapéutico intrínseco, su conjugación con agentes quimioterapéuticos genera compuestos de administración de fármacos muy prometedores. Aunque los nanoanticuerpos monoméricos pequeños suelen ser superiores a los anticuerpos clásicos para aplicaciones terapéuticas, todavía tienen sus propios inconvenientes, como un aclaramiento renal rápido que evita una carga elevada en el tejido enfermo e induce toxicidad renal. Sin embargo, hay herramientas y estrategias disponibles para diseñar los NAcS en construcciones de próxima generación de

mayor eficacia y con menos efectos secundarios.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

REFERENCIAS

1. Hamers-Casterman C, Atarhouch T, Muyldermans S, et al. Naturally occurring antibodies devoid of light chains. *Nature*. 1993;363(6428):446-448. doi:10.1038/363446a0.
2. Muyldermans S. Single domain camel antibodies: current status. *J Biotechnol*. 2001;74(4):277-302. doi:10.1016/s1389-0352(01)00021-6.
3. Zielonka S, Empting M, Grzeschik J, Könnig D, Barelle CJ, Kolmar H. Structural insights and biomedical potential of IgNAR scaffolds from sharks. *MAbs*. 2015;7(1):15-25. doi:10.4161/19420862.2015.989032.
4. Shao CY, Secombes CJ, Porter AJ. Rapid isolation of IgNAR variable single-



domain antibody fragments from a shark synthetic library. *Mol Immunol*. 2007;44(4):656-665.

doi:10.1016/j.molimm.2006.01.010.

5. Jovčevska I, Muyltermans S. The Therapeutic Potential of Nanobodies. *BioDrugs*. 2020 Feb;34(1):11-26. doi: 10.1007/s40259-019-00392-z.

6. Elbakri A, Nelson PN, Abu Odeh RO. The state of antibody therapy. *Hum Immunol*. 2010;71(12):1243-1250. doi:10.1016/j.humimm.2010.09.007.

7. Conroy PJ, Law RH, Caradoc-Davies TT, Whisstock JC. Antibodies: From novel repertoires to defining and refining the structure of biologically important targets. *Methods*. 2017;116:12-22. doi:10.1016/j.ymeth.2017.01.003.

8. Chiu ML, Gilliland GL. Engineering antibody therapeutics. *Curr Opin Struct Biol*. 2016 Jun;38:163-73. doi: 10.1016/j.sbi.2016.07.012. Epub 2016 Aug 12. PMID: 27525816.

9. Khodabakhsh F, Behdani M, Rami A, Kazemi-Lomedasht F. Single-Domain

Antibodies or Nanobodies: A Class of Next-Generation Antibodies. *Int Rev Immunol*. 2018;37(6):316-322. doi: 10.1080/08830185.2018.1526932. Epub 2019 Feb 11. PMID: 30741045.

10. Liu Y, Huang H. Expression of single-domain antibody in different systems. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2018 Jan;102(2):539-551. doi: 10.1007/s00253-017-8644-3. Epub 2017 Nov 25. PMID: 29177623.

11. Henry KA, MacKenzie CR. Antigen recognition by single-domain antibodies: structural latitudes and constraints. *MAbs*. 2018 Aug/Sep;10(6):815-826. doi: 10.1080/19420862.2018.1489633. Epub 2018 Aug 15. PMID: 29916758; PMCID: PMC6260137.

12. Ingram JR, Schmidt FI, Ploegh HL. Exploiting Nanobodies' Singular Traits. *Annu Rev Immunol*. 2018;36:695-715. doi:10.1146/annurev-immunol-042617-053327.

12. Harmsen MM, De Haard HJ Properties, production, and applications of



camelid single-domain antibody fragments. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2007, 77(1):13–22. doi:10.1007/s00253-007-1142-2.

14. Reader RH, Workman RG, Maddison BC, Gough KC. Advances in the Production and Batch Reformatting of Phage Antibody Libraries. *Mol Biotechnol.* 2019 Nov;61(11):801-815. doi: 10.1007/s12033-019-00207-0. PMID: 31468301; PMCID: PMC6785589.

15. Schoonooghe S, Laoui D, Van Ginderachter JA, et al. Novel applications of nanobodies for in vivo bio-imaging of inflamed tissues in inflammatory diseases and cancer. *Immunobiology.* 2012;217(12):1266-1272. doi:10.1016/j.imbio.2012.07.009.

16. Muyltermans S, Baral TN, Retamozzo VC, et al. Camelid immunoglobulins and nanobody technology. *Vet Immunol Immunopathol.* 2009;128(1-3):178-183. doi:10.1016/j.vetimm.2008.10.299.

17. Huang L, Muyltermans S, Saerens D. Nanobodies®: proficient tools in

diagnostics. *Expert Rev Mol Diagn.* 2010;10(6):777-785.

doi:10.1586/erm.10.62.

18. Prole DL, Taylor CW. A genetically encoded toolkit of functionalized nanobodies against fluorescent proteins for visualizing and manipulating intracellular signalling. *BMC Biol.* 2019 May 23;17(1):41. doi: 10.1186/s12915-019-0662-4. PMID: 31122229; PMCID: PMC6533734.

19. Farrants H, Tarnawski M, Müller TG, Otsuka S, Hiblot J, Koch B, Kueblbeck M, Kräusslich HG, Ellenberg J, Johnsson K. Chemogenetic Control of Nanobodies. *Nat Methods.* 2020 Mar;17(3):279-282. doi: 10.1038/s41592-020-0746-7. Epub 2020 Feb 17. PMID: 32066961.

20. Kirchhofer A, Helma J, Schmidthals K, et al. Modulation of protein properties in living cells using nanobodies. *Nat Struct Mol Biol.* 2010;17(1):133-138. doi:10.1038/nsmb.1727.

21. Ariotti N, Rae J, Giles N, Martel N, Sierceki E, Gambin Y, Hall TE, Parton



- RG. Ultrastructural localisation of protein interactions using conditionally stable nanobodies. *PLoS Biol.* 2018 Apr 5;16(4):e2005473. doi: 10.1371/journal.pbio.2005473. PMID: 29621251; PMCID: PMC5903671.
22. de Marco A. Biotechnological applications of recombinant single-domain antibody fragments. *Microb Cell Fact.* 2011;10:44. Published 2011 Jun 9. doi:10.1186/1475-2859-10-44.
23. De Meyer T, Muyldermans S, Depicker A. Nanobody-based products as research and diagnostic tools. *Trends Biotechnol.* 2014;32(5):263-270. doi:10.1016/j.tibtech.2014.03.001.
24. Schumacher D, Helma J, Schneider AFL, Leonhardt H, Hackenberger CPR. Nanobodies: Chemical Functionalization Strategies and Intracellular Applications. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2018 Feb 23;57(9):2314-2333. doi: 10.1002/anie.201708459. Epub 2018 Jan 26. PMID: 28913971; PMCID: PMC5838514.
25. Feldmann M. Development of anti-TNF therapy for rheumatoid arthritis. *Nat Rev Immunol.* 2002;2(5):364-371. doi:10.1038/nri802.
26. Bek S, Bojesen AB, Nielsen JV, et al. Systematic review and meta-analysis: pharmacogenetics of anti-TNF treatment response in rheumatoid arthritis. *Pharmacogenomics J.* 2017;17(5):403-411. doi:10.1038/tpj.2017.26.
27. Lonberg N. Fully human antibodies from transgenic mouse and phage display platforms. *Curr Opin Immunol.* 2008;20(4):450-459. doi:10.1016/j.coi.2008.06.004.
28. Katz SC, Burga RA, McCormack E, et al. Phase I Hepatic Immunotherapy for Metastases Study of Intra-Arterial Chimeric Antigen Receptor-Modified T-cell Therapy for CEA+ Liver Metastases. *Clin Cancer Res.* 2015;21(14):3149-3159. doi:10.1158/1078-0432.CCR-14-1421.
29. Zhandossov O, Kaussova G, Koten A. Combined treatment for gastric cancer: Immunological approach. *Turk J*



- Gastroenterol. 2018;29(2):151-156. doi:10.5152/tjg.2018.17398.
30. Granier C, Karaki S, Roussel H, et al. Immunothérapie des cancers : rationnel et avancées récentes [Cancer immunotherapy: Rational and recent breakthroughs]. Rev Med Interne. 2016;37(10):694-700. doi:10.1016/j.revmed.2016.05.023.
31. Odunsi K. Immunotherapy in ovarian cancer. Ann Oncol. 2017;28(suppl_8):viii1-viii7. doi:10.1093/annonc/mdx444.
32. Morrison AH, Byrne KT, Vonderheide RH. Immunotherapy and Prevention of Pancreatic Cancer. Trends Cancer. 2018;4(6):418-428. doi:10.1016/j.trecan.2018.04.001.
33. Duggan S. Caplacizumab: First Global Approval [published correction appears in Drugs. 2018 Dec;78(18):1955]. Drugs. 2018;78(15):1639-1642. doi:10.1007/s40265-018-0989-0.
34. Scully M, Cataland SR, Peyvandi F, et al. Caplacizumab Treatment for Acquired Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. N Engl J Med. 2019;380(4):335-346. doi:10.1056/NEJMoa1806311.
35. Muruganandam A, Tanha J, Narang S, Stanimirovic D. Selection of phage-displayed llama single-domain antibodies that transmigrate across human blood-brain barrier endothelium. FASEB J. 2002;16(2):240-242. doi:10.1096/fj.01-0343fje.
36. Abulrob A, Sprong H, Van Bergen en Henegouwen P, Stanimirovic D. The blood-brain barrier transmigrating single domain antibody: mechanisms of transport and antigenic epitopes in human brain endothelial cells. J Neurochem. 2005;95(4):1201-1214. doi:10.1111/j.1471-4159.2005.03463.x.
37. Debie P, Devoogdt N, Hernot S. Targeted Nanobody-Based Molecular Tracers for Nuclear Imaging and Image-Guided Surgery. Antibodies (Basel). 2019;8(1):12. Published 2019 Jan 11. doi:10.3390/antib8010012.



38. Beghein E, Gettemans J. Nanobody Technology: A Versatile Toolkit for Microscopic Imaging, Protein-Protein Interaction Analysis, and Protein Function Exploration. *Front Immunol.* 2017;8:771. Published 2017 Jul 4. doi:10.3389/fimmu.2017.00771.
39. Traenkle B, Rothbauer U. Under the Microscope: Single-Domain Antibodies for Live-Cell Imaging and Super-Resolution Microscopy. *Front Immunol.* 2017;8:1030. Published 2017 Aug 24. doi:10.3389/fimmu.2017.01030.
40. Muhammad F, Nguyen TDT, Raza A, Akhtar B, Aryal S. A review on nanoparticle-based technologies for biotransformation. *Drug Chem Toxicol.* 2017;40(4):489-497. doi:10.1080/01480545.2016.1277736.
41. Strohl WR. Current progress in innovative engineered antibodies. *Protein Cell.* 2018;9(1):86-120. doi:10.1007/s13238-017-0457-8.
42. Arezumand R, Alibakhshi A, Ranjbari J, Ramazani A, Muyldermans S. Nanobodies As Novel Agents for Targeting Angiogenesis in Solid Cancers. *Front Immunol.* 2017;8:1746. Published 2017 Dec 8. doi:10.3389/fimmu.2017.01746.
43. Nikooharf A, Arezumand R, Mansouri K, Khoshi AH, Namdar Ahmadabad H. Development of a Recombinant Monospecific Anti-PLGF Bivalent Nanobody and Evaluation of it in Angiogenesis Modulation. *Mol Biotechnol.* 2020;62(11-12):580-588. doi:10.1007/s12033-020-00275-7.
44. Arezumand R, Mahdian R, Zeinali S, et al. Identification and characterization of a novel nanobody against human placental growth factor to modulate angiogenesis. *Mol Immunol.* 2016;78:183-192. doi:10.1016/j.molimm.2016.09.012.
45. Kazemi-Lomedasht F, Behdani M, Bagheri KP, et al. Inhibition of angiogenesis in human endothelial cell using VEGF specific nanobody. *Mol Immunol.* 2015;65(1):58-67. doi:10.1016/j.molimm.2015.01.010.



46. Kijanka M, Dorresteyn B, Oliveira S, van Bergen and Henegouwen PM. Nanobody-based cancer therapy of solid tumors. *Nanomedicine (Lond)*. 2015; 10 (1): 161–174. doi: 10.2217 / nmm.14.178.
47. Moradi A, Pourseif MM, Jafari B, Parvizpour S, Omidi Y. Nanobody-based therapeutics against colorectal cancer: Precision therapies based on the personal mutanome profile and tumor neoantigens. *Pharmacol Res*. 2020;156:104790. doi:10.1016/j.phrs.2020.104790.
48. Hu Y, Liu C, Muyldermans S. Nanobody-Based Delivery Systems for Diagnosis and Targeted Tumor Therapy. *Front Immunol*. 2017;8:1442. Published 2017 Nov 2. doi:10.3389/fimmu.2017.01442.
49. Vosjan MJ, Vercammen J, Kolkman JA, Stigter-van Walsum M, Revets H, van Dongen GA. Nanobodies targeting the hepatocyte growth factor: potential new drugs for molecular cancer therapy. *Mol Cancer Ther*. 2012;11(4):1017–1025. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-11-0891.
50. Schotte L, Strauss M, Thys B, et al. Mechanism of action and capsid-stabilizing properties of VHHs with an in vitro antipoliioviral activity. *J Virol*. 2014;88(8):4403-4413. doi:10.1128/JVI.03402-13.
51. Cardoso FM, Ibañez LI, Van den Hoecke S, et al. Single-domain antibodies targeting neuraminidase protect against an H5N1 influenza virus challenge. *J Virol*. 2014;88(15):8278-8296. doi:10.1128/JVI.03178-13.
52. Hanke L, Vidakovics Perez L, Sheward DJ, et al. An alpaca nanobody neutralizes SARS-CoV-2 by blocking receptor interaction. *Nat Commun*. 2020;11(1):4420. Published 2020 Sep 4. doi:10.1038/s41467-020-18174-5.
53. Ezzikouri S, Nourlil J, Tsukiyama-Kohara K, et al. Nanobodies: an unexplored opportunity to combat COVID-19 [published online ahead of print, 2020 Nov 10]. *J Biomol Struct Dyn*. 2020;1-3. doi:10.1080/07391102.2020.1845801



54. Ho M. Perspectives on the development of neutralizing antibodies against SARS-CoV-2. *Antib Ther.* 2020;3(2):109-114.

doi:10.1093/abt/tbaa009



**MANEJO ESTOMATOLÓGICO DE PACIENTE CON SÍNDROME DE
MOEBIUS CON CARIES TEMPRANA DE LA INFANCIA: REPORTE DE UN
CASO**

**Irais Duarte-González,¹ Norma Leticia Robles-Bermeo,¹ María Guadalupe
Pedraza-Contreras,¹ Claudia Centeno-Pedraza,¹ Edith Lara-Carrillo,¹ Luis Javier
Guadarrama-Quiroz,¹ Carlo Eduardo Medina-Solís.^{1,2}**

- 1. Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Odontología “Dr.
Keisaburo Miyata” de la Facultad de Odontología de la Universidad
Autónoma del Estado de México. Toluca, México.**
- 2. Área Académica de Odontología del Instituto de Ciencias de la Salud de la
Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca, México.**

CORRESPONDENCIA: Avenida del Álamo # 204, Fraccionamiento Paseo de los
Solares. Colonia Santiago Tlapacoya. CP. 42110. Pachuca de Soto, Hidalgo, México.
Tel: 01 (771) 148 3338.

Email: cemedinas@yahoo.com



RESUMEN

El Síndrome de Moebius es un trastorno congénito no progresivo caracterizado por la afectación uni o bilateral del VII par craneal (nervio facial) con deterioro del VI (nervio oculomotor), produciendo parálisis facial. Resultado de la deficiencia motora, estos pacientes no tienen una adecuada masticación y deglución, por lo que generalmente su alimentación es de textura blanda y con alto contenido de azúcares fermentables, que propician la aparición de caries. Además, presentan diversas alteraciones odontológicas de importancia. Se presenta el manejo estomatológico de un paciente masculino que acude a la clínica de la Especialidad en Odontopediatría de la Universidad Autónoma del Estado de México con diagnóstico de Síndrome de Moebius que presenta caries temprana de la infancia y alteración en el crecimiento facial. Al examen bucal presentó atrofia lingual, dentición temporal, mordida cruzada anterior y posterior bilateral, altura ósea disminuida en el reborde alveolar correspondiente a los órganos dentarios 61 y 62, presencia de placa dentobacteriana, caries temprana de la infancia severa comprometiendo todos los órganos dentarios y presencia de una corona preformada de níquel-cromo en el órgano dentario 72. Además, en la radiografía panorámica se observaron diversos restos radiculares. Se enfatizó el tratamiento en tres fases: rehabilitación bucal, protésica y ortopédica. En conclusión, el tratamiento de la caries temprana de la infancia debe realizarse con el objetivo de mejorar las condiciones bucales de los órganos dentarios permanentes, devolviendo en lo posible la función y compromiso estético. Además, en este tipo de pacientes se debe realizar manejo ortopédico para prevenir alteraciones en el crecimiento facial.



PALABRAS CLAVE: Síndrome de Moebius, caries de la infancia temprana, odontopediatría, atrofia.

**STOMATOLOGICAL MANAGEMENT OF A PATIENT WITH MOEBIUS
SYNDROME WITH EARLY CHILDHOOD CARIES: A CASE REPORT**

ABSTRACT

Moebius syndrome is a non-progressive congenital disorder characterized by the unilateral or bilateral involvement of the V II cranial nerve (facial nerve) with impairment of VI cranial nerve (oculomotor nerve), producing facial paralysis. As a result of motor deficiency, these patients do not have adequate chewing and swallowing, so their diet is generally soft texture and with a high content of fermentable sugars, which cause the appearance of dental caries. Also, these patients present diverse stomatologic alterations. Here we describe the stomatological management of a male patient attending the clinic of the Pediatric Dentistry Specialty of the Autonomous University of the State of Mexico with a diagnosis of Moebius syndrome that presents early childhood caries and alteration in facial growth. The oral examination showed lingual atrophy, primary dentition, bilateral anterior and posterior crossbite, decreased bone height in the alveolar ridge corresponding to the dental organs 61 and 62, the presence of dentobacterial plaque, early childhood caries severe compromising all of the teeth, and the presence of a preformed nickel-chromium crown in the dental organ 72.



Also, in the panoramic radiography, various radicular remains were observed. The treatment was planned in three phases: oral, prosthetic and orthopedic rehabilitation. In conclusion, the treatment of early childhood caries should be carried out with the aim of improving the oral conditions of the permanent teeth, returning the function and aesthetic commitment as much as possible. Also, in this type of patient, orthopedic management must be performed to prevent alterations in facial growth.

KEYWORDS: Moebius syndrome, childhood caries, pediatric dentistry, atrophy.

INTRODUCCIÓN

El Síndrome de Moebius (SM) es un desorden congénito no progresivo caracterizado por la afectación unilateral de los pares craneales (nervio facial) con deterioro del V I (nervio oculomotor), produciendo parálisis facial y limitación a la abducción.(1,2) Las alteraciones en los nervios III, V, VIII, X y XII, malformaciones en extremidades, estrabismo, disfonía, disfagia, anomalías mentales como el autismo y alteraciones motoras gruesas

a menudo están presentes.(3,4) Su causa aún es desconocida y la mayoría son casos esporádicos, sin embargo se consideran dos posibles explicaciones: una causa genética, que implica un trastorno en el desarrollo del tallo cerebral, y una causa isquémica, posiblemente originada por factores tóxicos embrionarios o ambientales que interrumpen el aporte sanguíneo al tallo cerebral durante la embriogénesis temprana.(5) El factor hereditario no es una fuerte predilección, mientras el uso



de medicamentos como el misoprostol, talidomida y cocaína durante el embarazo se relaciona con mayor incidencia.(6)

Entre las características odontológicas más frecuentes se incluyen hipodoncia, oligodoncia (en dentición temporal o permanente), microstomía, micrognatia, hipoplasia de labio superior, atrofía lingual, labio y/o paladar hendido, úvula bífida, hipoplasia de esmalte, mordida abierta, gingivitis y maloclusión dental.(7) Resultado de la alteración motora, estos pacientes no tienen una adecuada masticación y de glución, por lo que generalmente su alimentación es de textura blanda y con alto contenido de azúcares fermentables, que propician la aparición de caries (8).

El objetivo de este trabajo es reportar el manejo odontológico de un paciente con diagnóstico de síndrome de Moebius

con caries temprana de la infancia y alteración en el crecimiento facial.

REPORTE DE CASO

Paciente del sexo masculino 3 años 7 meses de edad con síndrome de Moebius, que acudió a la clínica para atención dental. Antecedentes personales no patológicos: gesta 2, partos 2, normo-evolutivo hasta el segundo trimestre por diabetes gestacional controlada con dieta, a término mediante eutocia a las 40 semanas de gestación. Antecedentes personales patológicos: al nacimiento presentó cefalohematoma por trauma obstétrico, edema cerebral, hemorragia germinal, hematoma subgaleal parietal izquierdo, hiperbilirrubinemia secundaria, parálisis facial bilateral, laringomalacia y trastorno de mecánica



de de glución. La madre refirió que su hijo era el único miembro de la familia afectado. El niño presentaba las características faciales típicas del síndrome de Moebius.

Al examen clínico es dolicocefalo, frente estrecha, hipoplasia medio facial, prognatismo mandibular, cuello corto y parálisis facial bilateral con disminución evidente de movimientos faciales con imagen de “facies en máscara”, coeficiente intelectual normal y conducta Frankl I.

Al examen bucal presentó atrofia lingual, de ntición temporal, mordida cruzada anterior y posterior bilateral, altura ósea disminuida en el reborde alveolar correspondiente a los órganos dentarios 61 y 62, presencia de placa dentobacteriana, caries temprana de la infancia severa comprometiendo todos los órganos dentarios y presencia de una corona preformada de níquel-cromo en el órgano dentario 72 (Figura 1).

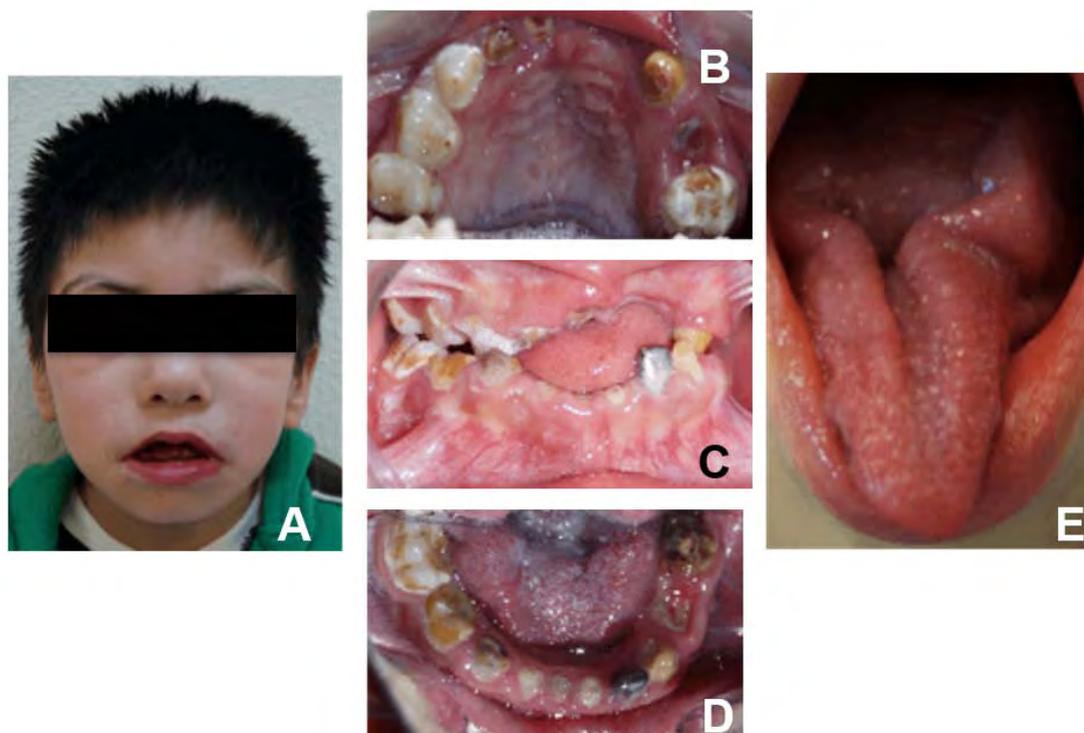


Figura 1. A) Paciente de 3 años 7 meses, en la fotografía frontal se observa “facie en máscara”. B) Fotografía oclusal superior, se observa dentición temporal y caries temprana de la infancia severa. C) Fotografía en máxima intercuspidación que muestra altura ósea disminuída en la región anterior superior e inferior, mordida cruzada anterior y posterior. D) Fotografía oclusal inferior, se observa corona en el órgano dentario 72. E) Atrofia lingual

El manejo estomatológico del paciente con Síndrome de Moebius de Beestart basado en el conocimiento de las manifestaciones bucales y sus posibles consecuencias, para dar un tratamiento integral, por esta razón se interrogó a la madre sobre el manejo médico y curso

de la enfermedad. En la planeación del tratamiento considerando el gran número de extracciones se solicitaron estudios paraclínicos, que proporcionaron valores normales en biometría hemática, química sanguínea, tiempos de coagulación y sangrado. Así

también se le solicitó ortopantomografía y radiografía lateral de cráneo para su análisis cefalométrico.

Una vez que se han establecido los posibles riesgos de acuerdo al plan de tratamiento, no hubo problemas especiales en su manejo estomatológico.

Radiográficamente se observó la presencia de restos radiculares correspondientes a los órganos dentarios 52, 51, 61, 62, 63, 64, 75, 74, 73, 72, 71, 81, 82, 83 y 84 (Figura 2).



Figura 2. Ortopantomografía inicial que muestra la presencia de múltiples restos radiculares.

La rehabilitación bucal comprendió en una primera fase operatoria, la

extracción de los órganos dentarios 52, 51, 61, 62, 63, 64, 75, 74, 72, 71, 81 y



82, pulpotomías en el 55, 53 y 65, coronas preformadas de níquel-cromo en 55, 54, 53, 65, y 85. Se consideró realizar pulpectomías en los restos radiculares de los órganos dentarios 73, 83 y 84 y obturados con ionómero de vidrio, con la finalidad de evitar mayor pérdida ósea. Como consecuencia de la dificultad masticatoria, estética y de deglución, una segunda fase protésica, consistió en la adaptación de bases metálicas en los segundos molares superiores y segundo molar inferior derecho, que sirvieron para la sujeción de las prótesis, seguido de la toma de impresiones superior e inferior con silicón por condensación, evitando así, la deglución accidental del material de impresión. Se corrieron los modelos de trabajo en yeso Vélmix y se realizaron placas base de acrílico autopolimerizable para terminar la

altura de los dientes, mismas a las que les fueron adaptados rodetes de cera y montadas en articulador de bisagra, finalmente corroborados en el paciente en una primera prueba, seguido de una prueba de dientes. Fue colocada primeramente la prótesis parcial superior que sustituyó a los órganos dentarios 51, 52, 61, 62, 63 y 64, evaluando su funcionamiento y estética en citas periódicas realizadas durante un mes con la finalidad de adaptación del paciente a la misma. Posteriormente fue colocada la prótesis parcial inferior que sustituyó a los órganos dentarios 75, 74, 73, 72, 71, 81, 82, 83 y 84. Finalmente la tercera fase de tratamiento fue ortopédica, tras una evaluación clínica y radiográfica, se determinó la presencia de un perfil esquelético clase III, con prognatismo y hinchamiento mandibular, en el que la predisposición familiar jugó un

papel importante en el tratamiento de ésta, fue colocada una mentonera de tipo vertical para evitar que el

crecimiento mandibular continúe hacia abajo y adelante. (Figura 3)

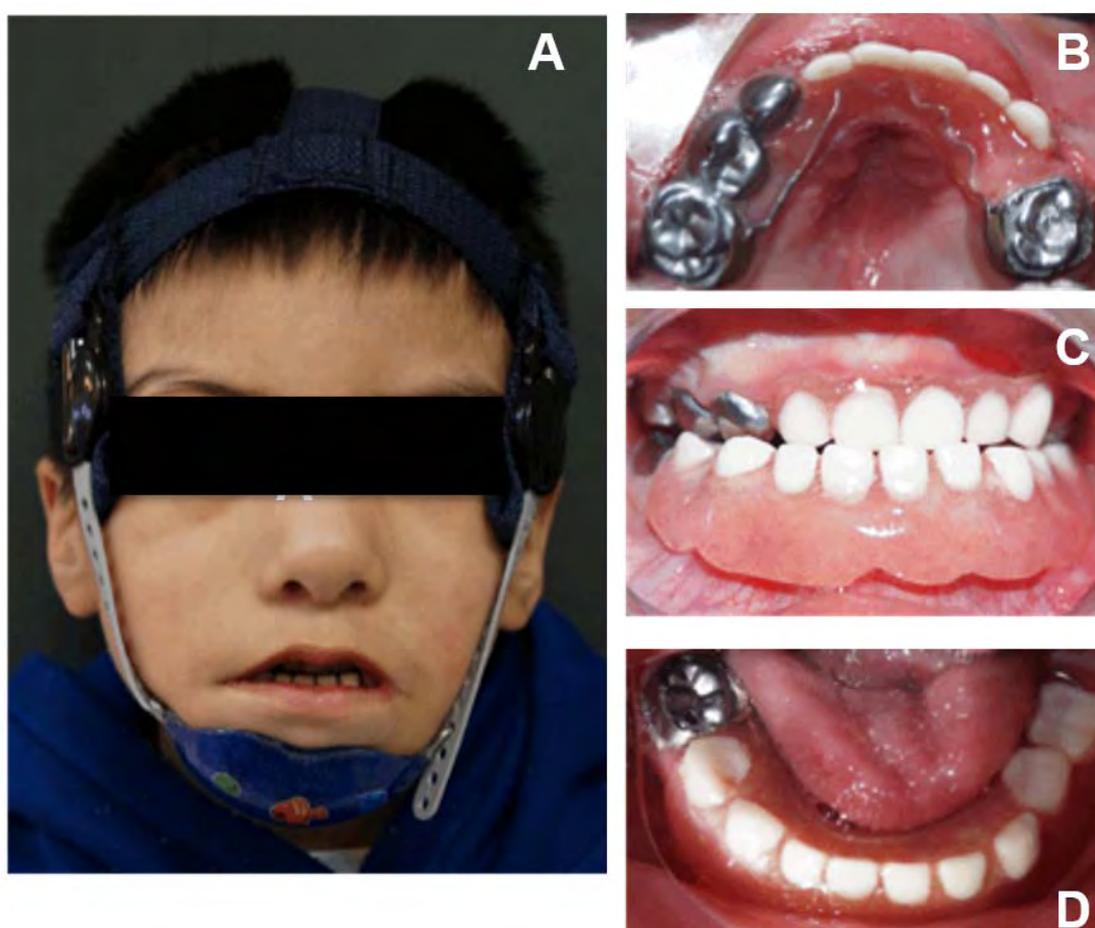


Figura 3. A) Fotografía final del paciente tras el tratamiento ortopédico con mentonera. B) Fotografía oclusal superior con prótesis parcial. C) Fotografía en máxima intercuspidadación. D) Fotografía oclusal inferior con prótesis parcial.

Al inicio del tratamiento odontológico, para su manejo de conducta fue

necesario el uso de restricción física, sin embargo, debido al desarrollo



intelectual normal de l paciente fueron realizadas diversas técnicas para su manejo como: de cir-mostrar-hacer, control de voz y refuerzo positivo, de las cuales los resultados fueron favorables, modificando su conducta progresivamente hasta finalizar el tratamiento en una conducta Frankl III.

La periodicidad de mantenimiento bucodental fue a través del refuerzo de higiene bucal, indicando cepillado dental e irrigación con agua y jeringa desechable a presión después de la ingesta de cada comida, para evitar el acumulo de alimentos de bajo de las prótesis dentales; revisiones mensuales se indicaron para el seguimiento ortopédico. Tras la erupción de l segmento anterior se planea volver nuevamente al paciente para el posible uso de máscara facial.

DISCUSIÓN

Debido a que la amovilidad oral es responsable de la función fonatoria, masticatoria y la deglución; la intensidad de la fuerza, la velocidad y la sincronía de los movimientos de los músculos involucrados son reflejo de la eficiencia funcional; en pacientes con síndrome de Möbius estas características suelen ser deficientes. Sin embargo, aún no está claro en la literatura disponible el nivel de compromiso funcional de los diferentes grupos musculares.

Estudios previos afirman que la mayoría de los pacientes afectados con este síndrome muestran un cierre mandibular eficiente, pero no siempre una fuerza muscular adecuada, alterando la percepción de los movimientos



orofaciales y dificultando el contacto labial (9).

En consecuencia, se pueden plantear problemas odontológicos, como una autoclisis deficiente, dejando los dientes expuestos a caries, ya que la boca permanece la mayor parte del tiempo abierta; llevando por tanto al paciente a una respiración bucal, que lo predispone a debilidad facial, labio superior hipoplásico, microstomía, desviación de la comisura labial, paladar ojival y lengua fisurada y atrófica (10, 11)

El conocimiento de las manifestaciones bucales y habilidades motoras del S.M nos ayuda a conformar un plan de tratamiento odontológico integral según las características y necesidades de manera individual. En el caso presentado el paciente tenía deficiencia funcional masticatoria y fonatoria principalmente, con incompetencia

labial, hipoplasia del labio superior, paladar ojival y profundo, lengua saburral, fisurada y atrófica, con sequedad de mucosas consecuencia de la respiración bucal.

La caries temprana de la infancia es una forma particularmente destructiva que afecta a niños menores de 71 meses de edad, caracterizada por la presencia de una o más superficies cariadas, perdidas u obturadas;(12) la etiología de esta enfermedad es representada principalmente por factores de riesgo microbiológico, prácticas de alimentación inadecuada y deficiencia de higiene bucal.(13) Sin embargo, una consecuencia por no recibir tratamiento a tiempo de esta enfermedad, es la pérdida prematura de órganos dentarios primarios, que condiciona al paciente a la pérdida de espacio y alteración en la erupción adecuada de dientes



permanentes, resultando en problemas prematuros ortodóncicos, a sí mismo también se ha asociado con disminución en la calidad de vida (11), retraso del crecimiento, retraso o deterioro del lenguaje, ausencia o incapacidad de concentración escolar y disminución del autoestima.(14)

El plan de tratamiento en el presente caso se basó en la identificación y evaluación de factores de riesgo del estado general del paciente, y mediante la motivación de actitudes positivas de la familia y la cooperación de la madre durante todas las fases, se lograron cambios favorables hacia la salud y atención bucodental del niño, devolviendo las funciones masticatorias, estéticas y fonéticas en la medida de lo posible.

Los pacientes con SM adquieren habilidades motoras orales por

mecanismos principales: el primero se aprende y es inherente al avance de la edad, mediante la formación de nuevos patrones de movimiento, que se producen como resultado de la práctica, el segundo mecanismo es la adaptación funcional, debido a un proceso de ensayo y error, mediante un ajuste de los movimientos musculares debido a las nuevas demandas (9), por estas razones, se llevó a cabo el tratamiento protésico superior e inferior, sustituyendo los órganos dentarios temporales perdidos por caries.

Durante el tratamiento dental el paciente mejoró notablemente su actitud en cada consulta, interactuando con el personal odontológico, mostrando interés en su tratamiento y disposición para realizarlo; la madre refirió que el niño, tras la colocación de las prótesis dentales incrementó la comunicación



familiar y escolar, así como un aumento en el consumo diario de alimentos, reflejado en un incremento de talla y peso comparado con el registro obtenido en la primera cita.

CONCLUSIONES

Las pacientes con Síndrome de Moebius presentan características odontológicas resultado de la disminución o ausencia de la función muscular facial, por lo que es importante que el odontopediatra reconozca estas variaciones.

El tratamiento de la caries temprana de la infancia debe realizarse con el objetivo de mejorar las condiciones bucales de los órganos dentarios permanentes, devolviendo en lo posible la función y compromiso estético. Además en conjunto con un manejo ortopédico, prevenir alteraciones en el crecimiento facial.

El plan de tratamiento odontológico de estos pacientes debe ser integral, mediante un trabajo multidisciplinario.

En el caso presentado el tratamiento y manejo del paciente fue adecuado, la cooperación de la madre fue fundamental, y esto permitió el éxito del tratamiento.

REFERENCIAS

1. Francolí Escoda J, Sánchez Garcés MA, Gay Escoda C.: (2009) Oral implant rehabilitation in a patient with Moebius syndrome. Oral Surg Oral Med Pathol Oral. 14(6):295–298
2. Verzijl HTFM, Padberg GW, Zwarts MJ.: (2005) The spectrum of Moebius syndrome: an electrophysiological study. Brain. 128:1728–1736
3. Dumars S, Andrews C, Chan WM, Engle EC, Demer JL.: (2008) Magnetic resonance imaging of the endophenotype of a novel familial



- Möbius-like syndrome. J AAP OS. 12(4):381-389
4. Sensat M L.: (2003) Möbius syndrome: a dental hygiene case study and review of the literature. Int J Dent Hygiene. 1(1):62-67
5. Borbolla Pertierra AM, Acevedo González P, Bosch Canto V, Ordaz Favila JC, Echenique Juárez JC.: (2014) Manifestaciones oculares y sistémicas del síndrome de Moebius. An Pediatr. 81:297-302
6. Kulkarni A, Madhavi MR, Nagasudha M, Bhavi S.: (2012) A rare case of Möbius sequence. Indian J Ophthalmol. 60(6):558-560
7. Scarpelli AC, Brener Vertchenko T, Silva Resende VL, Silva Castilho L, Martins Paiva S, Almeida Perdeus L.: (2008) Möbius Syndrome: A case with oral involvement. Cleft Palate Craniofac J. 45(3):319-324
8. Delgado García G, García Menocal R.: (2013) Panorámica de la atención estomatológica a pacientes discapacitados o especiales. Rev Cienc Méd Hab. 19(2):268-277
9. De Oliveira Lira Ortega A, Marques Dias MJ, Botti Rodríguez Santos MT, Castro T, Gallottini M.: (2014) Oral motor assessment in individuals with Moebius syndrome. J Oral Pathol Med. 43:157-161
10. Gaur S, Nayak R.: (2011) Underweight in low socioeconomic status preschool children with severe early childhood caries. J Indian Soc Pedod Prev Dent. 29:305-309
11. Sixto Fuentes S, Ortega López M, Aguilar Puentes MV, Valdés Hernández H, Martínez Quetglas R.: (2011) Síndrome de Moebius. A propósito de un caso. Rev Ciencias Médicas. 15(3):215-225



12. Montero Canseco D, López Morales P, Castrejón Pérez R. C.: (2011) Prevalencia de caries de la infancia temprana y nivel socioeconómico familiar. Rev. Odont. Mex.15(2):96-102

13. Çolak H , Dülgergil Ç T, Dalli M , Mustafa Hamidi M .(2013) Early

childhood caries update: A review of causes, diagnoses, and treatments. J Nat Sc Biol Med. 4:29-38

14. Carrillo Hernández C A, Romero Chávez H F.: (2010) Síndrome de Moebius. Rev Esp Med Quir. 15(4):261-265



**EFICIENCIA DE LAS REHABILITACIONES PARCIALES FIJAS ADHESIVAS
UTILIZANDO BIOGRAFT-G® PARA EL REMODELADO DEL REBORDE ALVEOLAR**

**Yeleinys Fuentes Morejón¹, Ivonne de María Rivero Garcés¹, Mayra de la C Pérez Álvarez^{1,2},
Maydel Perez Fuentes³, José Ángel Delgado García-Menocal², Jorge Alberto Rodríguez
Hernández^{1,4}.**

- 1. Clínica Estomatológica Docente de Bauta, Facultad de Ciencias Médicas de Artemisa. Cuba.**
- 2. Centro de Biomateriales, Universidad de la Habana. Cuba.**
- 3. Instituto de Ciencias Médicas de La Habana. Facultad de Estomatología, Cuba.**
- 4. Centro de Estomatología de la Clínica Central Cira García. La Habana, Cuba.**

CORRESPONDENCIA: Mayra de la C Pérez Álvarez, Departamento de Cirugía Bucal, Clínica Estomatológica Docente de Bauta, Facultad de Ciencias Médicas de Artemisa.

Ave: 251 No. 13201 °/ 132 y 134, Bauta, Artemisa. Código Postal: 32600, Cuba, Teléfono: +53 52371238.

Email: mayraperezcuba61@gmail.com

RESUMEN

Una de las alternativas para el desdentado parcial son las prótesis fijas denominadas adhesivas, que son más accesible para el paciente y requieren menor desgaste dental. El objetivo del estudio fue evaluar la estética y funcionabilidad de rehabilitaciones parciales fijas adhesivas, utilizando Biograft-G® para el remodelado del reborde alveolar. El universo estuvo constituido por pacientes que acudieron a la consulta de prótesis estomatológica, mientras la muestra fue de 30 pacientes necesitados de prótesis parcial fija e incremento del reborde alveolar, que emitieron consentimiento de participación y



cumplían los restantes criterios de inclusión y exclusión. El tratamiento comenzó con cirugía y relleno de Biograft-G[®]. Pasados 6 meses de realizada la cirugía y recuperado el sitio óseo, se confeccionó la prótesis fija adhesiva. Las variables a estudiar fueron estética, altura y grosor del reborde residual y retención, estabilidad y estética de la prótesis. La eficiencia al tratamiento se evaluó promediando los valores de las variables mencionadas. Los resultados obtenidos demuestran que la eficiencia en cuanto a lograr estética, altura y grosor del reborde con el relleno de Biograft-G[®] fue de 94,3 %, mientras que el 5,7 % no logró mantener el grosor, aunque si la altura y estética. En cuanto a la eficiencia de la prótesis se observó que 28 de los 30 pacientes, tuvieron una prótesis de calidad. Se pudo concluir un logró éxito en la mayoría de los pacientes, en cuanto al remodelado alveolar con Biograft-G[®], y a la calidad de la rehabilitación protésica, con el mínimo desgaste de las estructuras dentarias.

PALABRAS CLAVE:

Prótesis dental, prótesis fija, prótesis fija adhesiva, Biograft-G[®], remodelado alveolar, β -fosfato tricálcico.

EFFICIENCY OF ADHESIVE FIXED PARTIAL RESTORATIONS USING BIOGRAFT-G[®] FOR ALVEOLAR RIDGE REMODELING

ABSTRACT

One of the alternatives for partial edentulousness are the fixed prostheses called adhesive, which are more accessible to the patient and require less dental wear. The objective of the study was to evaluate the aesthetics and functionality of adhesive fixed partial restorations, using Biograft-G[®] to reshape the alveolar ridge. The universe consisted of the patients who attended the dental prosthesis consultation, while the sample consisted of 30 patients in need of a fixed partial prosthesis and an increase in the alveolar ridge, who gave their consent to participate and fulfilled the remaining criteria of inclusion and exclusion. Treatment began with surgery and Biograft-G[®] filler. Six months after surgery and the bone bed recovered, the adhesive fixed prosthesis was performed. The variables to be



studied were aesthetics, height and thickness of the residual ridge and retention, stability and aesthetics of the prosthesis. The efficiency of the treatment was evaluated by averaging the values of the mentioned variables. The results obtained show that the efficiency in terms of achieving aesthetics, height and thickness of the flange with the Biograft-G® filling was 94.3%, while 5.7% did not manage to maintain the thickness, although the height and aesthetics. Regarding the effectiveness of the prosthesis, it was observed that 28 of the 30 patients had a quality prosthesis. It was possible to conclude a success in most of the patients, in terms of alveolar remodeling with Biograft-G®, and the quality of the prosthetic rehabilitation, with minimal wear of the dental structures.

KEY WORDS: Dental prosthesis, fixed prosthesis, adhesive fixed prosthesis, Biograft-G®, alveolar remodeling, β -tricalcium phosphate.

INTRODUCCIÓN

Los dientes son órganos vitales para desarrollar una vida normal, cuya función es iniciar una correcta digestión de los alimentos. También desempeñan un papel social importante, ya que son cruciales para la fonación y la expresión armoniosa de la cara. Los dientes se pierden por diferentes causas, de las cuales las más comunes son: la caries dental, enfermedad periodontal y lesiones traumáticas (1).

Posterior a la pérdida de órganos dentarios, se produce una serie de cambios dimensionales que afectan tanto, a los tejidos duros como blandos, quedando en el sitio, el hueso remanente conocido, como reborde alveolar.

Esa disminución del volumen óseo y el colapso gingival, puede incrementarse entre los primeros seis meses y dos años posteriores a la extracción y es conocida como atrofia ósea maxilar y/o mandibular del reborde alveolar (2).

Esta secuela puede conllevar a una limitada disponibilidad ósea para una futura restauración por ello los dientes perdidos deben ser sustituidos, tan pronto como sea posible si se quiere mantener la salud bucal. Para lograr un adecuado volumen de hueso alveolar, previa a la rehabilitación protésica, que se aproxime a sus dimensiones originales, se han diseñado diferentes técnicas de cirugía pre-protésica. En



la actualidad un método muy utilizado es el aumento de hueso, mediante el uso de biomateriales para regeneración ósea y proporcionar el incremento del proceso alveolar, tanto en espesor como en altura a largo plazo (3-6).

El objetivo de todo tratamiento protésico es obtener un estado oral funcional y estético satisfactorio. En un puente fijo, el pónico con frecuencia da la impresión de que descansa en la parte superior de la cresta, en lugar de emerger desde dentro del proceso alveolar, por lo que carece de encía marginal y papilas interdentes. La formación de un defecto entre de la cresta alveolar y la prótesis, no solo origina una rehabilitación estéticamente desagradable y biológicamente nociva, que en la región anterior maxilar parcialmente desdentado, genera un trastorno estético mayor (7).

Este tipo de defecto del reborde puede corregirse mediante un aumento quirúrgico del reborde, que puede lograrse mediante la adición de tejidos blandos o duros, pues las exigencias de la sociedad actual obligan a la realización de

rehabilitaciones protésicas óptimas en pacientes desdentados (8-9).

La prótesis o prostodoncia es la especialidad odontológica encargada de la restauración; es decir, para devolver la función estética, siempre buscando una oclusión y función correcta; para mejorar así su calidad de vida (9-11).

La prótesis dental ha evolucionado a través de la historia favorablemente al hombre, dando solución estética y funcional a la pérdida de dientes, y sin dudas, son uno de los elementos que más contribuyen a la calidad de vida de aquellos que las portan (12,13).

La Prótesis Fija es el arte y ciencia de restaurar los dientes dañados, o de reemplazar los dientes ausentes mediante la instalación de un aparato no removible y una vez instalada, no puede ser retirada por el paciente. Una rehabilitación oral bien planificada brinda al paciente alternativas de tratamiento y la solución a su problema bucal de manera eficaz, tanto funcional como estética, devolviendo la función al sistema masticatorio (14).

Una de las alternativas para el desdentado parcial, son las prótesis fijas denominadas adhesivas ya que son más accesible para el



paciente y no se necesita de desgaste dentales excesivos (16).

Una prótesis parcial fija es un medio de restituir una o más piezas ausentes utilizando para ello una o más piezas remanentes. Incluye uno o más dientes de reemplazo (pónticos) y uno o más dientes pilares con sus retenedores que soportan y mantienen al póntico (17).

Por lo tanto, para la prótesis adherida rigen el mismo concepto sobre adhesión que para el resto de las restauraciones de la práctica odontológica (18,19).

La virtud de la prótesis parcial fija adhesiva es permitir soluciones estéticas sin desgastes significativos, permitiendo la preservación de la estructura dentaria, a través de retenedores que son cementados a los pilares, por medio de sistemas adhesivos para su retención y estabilidad, sin grandes desgastes coronales y preservar siempre que sea posible la integridad de sus dientes (20,21).

Diferentes son los tipos de prótesis fija adhesiva entre ellos se describe el puente Rochette que consta de retenedores “tipo alas” con perforaciones en forma de embudo, para mejorar la retención de la resina. Otro es el

Virginia que utiliza retenedores rugosos, los cuales se obtienen incorporando cristales de sal a los patrones de cera antes de realizar el colado. También el puente Maryland es un sistema estético conservador, que consta de micro retenciones o de grabado electroquímico del metal y es aquel puente que esta constituido por un esqueleto metálico con retenedores de metal sólidos (22,23).

Por otra parte, cuando se pierden los órganos dentarios, ocurre un crecimiento o remodelado de los alveolos u orificios óseos que soportaban el diente, por nuevo hueso. Ese hueso neoformado es remodelado por diferentes factores y se obtiene un reborde residual con una altura y grosor de diversas dimensiones. Este reborde es el área receptora de los futuros aditamentos protésicos, sustitutos de los dientes perdidos. Cuando la remodelación ocurre de forma espontánea se suelen obtener rebordes alveolares atróficos, que ocasionan dificultades para la rehabilitación protésica. Es frecuente localizar defectos óseos de tamaño considerable en los rebordes de pacientes con extracciones dentales, por consiguiente, causan daños



estéticos, sobre todo cuando se localizan en el sector anterior de la cavidad bucal (24).

Los procedimientos quirúrgicos y protésicos necesarios a tal fin, han ido evolucionando en la constante necesidad de lograr rehabilitaciones más eficaces y satisfactorias para los pacientes, pues la formación de un defecto entre de la cresta alveolar y la prótesis origina una rehabilitación estéticamente desagradable y biológicamente nociva. Por tanto, la corrección quirúrgica de ese defecto tiene una importancia primordial antes del reemplazo protésico (1,7,26).

Los fosfatos de calcio se encuentran entre los biomateriales sintéticos más utilizados para la regeneración ósea, en gran parte debido a sus propiedades establecidas (27).

El β -fosfato tricálcico (β -TCP) se ha utilizado en gran medida como sustituto óseo. Es un material biocompatible y bioabsorbible con propiedades similares a la fase inorgánica del hueso. El mismo se reabsorbe gradualmente, y es reemplazado completamente por hueso remodelado (28).

El β -TCP es de suma utilidad para lograr el mantenimiento del reborde alveolar tanto en ancho como en altura, cuando es colocado inmediatamente después de realizada la extracción del elemento dental, para evitar las atroñas alveolares residuales (29).

Un granulado cerámico denso sintético y biodegradable de β -FTC, nombrado Biograft-G[®] fue investigado, desarrollado y registrado en Cuba por el Centro de Biomateriales-BIOMAT, Universidad de La Habana como dispositivo médico. Diferentes reportes de este material han sido publicados con el Biograft-G[®] al que se le adjudican buena respuesta clínica en la rehabilitación de diferentes defectos óseos en la cavidad oral, así como, ausencia de eventos adversos referidos a los tratamientos realizados (30-34). Teniendo en consideración lo antes planteado, se determinó el Objetivo del trabajo que fue: Evaluar la calidad de la estética, retención y estabilidad de rehabilitaciones parciales fijas adhesivas, utilizando Biograft-G[®] posterior al remodelado del reborde alveolar.

METODOLOGÍA



El universo estuvo constituido por pacientes que acudieron a la consulta de prótesis estomatológica, mientras la muestra quedó conformada por 30 pacientes necesitados de recibir prótesis parcial fija e incremento del reborde alveolar, que emitieron consentimiento de participación y cumplían los restantes criterios de inclusión y exclusión. Además, la investigación en cuestión fue aprobada por los Comité de Ética y Consejo Científico de las instituciones involucradas y los pacientes incluidos emitieron su consentimiento de participación por escrito, de acuerdo con la Declaración de Helsinki y respetando los Principios Éticos de las investigaciones clínicas (35,36).

El universo estuvo constituido por todos los pacientes que acudieron a la consulta de prótesis estomatológica en la Clínica Estomatológica Docente de Bauta.

La muestra quedó conformada por 30 pacientes necesitados de recibir prótesis parcial fija adhesiva por presentar ausencia de incisivo lateral superior o inferior, y depresión del reborde alveolar del sitio en cuestión como criterios diagnósticos de inclusión y exclusión.

Se incluyeron pacientes con estado de salud aparente, ambos sexos, edades comprendidas entre 20 y 60 años de edad y fueron excluidos pacientes con enfermedades generales y edades fuera de los parámetros establecidos.

Previamente los pacientes, fueron evaluado por el equipo de cirugía y prótesis para valorar la remodelación del reborde alveolar con biomateriales, en estos casos fue el rehabilitador óseo basado en β -fosfato tricálcico (Biograft-G[®]). El mismo es un biomaterial cerámico implantable, destinado para reparaciones óseas. Investigado, elaborado, producido y comercializado por el Centro de Biomateriales de la Universidad de La Habana (BIOMAT). En la evaluación químico-física se ha demostró alta calidad en evaluaciones preclínicas, pues el material no resulta citotóxico, genotóxico, ni hemolítico. Además, se corroboró un comportamiento rehabilitador del tejido óseo a medida que se degrada de forma progresiva.

El tratamiento quirúrgico y relleno con Biograft-G[®] se realizó posterior a la extracción dentaria de manera convencional como esta descrita en la bibliografía (30-32). Se realizaron



las mediciones en altura y grosor con regla milimetrada para la altura y Pie de Rey para el grosor. Las mismas fueron anotadas en la Historia Clínica del paciente y se repitieron a los 6 meses de realizada la intervención de remodelado, que se continuó con el tratamiento protésico.

Para confección de la prótesis existieron dos fases, una clínica y otra de laboratorio. De inicio se tomaron las impresiones primarias para modelos de estudio, donde se analizó y diseñó el futuro aparato protésico. Seguidamente se realizaron la preparación de los dientes pilares con, 3 preparaciones en las caras palatinas o linguales en forma triangular y una profundidad de 1 mm. Dichas preparaciones dos se ubicaron en el canino por ser un diente con cingulo y tejido dentario más grueso y una preparación en el central, evitando así, movimientos de rotación en el aparato protésico. En todos los casos se utilizó la técnica convencional e instrumental clínico normado.

Seguidamente se tomaron las impresiones definitivas, las cuales pasaron al laboratorio para la confección de la prótesis.

En el laboratorio se continuó con el encerado de la estructura metálica para colado con cera de patrones, espruado y anillado del encerado, se realizó el colado de la estructura metálica que fue rebajada y asentada en el modelo. Concluida la terminación del metal se procedió a revestir el metal conformando la anatomía según características y la cerámica a usar. Siguiendo los conocidos pasos de: aplicación del opacador, la capa de dentina y esmalte y el brillo, así como horneado y bizcochado en cada paso.

Culminados los procederes fue instalada la prótesis fija adhesiva utilizando resinas dentales de foto-polimerización según técnicas convencionales.

Para evaluar las respuestas al tratamiento se realizaron las mediciones del reborde en las variables siguientes: estética, altura y grosor. Mientras en la rehabilitación protésica se tuvieron en cuenta las variables siguientes estética, retención y estabilidad

La evaluación de las variables en cuanto al remodelado óseo se ejecutaron bajo los criterios siguientes:



Estética: se consideró Bien, aquellos rebordes que obtuvieron un aspecto continuo y sin irregularidades en el sitio tratado. Mejorado aquellos rebordes que obtuvieron ligeras irregularidades en el sitio tratado y Mal: aquellos rebordes que obtuvieron considerables irregularidades en el sitio tratado.

Con respecto a la altura se consideró Bien, aquellos pacientes que mantuvieron la altura en ± 1 mm. Mejorado mantuvieron la altura entre ± 1 mm y 2 mm. La evaluación de Mal: correspondió a la diferencia con la altura inicial de ± 2 mm.

Con respecto al grosor se consideró Bien, aquellos pacientes que mantuvieron el grosor en ± 1 mm. de Mejorado mantuvieron el grosor entre ± 1 mm y 2 mm. La evaluación de Mal correspondió a la diferencia con el grosor inicial de ± 2 mm.

La evaluación de la rehabilitación protésica se consideraron las variables: Estética, Retención y Estabilidad de la prótesis. La primera variable Estética se consideró como Bien, cuando sobre el reborde alveolar remodelado, se obtuvo perfectamente el contacto del borde cervical del pónico con la encía marginal. Además, se tuvo

en cuenta para la evaluación una correcta posición del pónico en el arco, coincidiendo con el contorno y color de los restantes dientes y Mal cuando existió espacio entre el pónico y el borde cervical del mismo, problemas de posición y color del pónico. La retención se evaluó de Bien cuando se logró una perfecta ubicación de los extremos metálicos del pónico en las preparaciones de los dientes pilares, ayudada por la resina (material restaurador) interpuesto entre ellos y Mal cuando no se logró lo planteado anteriormente. La estabilidad se evaluó de Bien cuando una vez que se colocó la restauración y siendo retentiva esta quedó segura contra las fuerzas de desplazamiento lateral y Mal cuando no quedó segura contra estas fuerzas.

La evaluación final de la remodelación del reborde se clasificó como Éxito cuando se obtuvo Bien, en todas variables de evaluación (estética, altura y grosor), Mejorado cuando algunas de las variables alcanzaron solo la categoría de mejorado. Evaluación de Mal correspondió cuando alguna variable fue evaluada de mal.



El resultado final de la evaluación protésica se calificó, como Éxito calificó cuando se obtuvo Bien en todas las variables de evaluación y Fracaso cuando al menos una de las variables se obtuviera categoría de Mal.

La eficiencia final del tratamiento se evaluó promediando los valores obtenidos remodelado alveolar, unificados con la rehabilitación protésica, en Éxito y Fracaso. El período de evaluación se realizó a los 6 meses de la extracción y la rehabilitación protésica.

RESULTADOS

Los resultados correspondientes al remodelado óseo en la zona a rehabilitar protésicamente del

diente extraído y relleno con Biograft-G[®] (Tabla 1) se consideró exitoso, pues se alcanzó una conservación de la estética, altura y del grosor, en la calificación de Bien o Mejorado, reflejando el 100% de los pacientes con una mínima atrofia del reborde alveolar, pues solo 3 de los 30 pacientes fue mejorado en grosor, pero mantuvo la estética y la altura. La Evaluación final (promedio de todas las variables), mostró un total Bien de 94,3 % y el 5,7 de mejorados. En cuanto al Éxito de la remodelación ósea la totalidad de los pacientes se incluyeron en esta clasificación y ninguna en la categoría de Fracaso.

Tabla 1. Evaluación del volumen del reborde alveolar remodelado.

Parámetros	Remodelado de reborde alveolar					
	Éxito			Fracaso		
	Bien		Mejorado		Mal	
	No.	%	No.	%	No.	%
Estética	28	93,3	2	6,7	-	-
Altura ósea	30	100	0	0	-	-
Grosor óseo	27	90,0	3	10	-	-
Promedio	28,3	94,3	1,7	5,7	-	-



Podemos apreciar en la tabla 2 el comportamiento de las variables en cuanto a la rehabilitación protésica donde alcanzó valores excelentes de la unión o contacto íntimo del pónico con la encía marginal. Sin embargo, no así en otro elemento como el color del diente artificial, donde se presentaron en tres de los

casos traslucidez del metal. También en las variables protésicas apareció un paciente con afectación de la retención y la estabilidad representando un 3,3 %. La retención y estabilidad tuvieron éxito en un 96,7 % de los casos pues, este sistema que combina la técnica adhesiva y la retención a pin.

Tabla 2. Evaluación final.

Parámetros	Rehabilitación Protésica			
	Tratamiento			
	Éxito		Fracaso	
Variables	N	%	N	%
Estética	27	90	3	10
Retención	29	96,7	1	3,3
Estabilidad	29	96,7	1	3,3
Promedio	28,3	94,3	1,7	5,7

DISCUSIÓN

Los autores consideraron que esta situación puede ser solucionada sometiendo al paciente a un nuevo acto quirúrgico, más sencillo que el primero, para lograr un tejido óseo ideal. Sin embargo, otros autores como Tataje plantean, que el hecho que un reborde un tanto deprimido, no conduce necesariamente a

disturbios estéticos y funcionales, condición que no debe frenar al operador para que reemplace los dientes que faltan, restituyendo las funciones perdidas (37).

También los autores consideran que es de gran importancia manejar al paciente desde el punto de vista multidisciplinario, que incluya cirujano, especialista clínico y técnico de



prótesis y periodoncia para evaluar de forma conjunta diagnósticos, pronóstico y plan de tratamiento. Este planteamiento coincide con Cabello-Chávez (15) cuando manifestó que el manejo de un paciente de modo multidisciplinario, fue la mejor manera de llegar a un diagnóstico y plan de tratamiento adecuado.

Pérez y colb. tiene similares criterios y tratan los pacientes mediante un equipo multidisciplinario, para conformar un reborde lo más fisiológico posible, y lograr una rehabilitación protésica de resultados estéticos y funcionales (30). También Gupta R y colb. plantearon que en ocasiones la formación de un defecto entre de la cresta alveolar y la prótesis, origina una rehabilitación estéticamente desagradable y biológicamente nociva, sobre todo en la región anterior (7).

Estos resultados con respecto a la rehabilitación protésica coinciden con Fischer, cuando planteó que, desde el punto de vista estético, la prótesis debe lograr armonía e integración al sistema masticatorio del paciente libre de alteraciones (38).

También Rosenstiel (14) planteó que en la prótesis fija los profesionales cotidianamente deben trabajar exhaustivamente de forma artesanal, tanto en el aspecto clínico como de laboratorio, para lograr el éxito.

Los autores coincidimos también con Rimmer (39). que la estética, depende mucho de, sentimiento del sujeto y como lo interpreta el observador. Además, existen factores como simetría y proporción, que es la propiedad de manifestar una imagen de espejo a ambos lados del eje central.

Los autores consideramos que la retención depende básicamente del contacto entre las paredes internas de la restauración y las externas del diente preparado, a esto se le denomina retención friccional, que la acción conjunta de estos dos factores será responsable de la retención mecánica de la restauración, siendo necesario una correcta técnica de cementación a través de los sistemas adhesivos. Este aspecto es similar a lo planteado por Tataje (37) pues expresó, sobre la retención que no es lo mismo que estabilidad, ellos están muy unidos y generalmente al fallar una las dos variables se ven afectadas.



Por otra parte, Rosenstiel (14), plantearon la importancia de garantizar el éxito en las condiciones habituales de uso, por la vinculación de ambos medios retentivos que complementan la retención y estabilidad a la estructura.

En la evaluación final de los resultados (Promedio de las variables) una vez instalada la prótesis parcial fija se obtuvo éxito en el 94,3 % de los casos y fracaso en un 5,7 % donde en 3 pacientes no se pudo restaurar satisfactoriamente.

Los autores consideran que cada rehabilitación debe ser funcional y duradera, esto significa que no solo debe funcionar armónicamente, sino también debe ser estable para soportar las fuerzas masticatorias, similares a las condiciones anatómicas naturales. Similares criterios plantearon Saldarriaga y Cui W

cuando manifestaron que se requiere un manejo integral de conceptos basados en principios anatómicos, biológicos, biomecánicos y estéticos, de tal manera que se pueda lograr una rehabilitación completamente armoniosa, natural y funcional (40,41).

Estos resultados concluyeron mostrando como se logró con este tratamiento una estética, ancho y altura del reborde alveolar residual con Biograft-G[®], que proporcionó ser rehabilitado protésicamente con el mínimo desgaste de las estructuras dentarias, garantizando una adecuada retención, estabilidad y estética. Además, no se observaron reacciones adversas al tratamiento.

Una muestra del trabajo se muestra en las figura 1-4, en la secuencia de imágenes con el tratamiento quirúrgico-protésico realizado.



Figura 1. Reborde relleno Biograft-G®.



Figura. 2. Rx. de evaluación 6 meses.



Figura 3. Prótesis terminada en laboratorio.



Figura 4. Prótesis instalada en clínica.



REFERENCIAS

- 1- Lemus Cruz L M, Almagro Urrutia Z, León Castell C. Origen y evolución de los implantes dentales. Rev Haban Cienc Méd. 2009 [citado 2021 Mar 10]; 8(4). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2009000400030&lng=es..
- 2- Pérez Villaseñor Jorge, Villanueva Jurado David. Reconstrucción de proceso alveolar maxilar con injerto autólogo de cresta iliaca. Rev. Odont. Mex [revista en la Internet]. 2014 [citado 2021 Mar 15]; 18(4): 263-270. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-199X2014000400009&lng=es
- 3- García Gargallo M, Yassin García S, Bascones Martínez A. Técnicas de preservación de alveolo y de aumento del reborde alveolar: Revisión de la literatura. Av Periodon Implantol. 2016; 28, 2: 71-81. <http://scielo.isciii.es/pdf/peri/v28n2/original2.pdf>
- 4- Fuentes Ayala E, De Armas Gallegos LI, Fernández Pérez E. Reconstrucción de reborde alveolar con biomateriales, manejo ortodóncico-periodontal. Reporte de caso. Rev. Latinoamericana de Ortodoncia y odontopediatría. 2019 <https://www.ortodoncia.ws/publicaciones/2019/art-29/> ISSN: 1317-5823.
- 5- García Martí Cosme Damián, Pérez Padrón Alejandro, Pérez Quiñones José Alberto, Bello Fuentes Roberto, Pérez Padrón Adrián. Utilización de biomateriales e injertos óseos autólogos en pacientes con atrofia alveolar. Rev. Med. Electrón. [Internet]. 2020 [citado 2021 Mar 14]; 42(5): 2366-2377. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1684-18242020000502366&lng=es
- 6- Escolano Rivas J, Barrientos Sánchez S, Rodríguez Cíodaro A. Frecuencia y características de hallazgos y variaciones óseas en radiografías panorámicas de personas con edentulismo total. Univ Odontol. 2018;36:(78). <https://doi.org/10.11144/Javeriana.uo37-78.fchv>
- 7- Gupta R, Debnath N, Banerjee S, Kumar V. Surgical correction of alveolar ridge defect with subepithelial connective tissue graft: A Case report. J Adv Clin Res Insights. 2019;



6:91-93.

https://www.researchgate.net/publication/339329725_Surgical_correction_of_alveolar_ridge_defect_with_subepithelial_connective_tissue_graft_A_Case_report

8- Amberkar SC, Iyer JV. Reconstruction of Localized Horizontal Maxillary Ridge Defect with Subepithelial Connective Tissue Graft. JSM Oro Facial Surg. 2017; 2(1): 1006.

<https://www.jscimedcentral.com/OroFacial/orofacial-2-1006.pdf>

9- García Martí C D, Pérez Padrón A, Pérez Quiñones J A, Bello Fuentes R, Pérez Padrón A. Utilización de Biomateriales e injertos óseos autólogo en pacientes con atrofia alveolar. Rev. Med. Electrón. 2020;42(2):702-718

<http://scielo.sld.cu/pdf/rme/v42n5/1684-1824-rme-42-05-2366.pdf>

10- Rojas-Gómez PN, Mazzini-Torres M F, Romero-Rojas K. Dom.. Pérdida dentaria y relación con los factores fisiológicos y psico-socio económicos. Cien. 2017;3(2):702-718

<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6325884>

11- Arencibia GE. Necesidad de rehabilitación protésica en una población seleccionada de un

área de salud. Rev Ciencias Médicas. 2016;20(4):452-457.

<https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=68322>

12- Guarat Casamayor, MR; Izquierdo Hernández, Alfredo de la Asunción; Mondelo López, Iraida; Toledano Giraudi, Rafael Prótesis dental. Apuntes sobre su historia Revista Información Científica, vol. 76, núm. 4, octubre-diciembre, 2012.

<https://www.redalyc.org/pdf/5517/551757269039.pdf>

13- López de Castro Alonso A, Medina Jiménez D, López de Castro Bolufer A, Acosta Escanaverino I, Monteagudo Santiago J. Caracterización de resultados bioestéticos de la rehabilitación protésica con el uso de guía de evaluación Medicent Electrón. 2020;24(1): 106-128. E-ISSN: 1029 3043 | RNPS 1820

<https://www.medigraphic.com/pdfs/medicentro/cmc-2020/cmc201h.pdf>

14- Rosenstiel SF, Land MF, Fujimoto J. Prótesis fija contemporánea. 4 ed. Barcelona;2009.

<https://www.casadellibro.com/libros-ebooks/sf-rosenstiel/130824>



15- Cabello-Chávez M. Un enfoque multidisciplinario en rehabilitación oral: Reporte de caso. Acta Odontológica Colombiana. 2015 [consultado:05/03/2021]; 5(2):135-142. Disponible en: <http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/actaodontocol>

16- Poggio CE, Ercoli C, Rispoli L, Maiorana C, Esposito M. Metal-free materials for fixed prosthodontic restorations. Cochrane Database Syst Rev. 2017;12(12):CD009606. doi: 10.1002/14651858.CD009606.pub2. PMID: 29261853; PMCID: PMC6486204. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29261853/>

17- Romel Watanabe Velásquez 1Doris Salcedo Moncada 2Julio Ochoa Tataje Hernán Horna Palomino 4Marco Herrera Cisneros 5Juan José Paz Fernández Odontol. Sanmarquina. 2008; 11(2): 96-99 <http://hdl.handle.net/123456789/3556>

Velásquez Rehabilitación

18- Meireles Rodriguez RC, Factores de riesgo en implantoprótesis estudio clínico retrospectivo Tesis Doctoral, 2018 <https://gredos.usal.es/bitstream/handle/10366/>

[139625/DC_RodriguesR_Implantopr%C3%B3tesis.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://gredos.usal.es/bitstream/handle/10366/139625/DC_RodriguesR_Implantopr%C3%B3tesis.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

19- Cirilo Jacobo JP. Factores que influyen en el uso de prótesis parcial removible en pacientes del servicio de estomatología del Hospital Nacional Arzobispo Loayza. Tesis Doctoral, 2017.

<https://core.ac.uk/download/pdf/323351425.pdf>

20- Shillingburg H. Fundamentos esenciales en prótesis fija. 3ed. México, 2003. Disponible en: <https://booksmedicos.org/fundamentos-esenciales-en-protesis-fija-shillingburg/>

21- Muñoz, P. (29 de mayo de 2013). Puentes adhesivos reforzados con fibra de Vidrio: A Propósito de un Caso Clínico. Obtenido de es.scribd.com/doc

<http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/19105/1/VALENZUELAadriana.pdf>

22- Garay, G. Estudio de dos métodos antropométricos para la obtención clínica de la dimensión vertical oclusal utilizando biotipos faciales, 2012. Obtenido de repositorio.uchile.cl/:

<http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/115715>



23- Espinosa-Valarezo Juan Carlos, Iribarra-Mengarelli Roberto, González-Bustamante Héctor. Métodos de evaluación de la Dimensión Vertical Oclusal. Rev. Clin. Periodoncia Implantol. Rehabil. Oral [Internet]. 2018;[citado 2021 Mar 14]; 11(2): 116-120. Disponible en: [https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0719-](https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0719-01072018000200116&lng=es)

[01072018000200116&lng=es.](https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0719-01072018000200116&lng=es)

[http://dx.doi.org/10.4067/S0719-](http://dx.doi.org/10.4067/S0719-01072018000200116)

[01072018000200116.](http://dx.doi.org/10.4067/S0719-01072018000200116)

24- Pérez M C, Delgado J A, Alfonso A, Guerra R M, Rodríguez J A, et al. Pre-prosthetic Remodeling of Alveolar Ridge Using Calcium Phosphate Biomaterials. In VI Latin American Congress on Biomedical Engineering CLAIB 2014, Paraná, Argentina 29, 30 & 31 October 2014 (208-210). Springer International Publishing. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-13117-7_54

25- Delfino CS, Ribeiro C, Vieira G F, Bressiani AHA, Turbino ML. The use of new materials for pulp capping (hydroxyapatite – HAp and tricalcium phosphate - β -TCP).

Cerâmica 56. 2010; 3(40): 381-388.

[https://doi.org/10.1590/S0366-](https://doi.org/10.1590/S0366-69132010000400011)

[69132010000400011](https://doi.org/10.1590/S0366-69132010000400011)

26- Pérez-Fuentes M, Pérez-Álvarez M C, Rodríguez-Hernández J A, Delgado García-Menocal J A, Alfonso Hernández A, Ramos-Almeida D T. Colocación de implante dental con relleno óseo Biograft-G® en hueso con trauma dentoalveolar. Reporte de caso Duazary: Revista Internacional de Ciencias de la Salud. 2018;15 (3): 347-54/ ISSN: 1794-5992. doi:

[http://dx.doi.org/10.21676/2389783X.2124.](http://dx.doi.org/10.21676/2389783X.2124)

27- Malhotra, A., & Habibovic, P. Calcium Phosphates and Angiogenesis: Implications and Advances for Bone Regeneration. Trends in biotechnology. 2016; 34(12); 983–992. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2016.07.005>

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27481474/>

28- Fernández G, Keller Laetitia, Offner D. Bone substitutes: a review of their characteristics, clinical use, and perspectives for large bone defects management. Journal Tissue Eng. 2018;9 (20):41 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5990883/#>



29- Vignoletti F, Matesanz P, Rodrigo D, Figuero E, Martin C, Sanz M. Surgical protocols for ridge preservation after tooth extraction. A systematic review. *Clinical Oral Implants Research*. 2012; 23(5): 22-38.

Vignoletti, F., Matesanz, P. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2011.02331.x>

30- Pérez Álvarez M C, Delgado García-Menocal J.A, Márquez Argüelles D M, García Rodríguez L, et al. Effectiveness and therapeutic safety using β -tricalcium phosphate in oral bone defects. *Glob Surg*. 2016; 3(1):1-5. doi: 10.15761/GOS.1000146. ISSN: 2056-7863

<https://www.researchgate.net/publication/314255218>

31- Pérez Alvarez MC, Delgado García-Menocal JA, Almirall La Serna, Alfonso HA, Collins J, et al. Use of Cuban Granulated B-Tricalcium Phosphate “Biograft-G” as Maxilar Bone Graft. *Oral Hyg Health*. 2013;1: 103. doi:10.4172/johh.1000103

32- Pérez M.C. et al. Comportamiento Óseo de Alveolos Dentarios Implantados con Biograft-G®. Evolución de Casos a los 6 meses. In:

Folgueras Méndez J. et al. (eds) V Latin American Congress on Biomedical Engineering CLAIB. 2011; 16-21, Habana, Cuba. IFMBE Proceedings, vol 33. Springer, Berlin, Heidelberg.

https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-21198-0_40

33- Morejón AFC, Amado LL. Ingeniería tisular con células madres adultas y Biograft-G en la regeneración ósea alveolar. *Rev Ciencias Médicas*. 2016; 20(4): 508-514.

<https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=68338>

34- Pérez-Fuentes M., Pérez-Álvarez, M., Rodríguez-Hernández, J. A., Delgado García-Menocal, J. Ángel, Alfonso Hernández, A., & Ramos-Almeida, D. T. Colocación de implante dental con relleno óseo Biograft-G® en hueso con trauma dentoalveolar. Reporte de caso. *Duazary*. 2018; 15(3): 347–353. <https://doi.org/10.21676/2389783X.2426>

35- Declaración de Helsinki Asociación Médica Mundial Principios Éticos para las Investigaciones Médicas en Seres Humanos. https://www.um.es/documents/7232477/7272232/declaracion_de_helsinki.pdf/



36- Siurana Aparisi JC. Los principios de la bioética y el surgimiento de una bioética intercultural. Veritas. 2010;22:121-157. https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-92732010000100006

37- Tataje W, Prótesis Fija adhesiva cerámica metal free. Odontología Restauradora Integrada 2014;42-46.

<http://www.cop.org.pe/bib/investigacionbibliografica/MilagrosYazminRamosMorante.pdf>

38- Fischer J, en Rodríguez Fuentes et al. Autopercepción de salud bucal en adultos mayores portadores de prótesis estomatológica. Revista Habanera de Ciencias Médicas, Revista Habanera de Ciencias Médicas. 2016; 15(1):51-63.

<https://www.redalyc.org/pdf/1804/180444213007.pdf>

39- Rimmer S. Mellor A. Percepciones de los pacientes sobre estética y calidad. Técnicas de 42-

coronas y prótesis parciales fijas. Quintessenz, 2016;10 (3):135-142.

<https://www.scielo.sa.cr/pdf>.

40- Saldarriaga O, Peláez A. Conceptos y criterios básicos de Odontología Estética: Parámetros para lograr restauraciones más naturales. Rev CES Odontol [internet]. 2003 [citado 12 marz. 2021];16(1):14-22. Disponible en:

<http://revistas.ces.edu.co/index.php/odontologia/article/view/545/316>

41- Cui W, Wen-jie H, Ling-zhi L, Yan-ling Z, Kwok-Hung Ch. Esthetics and smilerelated characteristics assessed by laypersons. J Esthet Restor Dent. 2018 [citado 21 nov. 2020];30(2):1-10. Disponible en:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/1/jerd.12356#accessDenialLayout>