

Asociación de la severidad de la periodontitis con niveles de cotinina y *Porphyromonas gingivalis*

Association between the severity of periodontitis with cotinine levels and *Porphyromonas gingivalis*

Dr. Carlos Martín Ardila Medina; Isabel Cristina Guzmán Zuluaga; Maria Adelaida Vélez Echeverri

Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia .

RESUMEN

Fundamento: la cotinina aumenta los efectos de las toxinas producidas por los periodontopatógenos y se ha observado que el hábito de fumar altera la respuesta humoral e incrementa la infectividad de la *Porphyromonas gingivalis*.

Objetivo: investigar la asociación entre los niveles de cotinina, la severidad y la extensión de la periodontitis, entre los niveles de cotinina y presencia de *P. gingivalis*.

Método: en el presente estudio de corte transversal, el universo estuvo constituido por 108 sujetos. Los parámetros periodontales se midieron en seis sitios por diente en todos los dientes, se excluyó el tercer molar. Se tomaron muestras de *P. gingivalis* en las bolsas periodontales.

Resultados: al comparar fumadores y no fumadores se observaron diferencias estadísticamente significativas en la profundidad de sondaje y en el nivel de inserción clínica, con peores condiciones periodontales en los fumadores ($p < 0.001$). Se encontró *P. gingivalis* en 64 sujetos (59, 3 %) y niveles de cotinina ≥ 10

ng/ml en 25 pacientes (23, 1 %). Se observó una asociación estadísticamente significativa entre periodontitis avanzada y niveles de cotinina ≥ 10 ng/ml ($p < 0.001$), y entre niveles de cotinina ≥ 10 ng/ml y presencia de *P. gingivalis* ($p < 0.05$).

Conclusiones: los niveles de cotinina en suero ≥ 10 ng/ml se asociaron con bolsas periodontales más profundas y mayor pérdida de inserción; igualmente se encontró asociación entre cotinina y *P. gingivalis*, con peores condiciones clínicas periodontales en los sujetos fumadores.

DeCS: HÁBITO DE FUMAR; COTININA; PERIODONTITIS; ADULTO; ESTUDIO OBSERVACIONAL.

ABSTRACT

Background: cotinine increases the effects of the toxins produced by periodontopathogens and it has been observed that the smoking habit alters the humoral response and decreases the effectiveness of *Porphyromonas gingivalis*.

Objective: to investigate the association between the cotinine levels and the severity and extent of periodontitis; as well as between the cotinine levels and the presence of *Porphyromonas gingivalis*.

Method: in the present cross-sectional study, the universe was composed of 108 individuals. The periodontal parameters were measured in six sites per tooth in all the teeth; the third molar was excluded. Some samples of *Porphyromonas gingivalis* in the periodontal pocket were taken.

Results: when comparing smokers and non-smokers, differences statistically significant in the probing depth and in the clinical attachment level were observed with worse periodontal conditions in smokers ($p < 0.001$). *P. gingivalis* was found in 64 individuals (59, 3 %) and cotinine levels ≥ 10 ng/ml in 25 patients (23, 1 %). A statistically significant difference was observed between advanced periodontitis and cotinine levels ≥ 10 ng/ml ($p < 0.001$), and between cotinine levels ≥ 10 ng/ml and the presence of *P. gingivalis* ($p < 0.05$).

Conclusions: cotinine levels found in serum ≥ 10 ng/ml were associated with deeper periodontal pockets and a greater loss of insertion; an association between cotinine and *P. gingivalis* was also found with worse periodontal clinical conditions in smokers.

DeCS: SMOKING; COTININE; PERIODONTITIS; ADULT; OBSERVATIONAL STUDY.

INTRODUCCIÓN

La periodontitis es una enfermedad multifactorial polimicrobiana compleja caracterizada por una condición inflamatoria e inmunológica que ocasiona la destrucción de los tejidos de soporte del diente.¹ El hábito de fumar es considerado como uno de los principales factores de riesgo para el desarrollo y progreso de la periodontitis.

Diferentes estudios muestran bolsas periodontales más profundas, mayor pérdida ósea y de inserción en sujetos fumadores comparados con los no fumadores.² Adicionalmente, los metabolitos del tabaco disminuyen la función del neutrófilo, e influyen en el mecanismo de la respuesta del huésped e inhiben la respuesta inmune.³

La cotinina es el principal metabolito de la nicotina, que a su vez es el componente primordial del tabaco. La cotinina tiene una vida media superior en sangre (\pm 19 horas) comparado con la nicotina (\pm 2 horas) y por ello se ha usado como biomarcador del estatus del fumador en los fluidos corporales.¹⁻³ También se ha informado que la cotinina aumenta los efectos de las toxinas producidas por los periodontopatógenos. Es así, como se ha observado que el hábito de fumar altera la respuesta humoral e incrementa la infectividad de la *Porphyromonas gingivalis*, uno de los principales periodontopatógenos asociados con la severidad de la periodontitis.⁴

Por lo antes expresado, el objetivo de este estudio fue investigar la asociación entre los niveles de cotinina y severidad y extensión de la periodontitis, y entre los niveles de cotinina y presencia de *P. gingivalis*.

MÉTODOS

En el presente estudio observacional de corte transversal, el universo estuvo constituido por 108 sujetos, se aplicó un muestreo no probabilístico en los pacientes que asistieron a la Facultad de Odontología de la Universidad de

Antioquia Medellín, Colombia. Su valoración clínica y toma de muestras se realizaron entre agosto de 2010 y septiembre de 2013.

Los sujetos fueron seleccionados con base en los siguientes criterios de inclusión: pacientes de ambos sexos, mayores de 35 años, con diagnóstico de periodontitis crónica. Se excluyeron los sujetos que reportaron terapia periodontal en el último año, ingestión de antibióticos en los últimos 45 días, o ingestión crónica de antiinflamatorios no esteroideos. Se excluyeron también individuos con tratamiento de ortodoncia, sujetos con enfermedades autoinmunes, diabéticos, embarazadas y lactantes.

Los pacientes incluidos en el estudio, recibieron información relacionada con los objetivos del estudio y firmaron el consentimiento informado voluntariamente. Esta investigación fue aprobada por el Comité de Ética Institucional.

Parámetros periodontales: la profundidad al sondaje (PS) se midió con una sonda calibrada en seis sitios por diente (mesobucal, bucal, distobucal, distolingual, lingual y mesolingual) en todos los dientes, se excluyó el tercer molar. La PS se registró al milímetro más cercano, se utilizó una sonda periodontal calibrada (UNC-15, Hu-Friedy, Chicago, IL). Las mediciones de los pacientes se realizaron por dos clínicos entrenados y calibrados. En cada sitio del diente también se evaluó el nivel de inserción clínica (NIC), la presencia de placa y el sangrado al sondaje. La reproducibilidad intra-examinador e inter-examinador se evaluó antes de iniciar el estudio de acuerdo al método descrito por Araujo, et al.⁵ Se realizaron medidas repetidas en un total de cinco pacientes (no participantes en el estudio) y se condujeron medidas por duplicado en cada paciente con al menos dos horas entre cada examen. El coeficiente de correlación intraclase para el promedio de PS y NIC fue 0,82 y 0,90 respectivamente; los valores Kappa para presencia de placa y SS fueron mayores al 0,9.

El diagnóstico periodontal se basó en los criterios definidos por la Academia Americana de Periodoncia (AAP).⁶ Muestreo microbiológico: se tomaron muestras microbiológicas de los pacientes en sitios con una PS \geq 5 mm. Para la toma de muestras se seleccionaron las seis bolsas periodontales más profundas de cada paciente. Después de aislar la zona con algodón y eliminar la placa supragingival con cureta, se insertaron puntas de papel estéril (Maillefer, Ballaigues, Switzerland) en cada bolsa periodontal durante 20 segundos. Las puntas de papel se llevaron a un tubo Eppendorf estéril para evaluación mediante reacción en cadena de la

polimerasa (RCP) con el fin de identificar el periodontopatógeno *P. gingivalis*. La RCP se realizó de acuerdo a las recomendaciones de Ashimoto, et al,⁷ y Saiki, et al.⁸

Toma de muestras y análisis de cotinina: se obtuvo una muestra de sangre de cada paciente, el suero fue separado y almacenando a -20C. Las concentraciones de cotinina de las muestras de suero se midieron con la utilización de un microplato EIA (Cozart Biosciences Ltda, Abingdon, Reino Unido), de acuerdo a las instrucciones del fabricante.⁹ Para determinar las concentraciones de cotinina, los resultados de absorción se transformaron a ng/ml. Valores ≥ 10 ng/ml se tomaron como indicador del hábito de fumar.

Análisis estadístico: los datos se introdujeron en una base de datos Excel (Microsoft office 2010) y se comprobaron errores de digitación. Se utilizó la prueba Kolmogorov-Smirnov para verificar la distribución normal de las variables continuas. Los datos categóricos se analizaron con pruebas de χ^2 . Para todas las pruebas estadísticas se estableció un nivel de significancia de 0.05. Para el manejo de todas las pruebas estadísticas se utilizó el mismo paquete estadístico (SPSS, paquete estadístico para las ciencias sociales, versión 15, Chicago, IL).

RESULTADOS

La población estudiada estuvo constituida por 80 mujeres y 28 hombres con una edad promedio de $46 \pm 9, 1$ años. Se representó la distribución de los sujetos según la severidad del diagnóstico de periodontitis crónica; se observó un mayor porcentaje de pacientes con periodontitis moderada, seguido de avanzada y leve. ([Tabla 1](#))

Tabla 1. Distribución de los sujetos según la severidad del diagnóstico de periodontitis crónica

Diagnóstico periodontitis crónica	No.	%
Leve	18	16.6
Moderada	53	49.1
Avanzada	37	34.3

Se muestran las características clínicas de los sujetos determinadas por los principales parámetros periodontales. ([Tabla 2](#))

Tabla 2. Características clínicas de la población estudiada

Parámetro Periodontal	Valor promedio
Profundidad de Sondaje	3.5 mm
Nivel de Inserción Clínica	4.1 mm
Sangrado al sondaje	46 %
Placa Bacteriana	51 %

Se compararon los parámetros periodontales entre fumadores y no fumadores; se observaron diferencias estadísticamente significativas en la PS y en el NIC, que indican peores condiciones periodontales en los fumadores ($p < 0.001$). El sangrado al sondaje fue menor en los fumadores ($p < 0.05$). ([Tabla 3](#))

Tabla 3. Comparación de las condiciones periodontales entre fumadores y no fumadores

Parámetro Periodontal	Fumador	No. fumador	Valor p
Profundidad de Sondaje	3.8 mm	3.3 mm	< 0.001
Nivel de Inserción Clínica	4.6 mm	3.9 mm	< 0.001
Sangrado al sondaje	36 %	45 %	< 0.05
Placa Bacteriana	50 %	53 %	> 0.05

Se encontró *P. gingivalis* en 64 sujetos (59, 3 %). Mediante interrogatorio 28 pacientes indicaron ser fumadores activos, de los cuales en su gran mayoría (19 individuos) señalaron fumar menos de 10 cigarrillos al día; sin embargo, se encontraron niveles de cotinina ≥ 10 ng/ml en 25 pacientes (23, 1 %). Es importante aclarar también que 30 personas no fumadoras revelaron tener contacto frecuente con sujetos fumadores.

Al evaluar la relación entre el diagnóstico periodontal y niveles de cotinina ≥ 10 ng/ml, se encontró una asociación estadísticamente significativa con periodontitis

avanzada ($p < 0.001$). También se observó una asociación estadísticamente significativa entre niveles de cotinina ≥ 10 ng/ml y presencia de *P. gingivalis* ($p < 0.05$).

DISCUSIÓN

Una de las medidas empleadas en algunos estudios para evaluar la exposición al tabaco, se basa en el número de cigarrillos fumados auto-reportados por el fumador. Sin embargo, la utilidad de esta medida está limitada por la habilidad del participante para medir su verdadero consumo con exactitud. Esta imprecisión ocasiona diferencias en las cantidades de inhalación y diversidades en la toxicidad que podrían de alguna manera ocultar los efectos del cigarrillo.¹⁰ Por lo anterior dicho, la cotinina en suero se considera un indicador preciso de la exposición al cigarrillo.^{2,4}

En la presente investigación se encontró que los sujetos fumadores con periodontitis presentaron mayores profundidades de bolsa y mayor pérdida de inserción clínica, además de menor sangrado al sondaje, que corroboraron los resultados previos.^{11,12} Parece que el efecto deletéreo del tabaco en el organismo se produce por dos mecanismos: alteración de la respuesta inmune o liberación de metabolitos citotóxicos y sustancias vasoactivas producidas por la combustión del tabaco que afectan los fibroblastos y la respuesta vascular.¹²

Similar a lo hallado en el presente estudio, se ha encontrado que los no fumadores con contacto frecuente con fumadores puede convertirse en un factor de riesgo para el progreso de la periodontitis.^{13,14} Investigadores aseguran que el humo exhalado por el fumador presenta mayores niveles de metabolitos tóxicos que el inhalado.¹⁵⁻¹⁷

Como se observó en el presente estudio, investigaciones previas encontraron mayores niveles de cotinina en pacientes con periodontitis avanzadas,¹⁸⁻²⁰ que demuestra la influencia que este metabolito tiene sobre el progreso de la periodontitis.

Al igual que lo hallado en el presente estudio, una investigación reciente observó una fuerte asociación entre cotinina y presencia de *P. gingivalis*.¹ Este periodontopatógeno es expuesto a la cotinina en la cavidad bucal a través del hábito de fumar del huésped y se cree que este microorganismo puede desarrollar

mecanismos para responder a los cambios del entorno. Igualmente se demostró que la cotinina tiene la capacidad de alterar 23 proteínas del proteoma de *P. gingivalis*.^{1,2,4}

CONCLUSIONES

Los niveles de cotinina en suero usados como un biomarcador del estatus del fumador se asocian con bolsas periodontales más profundas y mayor pérdida de inserción; igualmente se encontró asociación entre cotinina y *P. gingivalis* que podría generar peores condiciones clínicas periodontales en los sujetos fumadores. Es importante implementar medidas de salud pública en las poblaciones con el fin realizar actividades de promoción y prevención que ejerzan control sobre el consumo del cigarrillo y sus efectos deletéreos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cogo K, de Andrade A, Labate CA, Bergamaschi CC, Berto LA, Franco GCN, et al. Proteomic analysis of Porphyromonas gingivalis exposed to nicotine and cotinine. J Periodont Res. 2012 Dec;47(6):766-75.
2. Sherwin GB, Nguyen D, Friedman Y, Wolff MS. The relationship between smoking and periodontal disease. Review of literature and case report. N Y State Dent J. 2013 Nov;79(6):52-7.
3. Matthews JB, Chen FM, Milward MR, Ling MR, Chapple IL. Neutrophil superoxide production in the presence of cigarette smoke extract, nicotine and cotinine. J Clin Periodontol. 2012 Jul;39(7):626-34.
4. Zeller I, Hutcherson JA, Lamont RJ, Demuth DR, Gumus P, Nizam N, et al. Altered Antigenic Profiling and Infectivity of Porphyromonas gingivalis in Smokers and Non-Smokers with Periodontitis. J Periodontol. 2014 Jun;85(6):837-44.
5. Araujo MW, Hovey KM, Benedek JR, Grossi SG, Dorn J, Wactawski-Wende J, et al. Reproducibility of probing depth measurement using a constant-force electronic probe: analysis of inter- and intraexaminer variability. J Periodontol. 2003 Dec;74(12):1736-40.
6. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. Ann Periodontol. 1999 Dec;4(1):1-6.

7. Ashimoto A, Chen C, Bakker I, Slots J. Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque. *Oral Microbiol Immunol.* 1996 Aug;11(4):266-73.
8. Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SJ, Higuchi R, Horn GT, et al. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science.* 1988 Jan;29(4839):487-91.
9. Kubota M, Tanno-Nakanishi M, Yamada S, Okuda K, Ishihara K. Effect of smoking on subgingival microflora of patients with periodontitis in Japan. *BMC Oral Health.* 2011;5(11):1.
10. Eke PI, Dye BA, Wei L, Slade GD, Thornton-Evans GO, Beck JD, et al. Self-reported measures for surveillance of periodontitis. *J Dent Res.* 2013 Jan;92(11):1041-7.
11. Guglielmetti MR, Rosa EF, Lourenção DS, Inoue G, Gomes EF, De Micheli G, et al. Detection and Quantification of Periodontal Pathogens in Smokers and Never-Smokers With Chronic Periodontitis by Real-Time Polymerase Chain Reaction. *J Periodontol.* 2014 May 2.
12. Faveri M, Rebello A, de Oliveira Dias R, Borges-Junior I, Duarte PM, Figueiredo LC, et al. Clinical and microbiologic effects of adjunctive metronidazole plus amoxicillin in the treatment of generalized chronic periodontitis: smokers versus non-smokers. *J Periodontol.* 2014 Apr;85(4):581-91.
13. Nishida N, Yamamoto Y, Tanaka M, Kataoka K, Kuboniwa M, Nakayama K, et al. Association between involuntary smoking and salivary markers related to periodontitis: a 2-year longitudinal study. *J Periodontol.* 2008 Dec;79(12):2233-40.
14. Schick S, Glantz S. Philip Morris toxicological experiments with fresh sidestream smoke: more toxic than mainstream smoke. *Tob Control.* 2005 Dec;14(6):396-404.
15. Ebersole JL, Steffen MJ, Thomas MV, Al-Sabbagh M. Smoking-related cotinine levels and host responses in chronic periodontitis. *J Periodont Res.* 2013 Nov 27.
16. Surya C, Swamy DN, Chakrapani S, Kumar SS. Chairside quantitative immunochromatographic evaluation of salivary cotinine and its correlation with chronic periodontitis. *J Indian Soc Periodontol.* 2012 Oct;16(4):508-12.
17. Sanders A, Slade G. State cigarette excise tax, secondhand smoke exposure, and periodontitis in US nonsmokers. *Am J Public Health.* 2013 Apr;103(4):740-6.
18. Sutton JD, Ranney LM, Wilder RS, Sanders AE. Environmental tobacco smoke and periodontitis in U.S. non-smokers. *J Dent Hyg.* 2012 Summer;86(3):185-94.
19. Cogo K, Calvi BM, Mariano FS, Franco GC, Gonçalves RB, Groppo FC. The effects of nicotine and cotinine on *Porphyromonas gingivalis* colonisation of epithelial cells. *Arch Oral Biol.* 2009 Nov;54(11):1061-7.

20. Takeuchi Y, Nagasawa T, Katagiri S, Kitagawara S, Kobayashi H, Koyanagi T, et al. Salivary levels of antibacterial peptide (LL-37/hCAP-18) and cotinine in patients with chronic periodontitis. J Periodontol. 2012 Jun;83(6):766-72.

Recibido:8 de mayo de 2014

Aprobado: 8 de julio de 2014

Dr. Carlos Martín Ardila Medina. Ph.D en Epidemiología. Grupo Estomatología Biomédica. Profesor Titular. Facultad de Odontología. Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. Email: martinardila@gmail.com